



HAL
open science

Phototransformation d'herbicides tricétoniques et d'insecticides pyréthrinoïdes à la surface des végétaux

Delphine Lavieille

► **To cite this version:**

Delphine Lavieille. Phototransformation d'herbicides tricétoniques et d'insecticides pyréthrinoïdes à la surface des végétaux. Chimie organique. Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II, 2008. Français. NNT: . tel-00731153

HAL Id: tel-00731153

<https://theses.hal.science/tel-00731153>

Submitted on 12 Sep 2012

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.

N° d'Ordre : 1882

UNIVERSITÉ BLAISE PASCAL
U.F.R. Sciences et Technologies

ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES FONDAMENTALES
N°590

THÈSE

présentée pour obtenir le grade de

DOCTEUR D'UNIVERSITÉ

Spécialité : Chimie Physique

Par Delphine LAVIEILLE

PHOTOTRANSFORMATION D'HERBICIDES
TRICÉTONIQUES ET D'INSECTICIDES
PYRÉTHRINOÏDES À LA SURFACE DE VÉGÉTAUX

Soutenue publiquement le 25 novembre 2008, devant la commission d'examen.

Jury

Mr Gérard LEDOIGT (Pr., U.B.P.)

Mr Christian GAUVRIT (D.R., INRA)

Mr Robert PANSU (D.R., C.N.R.S.)

Mr Thierry Pigot (M.C., U.P.P.A.)

Mme Alexandra ter HALLE (C.R., C.N.R.S.)

Mme Claire RICHARD (D.R., C.N.R.S.)

Président

Rapporteur

Rapporteur

Examineur

Examineur

Examineur

Remerciements

Lorsque j'ai commencé à écrire ces pages de remerciements, je pensais remplir avec peine une demi-page tout au plus ! Je vous remercie d'avoir surgi aussi nombreux sous ma plume.

Au cours de ces trois années fructueuses de recherche j'ai eu la chance de rencontrer énormément de personnes différentes dont le contact m'a indéniablement enrichie. Merci à tous pour votre contribution, votre aide et votre soutien.

Merci Alexandra et Claire de m'avoir encadrée lors de mes premiers pas dans la recherche. Merci pour nos innombrables conversations à battons rompus et nos réunions riches en rebondissements qui ont jalonné mon séjour au sein du laboratoire. Vous avez toujours été très disponibles, vous avez eu à coeur de me transmettre vos connaissances et de m'encourager à toujours améliorer mon travail. J'ai beaucoup appris à votre contact, tant au niveau scientifique qu'en terme de développement personnel. Nos déjeuners au laboratoire, nos échanges de livres, nos dégustations de chocolats et nos pauses thé pendant lesquelles nos cerveaux entraient régulièrement en ébullition resteront d'excellents souvenirs.

Merci messieurs Christian Gauvrit, Robert Pansu et Thierry Pigot pour votre minutieux travail de relecture. Merci de l'attention que vous avez bien voulu porter à mon manuscrit ainsi que pour vos remarques et questions constructives. Merci à vous trois d'avoir bravé les conditions climatiques « extrêmes » de l'Auvergne en cette fin novembre pour assister à ma présentation.

Merci monsieur Gérard Ledoigt d'avoir bien voulu présider le jury de ma thèse et de m'avoir aidée sur les aspects biologiques de mon travail. Je me souviendrais particulièrement d'une manipulation d'extraction du maïs qui m'a valu quelques courbatures.

Merci Oh! chercheurs du laboratoire de photochimie pour votre disponibilité et votre amitié, ainsi que pour les connaissances que vous avez pris le temps de me transmettre.

Merci Bernadette, merci Guillaume pour votre disponibilité et l'empressement avec lequel vous répondiez à toutes mes questions. Vous m'avez beaucoup appris sur les techniques de laboratoire... et de plongée.

Merci Annie, merci Ghislain de m'avoir fait une place — tout près du radiateur — dans votre bureau lors de mon arrivée au laboratoire. Merci de m'avoir fait partager vos souvenirs.

Merci Gilles pour ta bonne humeur et ton soutien, surtout pendant la période de rédaction. J'espère que la personne qui prendra ma place dans le bureau t'autorisera à y laisser tes documents... peut être au prix d'un gâteau au chocolat ou d'une brassée de chouquettes...

Merci Michelle pour un retour de skimineuse fort sympathique en votre compagnie.

Merci Mohammed pour la patience avec laquelle vous avez répondu à mes questions. Je pense que vous avez remarqué... j'ai finalement arrêté les manipulations!

Merci Pascal pour ta disponibilité et tes conseils précieux.

Merci Jean Pierre de nous avoir, Anne et moi, conduites sur le podium lors du rallye 2006!

Merci Françoise, Jean-Philippe et Haussman pour l'amabilité avec laquelle vous répondiez à mes innombrables requêtes à tout heure de la journée. Jean-Philippe, j'espère que tu auras très bientôt l'occasion de faire un pèlerinage à Neustadt an der Weinstrasse.

Merci Hanka, merci Marie d'avoir été présentes pendant mes longues soirées passées à rédiger. Merci aussi pour l'organisation du bureau que vous avez rendu très chaleureux, grâce à votre présence... et à la bouilloire.

Merci Sabrina pour ton amitié.

Merci Boris de m'avoir initiée à la science occulte de la biologie végétale et de m'avoir pilotée pour les prélèvements d'échantillons et pour les manipulations de pulvérisation.

Merci Christian pour ta bonne humeur et ton optimisme à toute épreuve.

Merci M&M's vous qui m'avez initiée aux rites séculaires du laboratoire. Je n'oublierai pas non plus la dernière montée de l'avenue des landais. Avouez-le, vous essayiez de me semer!

Merci Michal pour ton amitié et pour tes compétences de sauveteur-infirmier, ainsi que pour le spectacle que tu nous a offert lors d'un match Brive / Clermont Ferrand, au score mémorable . . . que je ne dévoilerai pas pour la postérité.

Merci Charlène pour nos soirées musicales.

Merci Agnès, Bénédicte, Céline, Sandrine, Sophie, Yaël, Jean-Luc, Lawrence, Pascal, Vincent et Jean-François de m'avoir toujours accueillie très sympathiquement lors de mes courts séjours dans les bas-fonds de la photochimie macromoléculaire.

Merci POB pour tes précieux conseils en tous genres et pour le temps que tu as consacré à l'analyse de mes échantillons.

Merci Anne pour ton amitié, tes cours de tricot-sheldon-chocolat, les séances de piscine ratées, les repas « légers » du dimanche midi et nos conversations hétéroclites.

Merci Sylvain pour ta jovialité, ta confiance et tes blagues de qualité. . . variable. Grâce à nos randonnées et aux prix de détours non programmés, j'ai découvert le magnifique pays auvergnat et passé d'agréables moments.

Merci Naïma & Yassine pour votre accueil chaleureux et les sympathiques moments que nous avons partagés. Merci Yassine, grâce à toi, les trajets du vendredi soir me paraissaient bien moins longs.

Merci Solène, Matthieu, Jeff, Denis, Harout et Julien pour les litres de café que vous m'avez offerts. . . et qui ont finalement eu raison de mon estomac. La prochaine fois j'amène le décaféiné!

Merci Fatima et Namrata de m'avoir fait goûter votre merveilleux couscous indien.

Merci Lubomir pour nos soirées passées au festival du court métrage.

Merci Pascale, Yolande, Gérard et Alain de m'avoir accueillie si chaleureusement dans les locaux de l'ERTAC pendant nos longs mois d'expatriation. Grâce à vous, j'ai pu continuer mes recherches dans des conditions confortables.

Merci Nelly pour le soin avec lequel tu as fait pousser maïs et morelles condamnées à une mort certaine sous les assauts répétés de la mésotrione et du dichlorométhane. Merci aussi pour nos soirées festives et nos échanges autour d'un verre ou d'une flamenkuche.

Merci Yannick pour la foule de renseignements techniques que tu m'a fournis et pour l'approvisionnement en formulations.

Merci Gunnar, Christian, Werner, Martin pour votre accueil chaleureux au sein de votre équipe et pour les moyens que vous avez mis à ma disposition au cours mes quatre semaines en Allemagne.

Merci Andrea, Christine, Marianne et Julia pour votre aide précieuse pendant mon travail au laboratoire.

Merci Sascha pour ta patience et ton aide lors des manipulations qui se sont parfois poursuivies jusque tard dans la soirée.

Merci Aurélie, merci Priscilla pour les jeudis matin tumultueux à l'I.U.T. ainsi que pour les échanges de recette.

Enfin, *last but not least* je souhaiterais remercier ma famille et mes amis pour leur soutien et leurs encouragements tout au long de ces trois années.

Merci Lubin d'avoir investi autant de temps et d'énergie notamment pendant les derniers mois. Merci d'avoir cru en moi.

Merci Maman pour avoir toujours répondu présent au cours de ces trois années. Je sais qu'il a fallu énormément de courage pour relire le manuscrit en entier ! Merci aussi pour tes quiches succulentes et tes gâteaux à l'ananas !

Merci Papa pour ton imagination dans l'élaboration des différents dispositifs que je t'ai demandé de concevoir et qui m'ont aidée pour mes manipulations.

Merci Cécilia... & Manu pour votre présence et votre amitié. Les soirées pêches de vigne et surtout... la visite de la mine resteront des souvenirs inoubliables qui ont égayé ces trois années.

Merci Odette & Yves d'avoir fait tout ce chemin pour assister à ma soutenance. *Merci* Odette pour les pizzas, gâteaux bretons, cookies à la cannelle . . .

Merci Nadège & Alexandre, Julia & Martin, Agnès & Hervé & Avril & Xavier, Hélène & Olivier pour votre soutien et les réunions de famille revigorantes en votre compagnie.

Merci Sandra & Dominique & Émile pour nos soirées jeux-raclette qui ont agrémenté mes week ends passés derrière l'ordinateur, et qui ont fini par me faire apprécier Saint-Étienne!

Merci Marion pour ton aide et ton soutien lors de mon séjour à Aurillac. Je n'oublierai pas nos discussions interminables autour d'une pizza ou d'une soupe chinoise.

Merci Karine, merci Sébastien de votre héroïsme ; il en fallait pour me supporter pendant les derniers jours de grand stress. Heureusement, vos innovations culinaires ont eu raison de mon angoisse. *Merci* Karine de m'avoir soutenue le jour J.

Merci Annick, merci Jean-Louis d'avoir été présents tout au long de ces trois années et d'avoir pris la peine de vous déplacer sous la neige le 25 novembre.

Merci Angèle, merci Jean pour votre amitié et vos encouragements.

Enfin, je dédie cette thèse à toutes les personnes que j'aurai malencontreusement oubliées, et dont le nom, bien entendu, me reviendra une fois la dernière version imprimée. . . À vous aussi je dis *Merci* !

Table des matières

Acronymes	12
I Étude bibliographique	15
1 Dissipation des pesticides dans l'environnement	15
2 Le végétal, siège de réactions photochimiques	18
2.1 Importance de la surface foliaire	18
2.2 Structure de la cuticule	18
2.3 Interactions pesticides - cuticule : importance de la formulation	20
3 Choix du support pour les études de phototransformation	22
3.1 Solvants organiques	22
3.2 Supports solides	23
A. Verre	24
B. Supports à base de produits commerciaux	24
C. Cires extraites	24
D. Cuticules isolées	25
4 Phototransformation de pesticides sur végétaux : influence des additifs	25
5 Phytosanitaires étudiés	26
6 Conclusion de l'étude bibliographique	27
II Matériel et protocoles expérimentaux	30
1 Produits chimiques	30
2 Études sur les films de cire	31
2.1 Films préparés à partir de cire de maïs extraite	31
A. Extraction de la cire de maïs	31
B. Réalisation des films	32
2.2 Films préparés à partir de cire de carnauba ou de paraffine	33
2.3 Traitement des films	34
A. Préparation des solutions	34
B. Application du pesticide	34
2.4 Irradiation des films traités	35
A. Actinométries	36

2.5	Rinçage des films	36
2.6	Volatilisation, diffusion et dégradation thermique	37
3	Etude sur les feuilles de morelle détachées	37
3.1	Préparation des feuilles de morelle	37
3.2	Application du pesticide	38
3.3	Irradiation des feuilles détachées	38
3.4	Rinçage des feuilles	39
4	Etude sur les plantes	39
4.1	Devenir de Callisto sur le maïs	39
	A. Culture du maïs	39
	B. Traitement des plantes	39
	C. Exposition des plantes	39
	D. Rinçage des plantes	40
4.2	Devenir de la sulcotrione radiomarquée sur le maïs et la morelle	40
	A. Culture du maïs et de la morelle	40
	B. Préparation et application de la sulcotrione	40
	C. Irradiation des plantes	42
	D. Rinçage des plantes et extraction de la sulcotrione	43
5	Méthodes analytiques	44
5.1	Herbicides et insecticides non marqués	44
	A. Spectrométrie UV-visible	44
	B. Chromatographie Liquide Haute Pression	45
	C. Spectrométrie de masse	47
5.2	Analyse de la sulcotrione radiomarquée	48
	A. Comptage en scintillation liquide	48
	B. Chromatographie liquide	48
6	Exploitation des résultats	49
6.1	Cinétique de disparition et tracé des courbes	49
6.2	Test statistique	50
6.3	Calculs pour la sulcotrione radiomarquée	50
	A. Activité totale	50
	B. Dosage par chromatographie liquide	51
III Phototransformation des herbicides tricétoniques		54
1	Introduction bibliographique	54
1.1	Mode d'action des tricétones	54
1.2	Formulations commerciales	55
1.3	Devenir dans l'environnement	56

2	Introduction au travail expérimental	61
3	Phototransformation de la mésotrione pure et de Callisto	62
3.1	Propriétés spectrales de la mésotrione et de Callisto	62
3.2	Mésotrione pure	64
	A. Mésotrione en solution et sur cire de maïs	64
	B. Influence de la nature de la cire	66
	C. Etude analytique	69
3.3	Formulation commerciale de la mésotrione	80
	A. Comparaison avec la mésotrione pure sur les films de cire de maïs	80
	B. Influence de la nature de la cire	83
	C. Expériences avec le rose de bengale : rôle de l'oxygène singulet	86
	D. Phototransformation sur la feuille de morelle noire	88
	E. Influence de la concentration	90
	F. Devenir de Callisto sur les plantes	92
	G. Devenir de Callisto au champ	95
3.4	Formulation synthétique	97
	A. Comparaison avec la mésotrione pure et Callisto	97
	B. Influence de la concentration	100
3.5	Discussion	103
4	Phototransformation de la sulcotrione pure et de Mikado	106
4.1	Caractéristiques spectrales	106
4.2	Sulcotrione pure	108
	A. Sulcotrione sur les films de cire de maïs	108
4.3	Formulation commerciale de la sulcotrione	110
	A. Comparaison avec la sulcotrione pure sur film de cire de maïs	110
	B. Influence de la nature de la cire	112
	C. Devenir de Mikado sur les plantes	117
5	Discussion	131
6	Conclusion de l'étude des herbicides tricétoniques	133
IV Dissipation des insecticides pyréthrinoïdes		135
1	Introduction bibliographique	135
1.1	Caractéristiques des pyrétrines étudiées	136
1.2	Devenir des pyrétrines dans l'environnement	136
2	Introduction au travail expérimental	139
3	Caractéristiques spectrales	139
3.1	Cyperméthrine et Cyplan	139
3.2	Deltaméthrine et Decis	141

4	Phototransformation des pyréthrinés sur le verre	141
4.1	Pyréthrinés purs	141
4.2	Formulations commerciales	143
	A. Cyplan	143
	B. Decis	145
4.3	Additif anti-lessivage	147
	A. Caractéristiques spectrales	147
	B. Influence du Sticman sur la photolyse de la deltaméthrine pure . . .	148
	C. Influence du Sticman sur la phototransformation du Decis	151
5	Phototransformation des pyréthrinés sur les films de cire de maïs	152
5.1	Comparaison avec les études sur le verre	152
	A. Cyperméthrine pure	152
	B. Cyplan	155
5.2	Influence du Sticman	158
5.3	Conclusion de l'étude sur la cire de maïs	158
6	Phototransformation des pyréthrinés au champ	160
7	Discussion	160
	Conclusion générale et perspectives	165
	Bibliographie	170
	Glossaire	180
	Annexes	183
	Annexe 1 : test d'hypothèse	183
	Annexe 2 : estimation de l'erreur sur la pente	185

Table des figures

I.1	Dissipation des pesticides à la surface des feuilles	16
I.2	Coupe transversale d'une feuille	19
I.3	Cire épicuticulaire du maïs sauvage	20
I.4	Image MEB d'une feuille traitée	20
I.5	Exemples de tensioactifs	21
I.6	Oléate de méthyle, dérivé d'huile végétale	21
I.7	Photoaddition de l'anilazine	23
I.8	Phototransformation de la benzophénone en présence de donneurs-H	25
I.9	Etapes pour les études de phototransformation sur les végétaux	28
II.1	Cire de maïs extraite au laboratoire	32
II.2	Cire de paraffine	33
II.3	Cire de carnauba	34
II.4	Simulateur solaire Suntest	35
II.5	Morelle noire	38
II.6	Feuilles de maïs après l'application de Mikado	41
II.7	Chambre climatique	42
II.8	Protocole d'extraction	43
II.9	Gradient d'élution pour l'analyse de la mésotrione	48
II.10	Tracé de la droite de régression linéaire et représentation graphique	49
II.11	Fractions analysées	50
II.12	Chromatogramme HPLC : détection UV et radiodétection	51
III.1	Structure chimique des tricétones étudiées	55
III.2	Traitement du maïs en post levée	56
III.3	Métabolites et photoproduits de la sulcotrione	57
III.4	Mécanisme de phototransformation de la mésotrione dans l'eau	58
III.5	Métabolites et photoproduits de la mésotrione	59
III.6	Spectres d'absorption de la mésotrione et de Callisto	63
III.7	Phototransformation de la mésotrione en solution et sur la cire de maïs	65
III.8	Phototransformation de la mésotrione : influence de la nature de la cire	67

III.9	TIC de la mésotrione	69
III.10	Spectre de masse de la mésotrione	71
III.11	Spectre de masse de l'AMBA	72
III.12	Spectre de masse de l'isoxazole	74
III.13	Spectre de masse du xanthène	76
III.14	Spectre de masse de l'acide heptanoïque	78
III.15	Photoproduits de la mésotrione identifiés par HPLC-MS	80
III.16	Phototransformation de Callisto sur la cire de maïs	82
III.17	Phototransformation de Callisto : influence de la nature de la cire	84
III.18	Phototransformation de Callisto : influence du Rose de bengale	87
III.19	Phototransformation de Callisto sur la feuille de morelle noire	89
III.20	Phototransformation de Callisto : influence de la concentration	91
III.21	Suivi de l'intensité lumineuse sur le campus des Cézeaux	93
III.22	Disparition de Callisto sur les plantes	94
III.23	Phototransformation de Callisto sur les plantes	96
III.24	Structure chimique de l'additif AI-6OE	97
III.25	Phototransformation de la formulation synthétique : comparaison avec Callisto	99
III.26	Phototransformation de la formulation synthétique : influence de l'additif	101
III.27	Influence de la concentration en additif sur la constante de photolyse	102
III.28	Photoproduits majoritaires de la sulcotrione	106
III.29	Spectres d'absorption de la sulcotrione et de Mikado	107
III.30	Phototransformation de la sulcotrione sur la cire de maïs	109
III.31	Phototransformation de la sulcotrione et de Mikado sur la cire de maïs	111
III.32	Phototransformation de Mikado : influence de la nature de la cire	113
III.33	Disparition de Mikado et apparition des photoproduits sur les cires	114
III.34	Distribution des photoproduits de Mikado sur les cires	116
III.35	Distribution de la sulcotrione dans la feuille traitée	118
III.36	Protocole pour l'extraction de la sulcotrione radiomarquée	118
III.37	Répartition de l'activité extraite des feuilles de maïs	121
III.38	Répartition de l'activité extraite des feuilles de morelle	122
III.39	Devenir de la sulcotrione à la surface de la feuille traitée	123
III.40	Suivi de la sulcotrione à la surface de la feuille traitée	124
III.41	Suivi de la sulcotrione et du CMBA dans la feuille traitée	126
III.42	Phototransformation de la sulcotrione sur la feuille traitée	128
III.43	Phototransformation de la sulcotrione sur les plantes	129
III.44	Mécanismes de dissipation de la sulcotrione sur les feuilles traitées	130
IV.1	Structure chimique des pyréthrinés étudiés	136

IV.2	Traitement du maïs par les pyréthrinés	137
IV.3	Spectres d'absorption des pyréthrinés purs et formulés en solution	140
IV.4	Phototransformation de la cyperméthrine et de la deltaméthrine sur le verre .	142
IV.5	Phototransformation de la cyperméthrine et du Cyplan sur le verre	144
IV.6	Phototransformation de la deltaméthrine et du Decis sur le verre	146
IV.7	Spectre d'absorption d'un film de Sticman	148
IV.8	Phototransformation de la deltaméthrine : influence du Sticman	150
IV.9	Phototransformation du Decis : influence du Sticman	151
IV.10	Phototransformation de la cyperméthrine sur le verre et sur la cire de maïs . .	153
IV.11	Dissipation du cyplan sur la cire de maïs : diffusion et phototransformation . .	155
IV.12	Phototransformation du Cyplan sur le verre et sur la cire de maïs	157
IV.13	Phototransformation de la cyperméthrine et du Cyplan : influence du Sticman	159

Liste des tableaux

II.1	Conditions HPLC pour les analyses effectuées	46
II.2	Limites de détection	47
III.1	Temps de rétention et fragments des photoproduits de la mésotrione	70
III.2	Masses exactes des photoproduits de la mésotrione	79
III.3	Constantes de photolyse de la mésotrione pure et formulée	105
III.4	Constantes de photolyse de la sulcotrione et de Mikado	132
III.5	Constantes de photolyse des tricétones pures et formulées	133
IV.1	Constantes de photolyse des pyréthrinines pures et formulées	161

Acronymes

AMBA

Acide 2-amino-4-méthyl-sulfonylbenzoïque.

CMBA

Acide 2-chloro-4-méthylsulfonylbenzoïque.

DDT

Dichlorodiphényltrichloroéthane.

EPA

Environmental Protection Agency (l'agence de protection de l'environnement des États-Unis).

ESI

Electrospray ionization (ionisation par électrospray).

HPLC

High pressure liquid chromatography (chromatographie liquide haute pression).

MNBA

Acide 2-nitro-4-méthyl-sulfonylbenzoïque.

PCDD

Polychlorodibenzo-p-dioxines.

PCDF

Polychlorodibenzo-furanes.

PDMS

Polydiméthylsiloxane.

PNA

Para-nitroanisole.

ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I

Étude bibliographique : du devenir des pesticides après la pulvérisation

1 Dissipation des pesticides dans l'environnement

La France est le troisième consommateur mondial de pesticides et le premier en Europe en terme de tonnage acheté. En 2004, 76 000 tonnes de phytosanitaires ont été consommées [1], dont 3% d'insecticides, 39% d'herbicides et 58% de fongicides [2]. Ces molécules permettent de lutter contre les ravageurs des cultures (insectes, *adventices*¹ ou champignons). Elles améliorent le rendement des récoltes en nivelant les effets dus aux conditions environnementales : par exemple, les traitements fongicides permettent de limiter les pertes de rendement pendant les années très humides. Cependant, avec le cumul des traitements herbicides, insecticides et fongicides sur les cultures se pose le problème de la contamination de l'environnement et de la toxicité de ces molécules. Ainsi, devant l'augmentation des pollutions diffuses qui peuvent être imputées à ces méthodes, l'une des décisions émanant du « Grenelle de l'Environnement » est l'interdiction des substances phytosanitaires les plus dangereuses. Par ailleurs, le gouvernement et les associations participantes se sont mis d'accord pour porter un message d'incitation à la réduction de l'usage des pesticides [3].

Les pesticides sont principalement appliqués par pulvérisation sur les cultures en *pré-levée* ou en *post-levée*. Lors des traitements agricoles, la quantité de principe actif qui atteint sa cible varie de 10 à 90% suivant le type de culture et son stade de développement au moment de l'application [4]. Le reste est dispersé dans les différents compartiments de l'environnement.

1. Les mots en italique sont définis dans le glossaire à la page 179.

L'étude des risques environnementaux liés aux pesticides est donc basée sur leur devenir dans les eaux de surface continentales, dans les sols et dans l'air. Peu d'études de dissipation portent sur le premier milieu récepteur des pesticides pulvérisés : les feuilles des végétaux.

Après le traitement, la surface du végétal peut être le siège de plusieurs phénomènes de dissipation [5] (voir figure I.1) :

- ruissellement dû à la pluie ou à la rosée ;
- volatilisation ;
- pénétration foliaire ;
- phototransformation.

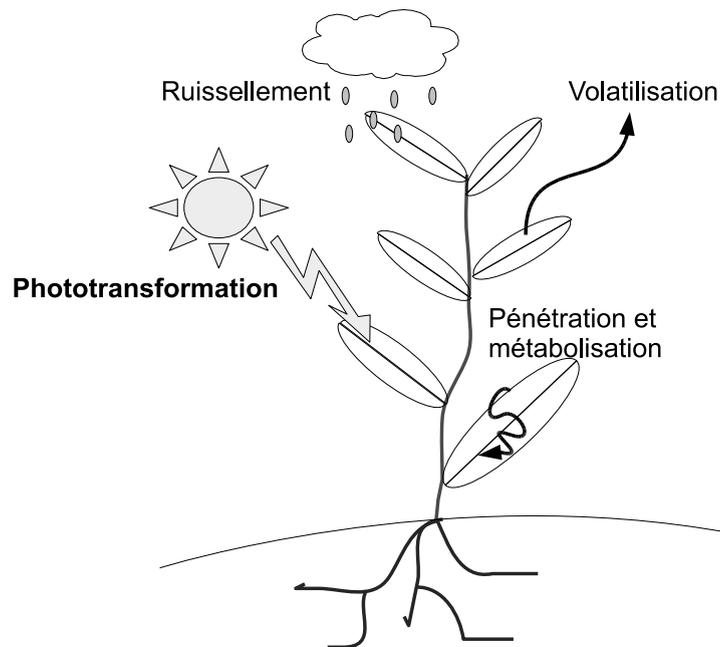


Figure I.1: Dissipation des pesticides après pulvérisation à la surface des feuilles

Le ruissellement est un phénomène de dissipation pour les composés solubles qui n'ont pas diffusé dans la plante traitée. Pour éviter les pertes par ruissellement, il est recommandé de traiter les cultures par temps sec. La rosée peut cependant participer à la solubilisation des pesticides à la surface des feuilles [6].

La volatilisation des différentes molécules présentes dans les formulations commerciales est une des sources les plus importantes de *xénobiotiques* dans l'atmosphère [7, 8]. Guth *et al.* [8] ont en effet montré que la volatilisation est un phénomène important à la surface des feuilles. La quantité de pesticide perdue par volatilisation dépend principalement de la pression de va-

peur saturante de la molécule [8] et de son hydrophobicité. En effet, plus le principe actif est lipophile, plus il s'adsorbe fortement à la surface de la cuticule et moins il est sujet à la volatilisation. Les conditions climatiques (température, vent, humidité) sont aussi des paramètres déterminants [5].

La diffusion des principes actifs de la surface de la feuille vers l'intérieur de la plante dépend de la perméabilité de la cuticule [9], barrière protectrice présente à la surface des organes externes de la plante (voir section 2.2 page suivante). Une fois que le polluant est entré dans les cellules de la plante il peut être métabolisé ou s'accumuler dans les tissus.

La phototransformation, induite par la lumière du soleil, est le seul des quatre processus envisagés qui donne naissance à des produits de dégradation, inconnus *a priori*. Bien entendu, ces photoproduits sont à leur tour susceptibles d'être volatilisés, de diffuser dans la plante ou de contaminer sols et eaux de surface par *lixiviation*. Par exemple, il a été montré que les photoproduits du fongicide dinobuton et de l'herbicide dinoseb se forment rapidement à la surface des feuilles de haricots et sont sujets à la volatilisation [5]. Une autre étude, sur la dissipation du phoxim sur les feuilles de tomates, a montré que ses photoproduits s'accumulent non seulement à la surface du végétal, mais aussi dans le tissu de ses feuilles [5]. L'étude du devenir des photoproduits à la surface des cultures est d'autant plus importante que leur entrée dans la chaîne alimentaire peut avoir un impact sur la santé des consommateurs.

Les quatre processus de dissipation mentionnés sont en compétition et la part de chacun reste difficile à évaluer. Cette dernière dépend des conditions climatiques, de la molécule active étudiée, de sa formulation et de la plante. Si dans le cas d'un composé volatil, la volatilisation sera bien la voie de dissipation majeure dans l'environnement [10, 11], il n'existe pas de paramètres physico-chimiques que l'on puisse corrélérer directement à la photosensibilité des pesticides à la surface des feuilles : les études doivent donc être systématiques. Elles permettent d'évaluer les risques liés aux matières actives dissipées dans l'environnement par les activités humaines. En se basant sur des données expérimentales complètes obtenues en laboratoire, Leistra *et al.* [7] ont, par exemple, réussi à prédire la part des phénomènes de dissipation de deux pesticides, le parathion et le chlorothalonil, à l'aide d'un modèle mathématique.

2 Le végétal, siège de réactions photochimiques

2.1 Importance de la surface foliaire

Plus de 80% de la surface terrestre est recouverte par la végétation. La surface foliaire d'un végétal est de 6 à 14 fois plus importante que la surface qu'il recouvre au sol [12]. Cette importante surface spécifique permet une interaction privilégiée entre la plante et l'atmosphère : elle favorise l'adsorption des polluants organiques atmosphériques à la surface des feuilles et l'interception des phytosanitaires pulvérisés dans l'agriculture. La surface des feuilles est aussi un collecteur solaire important pour la photosynthèse². La surface des feuilles du végétal, à l'interface entre la plante et son environnement, est donc au centre du duo polluant-lumière.

En effet, les pesticides absorbent la lumière dans le domaine des ultraviolets, de même que les feuilles. La longueur d'onde minimale du rayonnement solaire atteignant la surface terrestre est de 290 nm, dans le domaine des UV-B (de 280 à 320 nm). Ces derniers jouent un rôle prépondérant dans la photolyse des polluants organiques, en raison de leur importante énergie photonique. Cependant, au-delà des premiers micromètres de la cire cuticulaire, ce rayonnement est fortement atténué (voir section 2.2). La phototransformation des pesticides sur les végétaux a donc essentiellement lieu à la surface de la cuticule ou dans les premiers micromètres de la cire cuticulaire [12].

2.2 Structure de la cuticule

La surface des feuilles et des fruits est couverte d'une couche lipidique hydrophobe qui protège les organes de la plante de l'environnement extérieur. Ses propriétés lipophiles permettent de limiter les pertes en eau du végétal [13]. C'est aussi une barrière à l'attaque des pathogènes[14], des petits herbivores, des insectes [15] et des champignons [13]. Ses propriétés optiques en font un filtre efficace contre les radiations lumineuses ultra-violettes, limitant ainsi leur pénétration dans la plante à la partie superficielle de la cuticule [16, 17]. Enfin, la cuticule est la principale barrière à la pénétration des pesticides et autres *xénobiotiques* [18, 16]. Sans sa partie lipidique, la perméabilité de la cuticule serait multipliée par un facteur 4 [19].

2. Les plantes sont des organismes *autotrophes* qui utilisent l'énergie du soleil pour produire leur carbone organique.

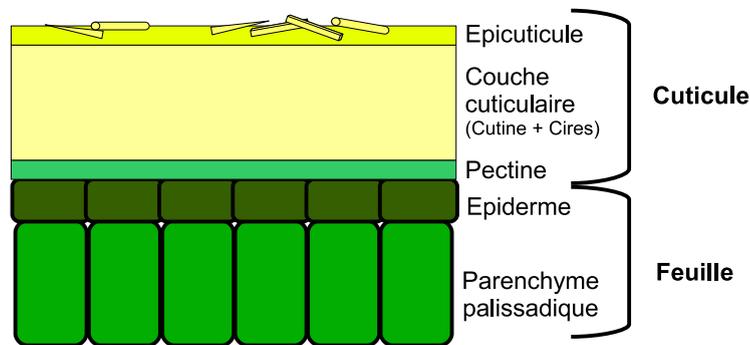


Figure I.2: Coupe transversale d'une feuille

La cuticule est composée de plusieurs couches superposées de compositions chimiques différentes dont l'épaisseur varie de $0,1\ \mu\text{m}$ à $20\ \mu\text{m}$ [16]. La cutine est attachée aux cellules épidermiques de la feuille par l'intermédiaire de la pectine [14] (voir figure I.2). La cutine est une macromolécule constituée d'acides gras à longues chaînes liés par des ponts esters, créant une structure tridimensionnelle rigide [13]. Associée à des cires, elle forme la couche cuticulaire (voir figure I.2). La couche la plus externe — en contact avec l'atmosphère — est, elle, exclusivement constituée de cire. Sa masse varie de 1 à 10% de celle de la cuticule totale [20] suivant les organismes. C'est elle qui confère son hydrophobicité à la cuticule. En effet, ces cires sont constituées d'un mélange complexe d'esters, d'acides, d'aldéhydes, de cétones et d'alcools à longues chaînes [13]. Ces matériaux peuvent être amorphes, ou cristallisés sous forme d'aiguilles, de plaques ou de tubes qui sont caractéristiques de l'espèce étudiée [5, 20, 13] (voir figure I.3). La quantité de cire épicuticulaire produite, sa composition chimique, son taux de cristallinité et la forme des cristaux sont interdépendants [21] et influencent l'étalement des solutions pulvérisées à la surface des feuilles. Enfin, il existe des composés minoritaires et spécifiques de certaines cires. La cire foliaire du pommier (*Malus pumila Mill.*) contient par exemple des triterpénoïdes comme l' α -tocophérol, une molécule anti-oxydante dérivée de l'isoprène [16].

La composition chimique de la cuticule varie de manière considérable en fonction de l'espèce, de l'individu et de l'âge de la plante [17, 16]. Elle dépend aussi des facteurs environnementaux [13] tels l'humidité relative, la lumière, le stress hydrique, le froid, la disponibilité des nutriments [22, 16]. Or, la composition chimique de la cuticule influence l'interaction de la plante avec le polluant en surface.

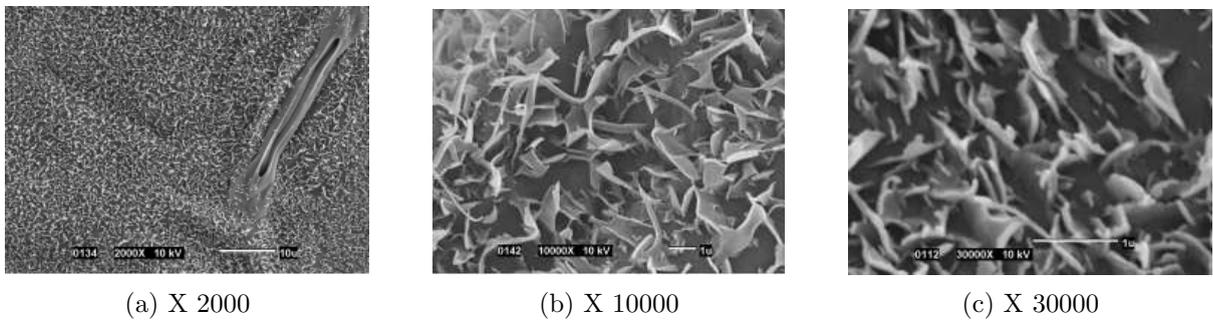


Figure I.3: Cire épicuticulaire du maïs sauvage [21]

2.3 Interactions pesticides - cuticule : importance de la formulation

Il existe deux types d'interactions entre une molécule et une surface : l'adsorption chimique de la molécule, par liaison covalente ou ionique sur un groupe fonctionnel présent en surface, et l'adsorption physique, par interactions de Van der Waals entre le support et le composé [23]. Suite à leur adsorption chimique sur la feuille, les pesticides peuvent pénétrer les différentes couches de la cuticule et des quantités importantes peuvent être stockées par la cire épicuticulaire et la cutine [18]. Ce phénomène de diffusion dépend fortement de la concentration initiale à la surface de la cuticule [24, 25], des propriétés physico-chimiques du polluant et des caractéristiques de la cire cuticulaire [18].

Afin d'éviter le processus d'agrégation des principes actifs (voir figure I.4b) et de favoriser leur diffusion dans les organismes ciblés, les produits phytosanitaires sont formulés avec différents types d'additifs lipophiles qui favorisent l'action des molécules sur les organismes cibles [26].

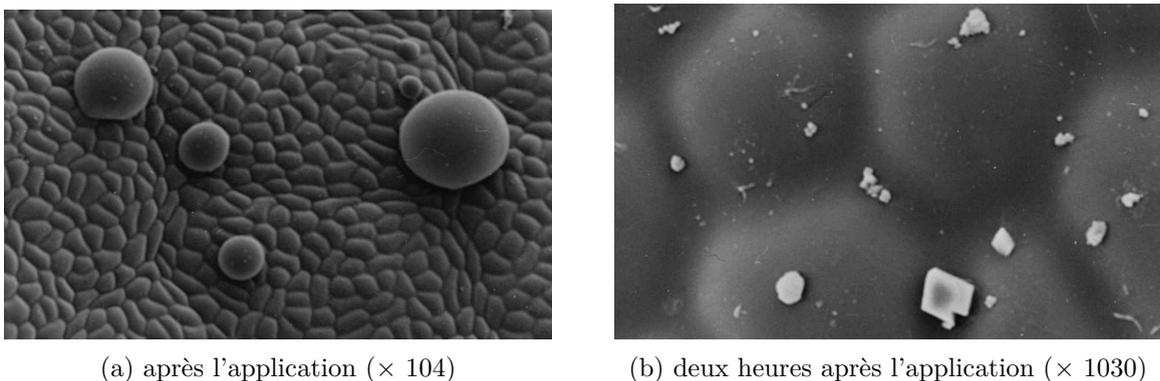


Figure I.4: Image MEB de la surface d'une feuille de fraisier traitée au parathion méthyle pur

Les interactions pesticide-cuticule recherchées dépendent du type d'action (herbicide ou insecticide). La diffusion des herbicides dans les feuilles d'*adventice* jusqu'à leur site d'action est essentielle puisqu'elle conditionne l'efficacité du traitement. L'étalement de la solution pulvérisée, assuré par des tensioactifs et des adjuvants mouillants est un facteur important. Les additifs les plus couramment utilisés jusqu'en 2005, date à laquelle leur utilisation a été interdite, étaient les alkylphénol éthoxylés comme le nonylphénol 9EO (voir figure I.5b) [27]. En raison de leur toxicité, ils sont aujourd'hui remplacés par des polyoxydes d'éthylènes (voir figure I.5a), des esters de polyéthylène glycols...

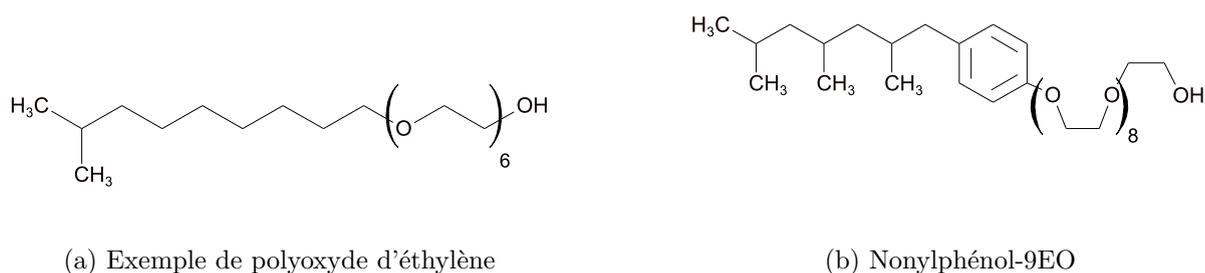


Figure I.5: Exemples de tensioactifs utilisés dans les formulations commerciales de pesticides

Des additifs supplémentaires sont parfois ajoutés par l'utilisateur avant la pulvérisation des herbicides au champ. Leur rôle est une fois encore de favoriser la diffusion dans la plante. Ils agissent principalement en solubilisant ou en ramollissant les cires cuticulaires [27]. Ce sont, par exemple, des dérivés d'huiles végétales ou minérales (voir figure I.6).

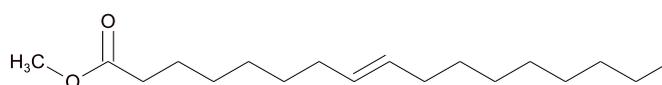


Figure I.6: Oléate de méthyle, dérivé d'huile végétale

Contrairement aux herbicides, les insecticides pulvérisés doivent rester disponibles à la surface des cultures pour être accessibles à l'insecte cible. En raison de leur hydrophobicité et des additifs lipophiles utilisés dans leur formulation, ils diffusent modérément dans la cuticule. Ils se trouvent alors protégés des phénomènes de dissipation de surface [5] tout en restant accessible à l'insecte cible. De plus, des agents favorisant l'adhérence de la formulation sur la surface foliaire sont souvent ajoutés par l'utilisateur dans le mélange à pulvériser. Ce sont des produits visqueux peu volatils, à base de latex synthétique par exemple [27]. Ils polymérisent à la surface des pesticides pulvérisés, formant un film protecteur qui diminue la sensibilité des formulations à la volatilisation et au ruissellement [28] dû à la pluie [29, 6] ou à la rosée.

Les formulations pesticides pulvérisées sur les plantes de cultures et leurs *adventices* forment donc un dépôt complexe à la surface de la cuticule, dont les mécanismes de dissipation sont encore mal connus. Nous allons voir dans cette étude que la phototransformation des molécules formulées à la surface des feuilles peut être un phénomène de dissipation prépondérant.

3 Choix du support pour les études de phototransformation

La dissipation d'un pesticide à la surface d'une plante est due à des phénomènes *biotiques* et *abiotiques*. Ces derniers sont prépondérants devant les processus *biotiques*, qui se résument à l'action de bactéries sorbées à la surface des feuilles. En revanche, il est souvent difficile de déterminer la part de chacun des processus *abiotiques* [30, 31]. De plus, les bilans complets de dissipation sur les plantes ne sont possibles qu'avec l'utilisation de pesticides radiomarqués, qui permettent le suivi des molécules et de leurs produits de dégradation à la surface et à l'intérieur de l'organisme. Afin de s'affranchir de la réponse biologique du végétal et de travailler avec des molécules non marquées, de nombreuses études ont été réalisées sur des supports *abiotiques*. Ils doivent être représentatifs de la cuticule sur laquelle s'adsorbent les polluants. Plusieurs types de supports ont été proposés dans la littérature, classés ici du plus simple au plus représentatif de la cuticule des plantes :

- solvants organiques ;
- verre ;
- supports commerciaux ;
- cires extraites ;
- cuticules isolées.

3.1 Solvants organiques

Les composés les plus simples représentant l'environnement cuticulaire sont les solvants organiques purs. Schwack *et al.* [32] ont étudié la phototransformation du fongicide procymidone, préconisé pour le traitement de la vigne, dans différents solvants organiques : isopropanol, cyclohexane et cyclohexène. Ils ont mis en évidence des réactions entre le solvant et le principe actif, suggérant une photoaddition du fongicide sur les doubles liaisons des constituants des cires. Ce type de réactivité a été confirmée par l'étude de l'anilazine [33], un fongicide organochloré (voir figure I.7), du parathion [34], un insecticide organophosphoré et du vinclozoline [35], un fongicide dicarboximide.

Sur le même principe Schwack [36] a montré la photoaddition du DDT et du méthoxychlore sur des composés représentatifs des biomolécules présentes dans les cires cuticulaires de certaines plantes. Cette fois encore, c'est sur les insaturations des biomolécules que sont formés les adduits, comme présenté à la figure I.7 pour la photoaddition de l'anilazine sur l'oléate de méthyle.

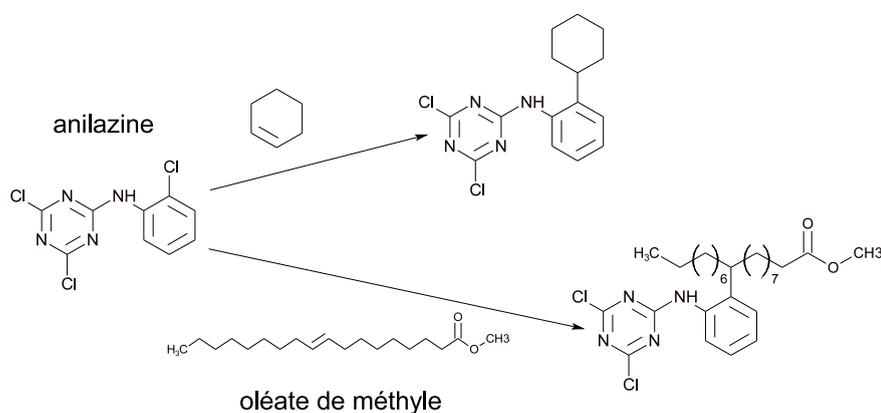


Figure I.7: Photoaddition de l'anilazine sur le cyclohexène et l'oléate de méthyle

Certains auteurs ont amélioré le système étudié en travaillant sur des extraits de cuticule solubilisés dans un solvant organique. Natuhara *et al.* [37] ont comparé la phototransformation du chinométhionate dans l'hexane et dans un extrait d'aubergine solubilisé dans l'hexane. Ils ont observé une accélération de la dégradation du fongicide en présence de l'extrait.

Cependant, en raison de leur fluidité et de la simplicité de leur structure, les solvants organiques ne sont pas suffisamment représentatifs de l'environnement cuticulaire. Ainsi, des études sur le fenitrothion et sur plusieurs homologues des PCDD ont mis en évidence des vitesses de photodégradation différentes dans les solvants organiques et sur les cires extraites [17, 38] plus proches de l'environnement cuticulaire.

3.2 Supports solides

Les supports solides sont mieux adaptés pour les études de phototransformation sur végétal. Ils permettent de rendre compte des interactions dynamiques responsables de l'étalement et de l'évaporation du solvant après la pulvérisation sur la cuticule. Le dépôt obtenu n'a que très peu de ressemblance avec la solution initiale [24] comme le montre la figure I.4 page 20. On peut donc s'attendre à ce que le comportement photochimique du principe actif soit différent de celui observé en solution, même organique.

A. Verre

Le premier support largement utilisé pour ces études, le verre [39, 40], reste éloigné des cires cuticulaires [14] car les molécules ne peuvent pas diffuser dans la masse. Sa faible plasticité est aussi un facteur qui le différencie des cires. Cependant, les vitesses de phototransformation sur le borosilicate servent souvent de référence pour déterminer l'effet accélérateur ou inhibiteur des autres supports, comme les cires extraites [41, 38, 42].

B. Supports à base de produits commerciaux

Certains auteurs ont étudié la phototransformation de pesticides sur des supports à base de produits commerciaux. Fukushima *et al.* [38] se sont intéressés à la photolyse de l'insecticide fenitrothion sur du gel de silice greffé avec de l'octadécyle. Ce support représente les composés à longues chaînes des cires cuticulaires.

La cire de paraffine ou la cire de carnauba ont également servi de supports comparatifs pour les études de phototransformation sur les épines de pin [26] et les feuilles de maïs respectivement [43]. Comme ce sont des produits commerciaux, leur composition chimique ne varie pas d'un lot à l'autre contrairement aux cires extraites.

C. Cires extraites

La plupart des études de phototransformation sur supports solides sont effectuées sur des cires cuticulaires extraites dans un solvant organique, le plus répandu étant le trichlorométhane. Les cuticules sont ensuite reconstituées par dépôt d'une solution de cire sur du verre, suivi de l'évaporation du solvant [44, 17, 41, 45]. Ces films de cire extraite conservent la nature hydrophobe, la composition chimique et les propriétés physiques de l'interface air-végétal et permettent des études quantitatives au laboratoire : en effet, les pertes par volatilisation, diffusion et phototransformation peuvent faire l'objet d'un suivi. La phototransformation de polluants atmosphériques (PCDD, PCDF, dioxines), par exemple, a été étudiée sur des cires extraites de feuilles de prunier ou d'épines de pin [17, 26, 46, 47]. La photolyse de pesticides a été quant à elle principalement étudiée sur des cires extraites de fruits [48, 41, 45].

La composition chimique du film de cire peut influencer la vitesse de phototransformation des molécules en surface. Par exemple, la phototransformation de la roténone sur cire extraite de poire est deux fois plus rapide que sur cire de nectarine [48]. La photolyse du pirimicarb est deux fois plus rapide sur cire de mandarine que sur cire d'orange [41]. La structure chimique et la quantité des photoproduits dépendent aussi de la nature de la cire choisie pour l'étude.

Cet effet reste difficile à interpréter. D'après certains auteurs [26, 49], les composés saturés des cires cuticulaires pourraient jouer le rôle de donneurs H et favoriser les réactions de réduction. Cette réaction a été observée pour la phototransformation de la benzophénone sur cire de paraffine [26], qui a conduit à la formation du benzopinacole (voir figure I.8).

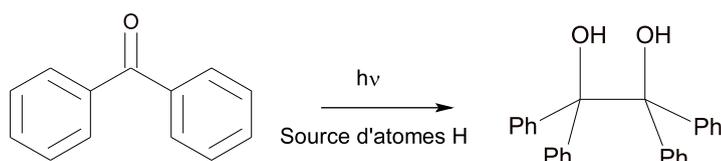


Figure I.8: Phototransformation de la benzophénone en présence de donneurs-H

D. Cuticules isolées

Des cuticules entières peuvent être isolées par une attaque enzymatique qui détache la cuticule de la paroi cellulaire sous-jacente. Ce mode d'extraction permet de travailler directement sur la surface de la feuille tout en s'affranchissant des processus métaboliques qui ont lieu à l'intérieur. Cependant cette extraction est une opération longue et délicate et elle ne permet pas d'effectuer des études sur un grand nombre de réplicats. Ces cuticules isolées sont principalement utilisées pour les études de diffusion des principes actifs et des surfactants [50], ou pour l'étude des propriétés mécaniques de la cuticule [51]. Schynowski *et al.* [34] ont pu corréliser positivement la vitesse de phototransformation du parathion avec la quantité de molécules insaturées présentes à la surface de la cuticule isolée. La composition chimique du support influence donc fortement la photochimie du polluant à sa surface. Cependant, c'est la seule étude de phototransformation de la littérature qui a été réalisée sur ce type de support.

4 Phototransformation de pesticides sur végétaux : influence des additifs

L'effet des additifs commerciaux sur la phototransformation de matières actives a principalement été étudié en milieu liquide organique ou aqueux. Les additifs présents dans Titus, une formulation du rimsulfuron, accélèrent la phototransformation de l'herbicide dans le méthanol et l'acétonitrile [52]. Tanaka *et al.* [53] ont effectué plusieurs études de phototransformation sur des formulations d'herbicides en solution aqueuse. Ils se sont intéressés à plusieurs classes chimiques de matières actives, ce qui leur a permis de tirer des conclusions générales. Les additifs accélèrent la photodégradation des principes actifs faiblement solubles dans l'eau, qui possèdent

un chlore sur leur cycle aromatique, et dont l'énergie de l'état triplet est inférieure à celle du *tensioactif* étudié. Cet effet photosensibilisateur ou inhibiteur des surfactants lié à l'énergie de leur état triplet a été confirmé par les études de Thomas *et al.* [54] sur le chlorimuron et le metsulfuron.

Les travaux récents d'Angioni *et al.* [55] et de Ter Halle *et al.* [43] concernent la phototransformation de formulations commerciales de pyréthrinés et de tricétones sur les cires. Dans les deux cas, les additifs accélèrent la phototransformation des principes actifs. Cependant, dans le cas des pyréthrinés, le taux d'accélération de la photolyse dépend de la nature des additifs ajoutés [55]. En revanche, dans d'autres cas, leur phototransformation est ralentie en présence d'additifs. C'est ce qu'a montré Megahed *et al.* sur le verre [14].

La comparaison de la phototransformation des pesticides sur les surfaces végétales, avec et sans formulation, reste cependant une piste peu explorée.

5 Phytosanitaires étudiés

Ce travail de thèse a été consacré à plusieurs pesticides utilisés pour le traitement des cultures de maïs. La problématique principale de ces cultures est le désherbage. Néanmoins, en raison de pressions de plus en plus importantes de la part des insectes ravageurs, les traitements insecticides sur les cultures de maïs se sont beaucoup développés dernièrement [56].

Les molécules herbicides et insecticides que nous avons étudiées ont des cibles et des modes d'action différents. Leurs formulations commerciales sont spécifiquement adaptées pour optimiser l'efficacité des traitements et l'on s'attend donc à ce que le comportement photochimique des différentes molécules choisies soit différent.

Les herbicides *systemiques sélectifs*, comme la mésotrione et la sulcotrione, doivent pénétrer dans l'*adventice* pour être efficaces. La pénétration dans les organismes cibles peut se faire par les feuilles ou par les racines. Leurs formulations commerciales ont donc pour but de favoriser leur diffusion dans la plante.

Au contraire, les insecticides *de contact*, comme la cyperméthrine et la deltaméthrine, ont pour cible les insectes ravageurs qui se nourrissent du maïs. Ils doivent donc rester disponibles à la surface de la plante traitée après la pulvérisation, pour être facilement ingérés par l'insecte cible.

L'étude bibliographique concernant le devenir dans l'environnement des phytosanitaires

étudiés est présentée dans la partie résultats aux chapitres III page 54 et IV page 135.

6 Conclusion de l'étude bibliographique

Cette étude bibliographique montre la complexité des études de phototransformation des pesticides sur les végétaux. Les deux paramètres principaux à prendre en compte sont la nature du support, qui peut influencer la vitesse de photolyse et la formation des photoproduits, et la présence d'additifs dans les formulations commerciales.

Tout au long de ce travail, notre souci a été de nous approcher le plus possible des conditions agricoles. L'approche expérimentale que nous avons choisie a nécessité plusieurs étapes qui correspondent à une complexité croissante du système étudié :

- films de cire ;
- feuilles coupées ;
- plantes en pot, en chambre climatique ;
- plantes en pot, en extérieur ;
- champ agricole.

Ces étapes sont résumées sur la figure I.9 pour les quatre pesticides étudiés.

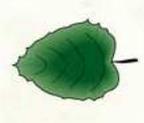
	Études au laboratoire		Études en extérieur	
Supports étudiés	Verre Films de cire 	Feuilles coupées 	Plantes 	Plantes 
Systèmes d'irradiation	Suntest	Suntest	Chambre climatique	Lumière solaire
Pesticides étudiés	Herbicides : ◆ Mésootrione ◆ Sulcotrione Insecticides : ◆ Cyperméthrine ◆ Deltaméthrine	Herbicide : ◆ Mésootrione	Herbicide : ◆ Mésootrione	Herbicides : ◆ Mésootrione ◆ Sulcotrione (<i>Ter Halle et al., 2007</i>) Insecticides : ◆ Cyperméthrine ◆ Deltaméthrine

Figure I.9: Etapes expérimentales pour les études de phototransformation sur les feuilles de végétaux

**MATÉRIEL ET PROTOCOLES
EXPÉRIMENTAUX**

Chapitre II

Matériel et protocoles expérimentaux

1 Produits chimiques

Les produits chimiques utilisés au cours de ce travail sont listés ci-dessous :

Les pesticides purs

- mésotrione, Riedel-de-Haën, 99,8 % ;
- sulcotrione, Riedel-de-Haën, 98,7 % ;
- cyperméthrine, Riedel-de-Haën, 99,8 % ;
- deltaméthrine, Riedel-de-Haën, 99,8 %.

Les pesticides formulés

- Callisto, Syngenta Agro S.A.S. , *suspension concentrée* à 100 g/l en mésotrione ;
- Mikado, Bayer S.A., *suspension concentrée* à 300 g/l en sulcotrione ;
- Cyplan, Agriphar S.A., *concentré émulsionnable* à 100 g/l en cyperméthrine ;
- Decis Protech, Bayer S.A., *émulsion concentrée* à 1,47% en deltaméthrine.

Additif de formulation

Synperonic 10/6, Uniqema.

Actinomètre

- para-nitroanisole, Aldrich, 97 % ;
- pyridine, Lancaster, 99 %.

Cires commerciales

- cire de carnauba, Prolabo ;
- cire de paraffine, Sigma Aldrich.

Tampon phosphate, solvants et révélateur

- hydrogénophosphate de di-sodium, Prolabo, 99 % ;
- dihydrogénocarbonate de potassium, Prolabo, 99,5 % ;
- dichlorométhane, Riedel de Haën, gradient grade ;
- acétonitrile, Riedel de Haën, gradient grade ;
- liquide de scintillation Ultima Gold XR, Packard ;
- liquide de scintillation Ultima Flow M, Packard.

2 Études sur les films de cire

Ce premier protocole a été établi pour l'étude de la phototransformation des pesticides sur les films de cire.

2.1 Films préparés à partir de cire de maïs extraite

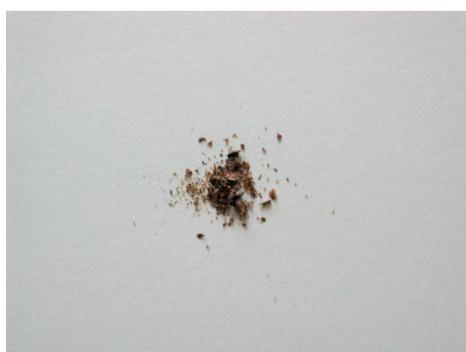
A. Extraction de la cire de maïs

La cire de maïs utilisée pour faire les films a été extraite au laboratoire. Des plantes de la variété Banguy, commercialisée par Limagrain, ont été cultivées jusqu'à un stade de 5 à 6 feuilles. C'est le stade maximal recommandé pour le traitement du maïs en *post-levée* par la sulcotrione et la mésotrione. Sa culture a été effectuée sous serres semi-fermées équipées de lumières artificielles d'une capacité de 440 W/m^2 , dont la photopériode était fixée à 18 heures, la température à 22°C et l'humidité à 45%. Le semis a été réalisé en pots individuels dans de la tourbe noire. Dix jours étaient nécessaires pour atteindre le stade de deux feuilles. Les plantes étaient ensuite repiquées dans des pots plus grands garnis d'un terreau spécifique pour la culture du maïs, commercialisé par Humustar. Vingt jours supplémentaires ont permis d'atteindre le stade de cinq à six feuilles.

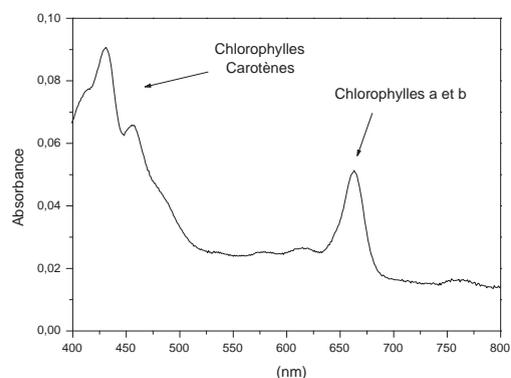
A ce stade, les feuilles ont été coupées et la cire cuticulaire a été extraite au dichlorométhane. Plusieurs solvants d'extraction ont été étudiés par Riederer et al. pour isoler la cire des feuilles de citrus. Les résultats les plus reproductibles ont été obtenus avec le chloroforme [19]. Nous

avons choisi de remplacer le chloroforme par le dichlorométhane, moins toxique. Le temps d'immersion de la feuille dans le solvant a été fixé à deux minutes, ce qui permet d'obtenir le meilleur compromis entre bon rendement d'extraction de la cire et quantité minimum de chlorophylle dans l'extrait. Les plants de maïs étaient récoltés le jour de l'extraction de la cuticule. Dix feuilles étaient extraites avec 800 ml de dichlorométhane dans un b cher de deux litres. Après deux minutes, le solvant était récupéré et trois extractions successives étaient réalisées avec ce même solvant. Le dichlorométhane était ensuite filtré sur papier et éliminé à l'évaporateur rotatif. Le rendement de l'extraction est faible : il faut environ 1,5 kg de feuilles de maïs fraîches pour obtenir 500 mg de cuticule extraite.

La cuticule sèche se présente sous forme d'une poudre de couleur brun vert (voir figure II.1a). Le spectre d'absorption de la cire de maïs en solution dans le dichlorométhane, présenté à la figure II.1b fait apparaître deux massifs d'absorption, correspondant aux colorants naturels extraits en petite quantité. Autour de 450 nm le massif est composé de deux pics principaux, le premier correspondant à la chlorophylle a (430 nm) et le second aux carotènes et à la chlorophylle b (455 nm). Le massif situé autour de 660 nm correspond à l'absorption des chlorophylles a et b.



(a) Cire de maïs après extraction



(b) Spectre d'une solution de cire de maïs dans le dichlorométhane, C=1 mg/ml

Figure II.1: Cire de maïs extraite au laboratoire

B. Réalisation des films

Les minces films de cire de maïs ont été reconstitués à partir d'une solution de cuticule extraite dans le dichlorométhane à 1 mg/ml, préalablement passée aux ultrasons pendant une trentaine de minutes pour solubiliser la cire. Trois millilitres de cette solution ont été introduits dans un cristalliseur de 3,7 cm de diamètre et de 2 cm de hauteur. Après l'évaporation du solvant

sous un ventilateur, les cristallisoirs ont été placés 15 minutes à l'étuve à 100°C. La fusion de la cire permettait l'obtention d'un film homogène. L'épaisseur de la cuticule reconstituée est alors d'environ 3 μm , valeur calculée à partir de la surface du cristallisoir (10,8 cm²), de la concentration de la solution de cire de maïs dans le dichlorométhane (1 mg/ml) et de la densité de la cire de carnauba ($d=0,99$ [57]) dont la composition est proche de celle de la cire de maïs.

2.2 Films préparés à partir de cire de carnauba ou de paraffine

Les films de cire de carnauba et de paraffine ont été préparés dans le même type de cristallisoir. Un gramme de cire a été introduit dans chaque cristallisoir avant d'être placé dans une étuve à 100°C. Après fusion de la cire, les échantillons ont été retirés de l'étuve, la cire a été refroidie à température ambiante formant un film d'une épaisseur de 1 mm (voir figures II.2 et II.3). Cette valeur est obtenue par calcul à partir de la densité des cires. Ces deux types de supports réalisés à partir de cires commerciales ont été choisis en raison de leur composition chimique. La cire de carnauba est principalement composée d'alcools à longues chaînes [58] comme la cire du maïs juvénile dont la cire cuticulaire contient 80% d'alcools et d'aldéhydes à longues chaînes [59, 21]. La cire de paraffine est un mélange d'alcanes comme la cire des feuilles de morelle noire (*Solanum nigrum L.*) [60], une *adventice* du maïs de la même famille que la pomme de terre (*Solanum tuberosum L.*) [15].

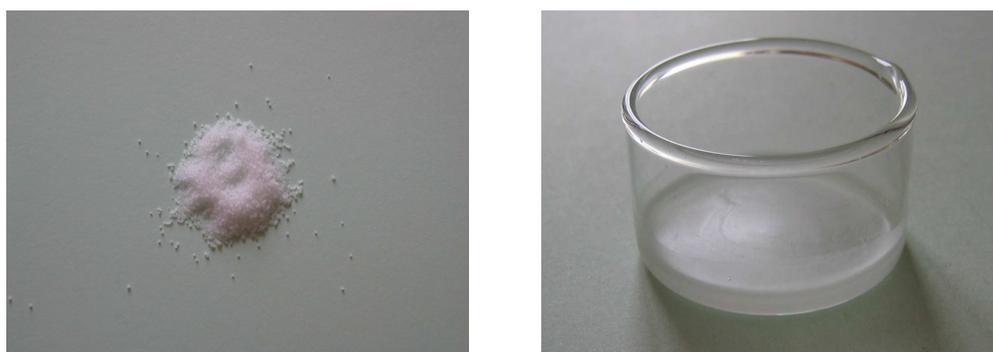


Figure II.2: Cire brute et film de paraffine d'une épaisseur de 1 mm

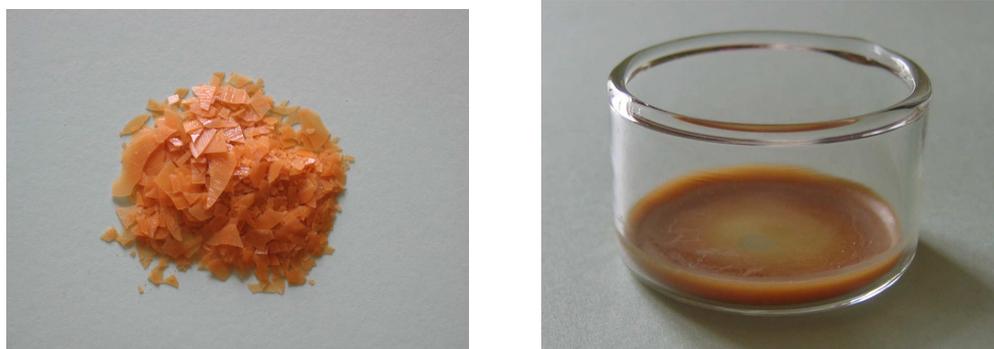


Figure II.3: Cire brute et film de carnauba d'une épaisseur de 1 mm

2.3 Traitement des films

A. Préparation des solutions

La mésotrione et la sulcotrione pures ont été solubilisées dans de l'eau purifiée par le dispositif Millipore milli Q (résistivité 18 M Ω .cm, COD<0,1 mg/l). Les préparations ont été agitées avec un barreau magnétique pendant 12 heures. Les formulations commerciales Callisto et Mikado ont été diluées dans de l'eau ultrapure et leurs concentrations ont été ajustées par analyse chromatographique grâce à la courbe d'étalonnage tracée pour la molécule pure. Cette étape était nécessaire en raison de la viscosité et de l'inhomogénéité des formulations qui ne permettaient pas un prélèvement précis et reproductible.

En raison de leur faible solubilité dans l'eau les solutions de cyperméthrine et de deltaméthrine pures et formulées ont été préparées dans un mélange d'eau ultrapure et d'acétonitrile (50%/50%).

Avant l'application sur le film, le spectre d'absorption des solutions de pesticides a été préalablement enregistré. Cette analyse a permis également de vérifier la stabilité des solutions au cours du temps.

B. Application du pesticide

J'ai traité les films avec cinq millilitres d'une solution de pesticide de concentration connue. Les concentrations peuvent varier d'une expérience à l'autre; les valeurs sont donc précisées dans la partie résultat pour chaque expérimentation.

Une fois la solution appliquée sur le film de cire, le solvant a été évaporé dans un dispositif

muni d'un ventilateur. Ceci a permis une élimination complète de la phase aqueuse en 12 heures. Le dépôt formé est alors constitué du principe actif seul ou accompagné des additifs du mélange commercial. A ce stade, la concentration initiale dans la solution déposée n'a plus de signification [24]. C'est pour cette raison que les concentrations présentées dans le manuscrit sont décrites en masse de principe actif par unité de surface, ce qui a permis d'autre part de les comparer aux doses agricoles recommandées.

2.4 Irradiation des films traités

Les échantillons ont été irradiés dans un simulateur solaire Suntest CPS (Atlas) équipé d'une lampe à arc xénon et de filtres supprimant les radiations lumineuses de longueurs d'onde inférieures à 290 nm. C'est la source lumineuse dont la distribution spectrale est la plus proche du rayonnement solaire [61] (voir figure II.4). La puissance de l'appareil peut être ajustée entre 0 et 765 W/m², nous avons généralement opté pour 550 W/m² ou 765 W/m². La lampe du Suntest est refroidie par un flux d'air constant et le plateau sur lequel reposent les échantillons est maintenu à 15°C par une circulation d'eau assurée par un cryostat. Une plaque de quartz a été placée au-dessus des échantillons pour limiter les perturbations dues au flux d'air dans le Suntest au cours de l'irradiation.

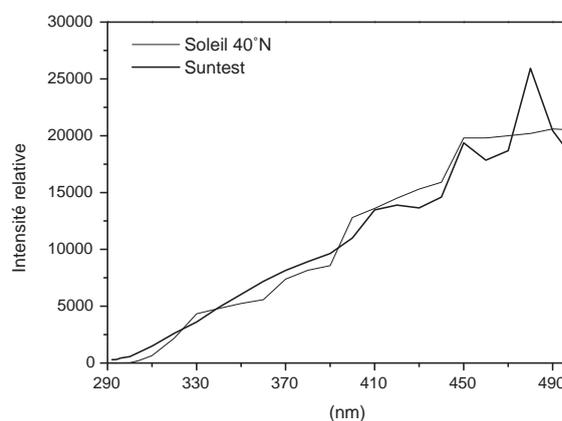


Figure II.4: Photographie du Suntest et distribution spectrale de la lampe Xénon munie de filtres UV et IR

Une intensité lumineuse de 550 W/m² représente une valeur moyenne pour l'ensoleillement terrestre à une latitude de 40°N dans des conditions estivales [62]. De plus, d'après les mesures effectuées sur le terrain, il n'est pas rare de dépasser la valeur de 700 W/m² en période estivale

à Clermont Ferrand, lorsque le soleil est au zénith.

A. Actinométries

Des mesures actinométriques ont permis de vérifier l'équivalence de toutes les positions disponibles sous la plaque de quartz dans le Suntest et de suivre l'évolution de la lampe au cours du temps. Le mélange actinométrique utilisé est constitué de PNA et de pyridine, dont le rendement quantique en lumière polychromatique peut être ajusté en fonction de la concentration de la solution en pyridine (voir équation II.1). Les concentrations ont été fixées à 8×10^{-6} M pour le PNA et à 3×10^{-3} M pour la pyridine. Elles ont été déterminées grâce à l'article de Dulin et al. [63] et correspondent à une durée de demi-vie théorique de deux heures pour l'irradiation d'une surface plane à une latitude de 40° N dans des conditions estivale [63].

$$\Phi = 0,44 * C_{pyridine} + 0,00028 \quad (\text{II.1})$$

Les solutions ont été préparées par dilution de 24,2 mg de PNA dans 100 ml d'acétonitrile d'une part et 5,3 ml de pyridine dans 100 ml d'acétonitrile d'autre part. Un volume de 0,5 ml a été prélevé dans chacune des solutions et le mélange a été dilué dans 100 ml d'eau ultrapure. Cette solution peut être conservée à 4°C pendant un mois. Les actinométries ont été effectuées dans des cellules en quartz de 10 mm d'épaisseur qui ont été remplies de manière à supprimer toute bulle d'air puis couchées sur le fond du Suntest. Les parois qui n'étaient pas directement exposées à la lumière ont été protégées par un cache noir. Les solutions d'actinomètre irradiées et non irradiées ont été analysées par chromatographie liquide. Le pourcentage de conversion du PNA a été calculé à partir des résultats de l'analyse et comparé aux valeurs obtenues lors des tests précédents.

2.5 Rinçage des films

Les échantillons ont été prélevés au cours de l'irradiation, à différents temps, afin d'établir une courbe de disparition des principes actifs. Les molécules ont été désorbées de la surface du film par redissolution grâce à un solvant adapté. Cette méthode détruit l'échantillon. Afin de pallier les incertitudes liées à cette procédure, trois réplicats ont été analysés pour chaque temps.

La plupart des études sur les surfaces végétales, feuilles, fruits ou légumes [44, 41] nécessitent le rinçage des surfaces avec des solvants organiques comme le chloroforme, le méthanol, l'acétone, l'hexane [64, 65] qui dissolvent une partie de la cuticule. En raison de la valeur du pKa

de la mésotrione et de la sulcotrione (3,1) ces deux molécules sont ioniques à $\text{pH} > 4$. Elles sont aisément resolubilisées avec une solution tamponnée à $\text{pH} 6,5$. Cette solution a été préparée à partir d'hydrogénocarbonate de sodium et de dihydrogénocarbonate de potassium dissous dans de l'eau ultrapure ($C_{\text{phosphate}} = 1 \times 10^{-4} \text{ M}$). L'efficacité de récupération des tricétones pures et formulées était de $97\% \pm 5\%$ sur les films de cire gardés à l'obscurité.

Les insecticides pyréthroïdes sont très hydrophobes et ne possèdent pas de pKa . Pour les désorber de la surface des cires étudiées un mélange équi-volumique d'acétonitrile et d'eau ultrapure a été utilisé. L'ajout d'eau pure a permis de limiter la solubilisation de la cuticule hydrophobe par l'acétonitrile et d'analyser directement les échantillons par HPLC. L'efficacité de récupération des pyréthrines était de $98\% \pm 7\%$ sur le verre à l'obscurité.

2.6 Volatilisation, diffusion et dégradation thermique

Pour décrire la dissipation du principe actif au cours de l'irradiation nous avons tracé le pourcentage de composé restant à la surface du film en fonction du temps. Afin d'estimer la constante de vitesse de phototransformation des composés, les possibles volatilisation, biotransformation et thermolyse ont été évaluées grâce aux échantillons conservés à l'obscurité sous le ventilateur au cours de la manipulation. Ces phénomènes se sont révélés négligeables pour les molécules étudiées dans les conditions expérimentales. La concentration de référence pour les calculs résulte de l'analyse des échantillons conservés à l'obscurité.

3 Etude sur les feuilles de morelle détachées

Les herbicides du maïs que nous avons étudiés ont pour cibles les *adventices*. Il nous a semblé important de valider les études sur cire en utilisant des feuilles isolées de morelle noire (*Solanum nigrum L.*). Parmi les *adventices* que nous avons à disposition, notre choix s'est porté sur cette espèce en raison de la taille et de la forme de ses feuilles qui rendaient l'étude plus facile.

3.1 Préparation des feuilles de morelle

Les feuilles de morelle utilisées pour les manipulations ont été coupées à partir de plantes cultivées sous serre dans les mêmes conditions climatiques que pour le maïs. Le semis est réalisé dans la *vermiculite* et le stade cotylédonaire est atteint en 15 à 18 jours. Les plantes sont alors repiquées en pots individuels dans du terreau principalement composé de tourbe

noire. La culture se poursuit encore 20 à 30 jours pour atteindre un stade de développement où la surface des feuilles est suffisante pour les expérimentations. Ce stade est présenté à la figure II.5. Certaines *adventices* sont des plantes possédant une cuticule très fine, difficile à isoler et à reconstituer [24]. La quantité de cire cuticulaire à la surface des feuilles de morelle noire n'est en effet que de $2,1 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ [60]. C'est pour cette raison que l'étude sur la morelle noire se limite aux manipulations sur feuilles coupées et que l'extraction de la cuticule n'a pas été envisagée.



Figure II.5: Morelle noire (*Solanum nigrum* L.) cultivée sous serre 6 semaines après la germination

3.2 Application du pesticide

La préparation des solutions de pesticide est identique à celle décrite pour les études sur les films de cire. Cependant, pour le traitement des feuilles de morelle détachées, nous avons appliqué la solution d'herbicide grâce à une micropipette. Des gouttes de $10 \mu\text{l}$ ont été réparties à la surface de la feuille et le solvant a été évaporé sous une hotte ventilée avant l'irradiation.

3.3 Irradiation des feuilles détachées

Les feuilles de morelle ont été irradiées trois par trois dans un simulateur Suntest dont l'intensité lumineuse a été fixée à $550 \text{ W}/\text{m}^2$. La manipulation n'a pas pu durer plus d'une heure en raison du dessèchement rapide des feuilles exposées.

3.4 Rinçage des feuilles

Dix feuilles ont été prélevées pour chaque temps d'irradiation. Pour le rinçage, nous avons placé les feuilles dans des flacons de 50ml dans lesquels nous avons ajouté 5ml de solution aqueuse tamponnée à pH 6,5. Les tubes ont ensuite été agités pendant cinq minutes pour assurer une ressolubilisation efficace. L'efficacité de récupération par ce protocole atteignait une valeur de $97\% \pm 5\%$ sur les feuilles non irradiées. Enfin, une aliquote a été introduite dans un pilulier et analysée par HPLC.

4 Etude sur les plantes

4.1 Devenir de Callisto sur le maïs

Nous avons étudié la phototransformation de Callisto sur des plants de maïs en pot soumis au rayonnement solaire extérieur, sur le campus.

A. Culture du maïs

Dans un premier temps, les maïs ont été cultivés sous serre. Le traitement par Callisto a eu lieu alors que le maïs avait atteint un stade de six feuilles et une hauteur 1,2m environ.

B. Traitement des plantes

Les plantes ont été traitées dans une chambre de pulvérisation qui a été développée au laboratoire. Quatre plantes ont été introduites simultanément. Les buses utilisées délivraient un volume de quatre millilitres par plante. Nous avons calculé la surface pulvérisée (1260 cm^2) et nous avons ajusté la concentration de Callisto pour atteindre la dose agricole de 110 g/ha de mésotrione. Nous avons ainsi traité une trentaine de plantes.

C. Exposition des plantes

Les plantes ont été exposées aux conditions extérieures du 25 au 27 juillet 2007 sur le campus des Cézeaux à Clermont Ferrand. Les données météorologiques ont été mesurées par le Laboratoire de Météorologie Physique de Clermont Ferrand.

Nous avons placé les plantes à l'extérieur de la serre et nous les avons orientées de manière

à ce qu'elles ne soient pas dans l'ombre des bâtiments alentours. La moitié des maïs a été entièrement recouverte par une bâche épaisse placée à 1,5 m du sol. J'ai effectué une mesure actinométrique pendant les deux heures les plus lumineuses de la journée. Cela m'a permis de vérifier que la bâche utilisée coupait complètement les radiations efficaces pour la phototransformation de Callisto. En effet, à la lumière, 50% du PNA a disparu alors que sous la bâche moins de 3% s'est transformé.

D. Rinçage des plantes

Des prélèvements ont été effectués avant l'exposition puis 24, 34 et 60 heures après le début de la manipulation. Pour chaque prélèvement, trois plantes conservées à l'obscurité et trois plantes exposées ont été coupées et entièrement extraites avec 100 ml de solution tampon. Ce volume a ensuite été lyophilisé, et le résidu a été resolubilisé dans un petit volume de solution aqueuse tamponnée avant l'analyse par HPLC.

4.2 Devenir de la sulcotrione radiomarquée sur le maïs et la morelle

Les manipulations avec la sulcotrione radiomarquée ont été réalisées en Allemagne, à l'Institut Agrosience, au sein de l'équipe Ecochemistry dirigée par le Dr. Gunnar Fent, où j'ai effectué un stage d'un mois.

A. Culture du maïs et de la morelle

La culture du maïs et de la morelle a été réalisée à l'Institut Agrosience. Les graines de maïs Banguy et de morelle noire ont été plantées dans des pots individuels remplis de sable. Ces pots ont été continuellement alimentés en fertilisant Euroflor, Flory-9-hydro (NPK : 15+7+22, 6% MgO) à 1 g/l pour assurer un apport en matière organique et sels minéraux. Une fois le stade cotylédonaire atteint, la taille des morelles noires a été mesurée et les plus grandes plantes ont été sélectionnées puis rempotées. Ceci a permis d'avoir un développement homogène des plantes. Cinq semaines ont été nécessaires pour atteindre le stade de traitement pour le maïs et six semaines pour la morelle noire.

B. Préparation et application de la sulcotrione

La solution de sulcotrione pour l'application sur les plantes a été préparée en plusieurs étapes. La solution aqueuse initiale de sulcotrione marquée au carbone 14 datant de 2003

contenait des impuretés, notamment du CMBA, produit d'hydrolyse de la sulcotrione [66]. Cette solution a donc été purifiée par chromatographie liquide, en utilisant le gradient de Ter Halle et al. [43] et en isolant la fraction d'éluant correspondant au temps de rétention de la sulcotrione.

A l'issue de la purification, le principe actif était solubilisé dans quatre millilitres d'un mélange acétonitrile (40%) / eau (60%). Afin d'empêcher la dissolution de la cuticule lors de l'application de la solution à la surface des feuilles, l'acétonitrile a été évaporé sous un flux d'azote. Cette solution de sulcotrione radiomarquée a alors été mélangée à une solution de Mikado dont j'avais préalablement déterminé la concentration par chromatographie liquide.

La concentration totale en sulcotrione dans le mélange et le volume à appliquer ont été recalculés pour atteindre une quantité de matière active de 400 à 500 g/ha, significative de la dose agricole recommandée (300-600 g/ha). Le volume total appliqué par feuille était de 250 μl sous forme de gouttes de 5 μl que nous avons réparties sur une surface d'environ 25 cm^2 (voir figure II.6). L'activité théorique appliquée par feuille était de $2,2 \times 10^5$ dpm. Les gouttelettes ont été appliquées à l'aide d'une micro-pipette automatique. Une seule feuille par plante a été traitée. Pour le maïs, le choix s'est portée sur la cinquième feuille. Les autres feuilles ont été fixées à l'aide d'une ficelle pour limiter l'atténuation du flux lumineux par les feuilles supérieures (voir figure II.6). Dans le cas de la morelle noire, nous avons, pour les mêmes raisons, choisi de traiter la feuille la plus exposée à la lumière.

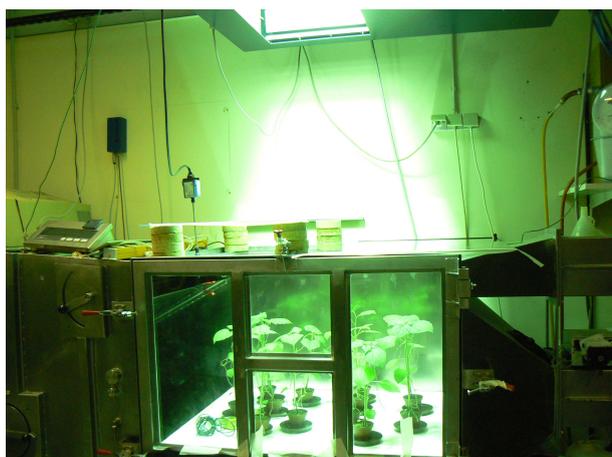


Figure II.6: Feuilles de maïs après l'application d'une solution de Mikado dopée à l'aide d'une micropipette automatique, $V_{\text{gouttelettes}}=5 \mu\text{l}$, $C_{\text{sulcotrione}}=400 \text{ g/ha}$

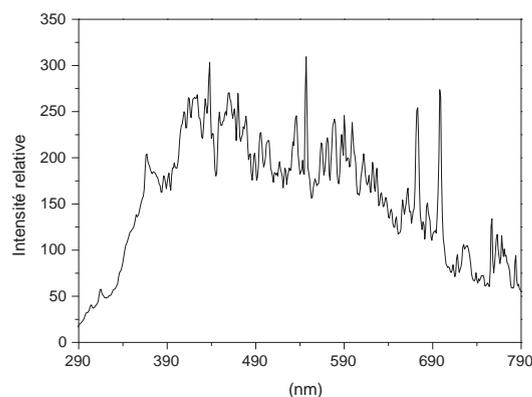
Après l'évaporation complète du solvant, qui a nécessité de deux à quatre heures, nous avons placé les plantes dans la chambre climatique.

C. Irradiation des plantes

La chambre climatique (voir figure II.7a) était pilotée par un ordinateur grâce auquel les conditions d'humidité (50%), de température (20°C) et le flux d'air (1 m/s) étaient fixés. La fluctuation éventuelle de ces paramètres a été enregistrée au cours de la manipulation. La source lumineuse utilisée était une lampe à iodure métallique dont le spectre est présenté à la figure II.7b. L'intensité lumineuse de la lampe étant de 1200 W/m² (données constructeur), nous avons utilisé un ensemble de deux filtres pour diminuer la puissance de moitié. Une plaque de verre supplémentaire placée au-dessus de la chambre a servi à couper les longueurs d'onde inférieures à 290 nm. Les plantes exposées ont été réparties sur la table de la chambre climatique. Les échantillons conservés à l'abri de la lumière ont été disposés sous la table. Ils ont ainsi été exposés aux mêmes conditions d'humidité, de température et de vent.



(a) Morelles au cours de l'irradiation dans la chambre climatique



(b) Spectre de la lampe à iodure métallique munie de ses filtres

Figure II.7: Chambre climatique

Nous avons prélevé les feuilles traitées après 30 minutes, 1 heure, 3 heures, 9 heures et 24 heures d'irradiation pour le maïs. Les feuilles conservées à l'obscurité ont été prélevées après 1 heure, 9 heures et 24 heures. Nous avons effectué un prélèvement supplémentaire à 48 heures pour la morelle noire. Seule la feuille traitée a été extraite : pour chaque prélèvement, elle a été coupée et introduite dans un tube en verre.

D. Rinçage des plantes et extraction de la sulcotrione

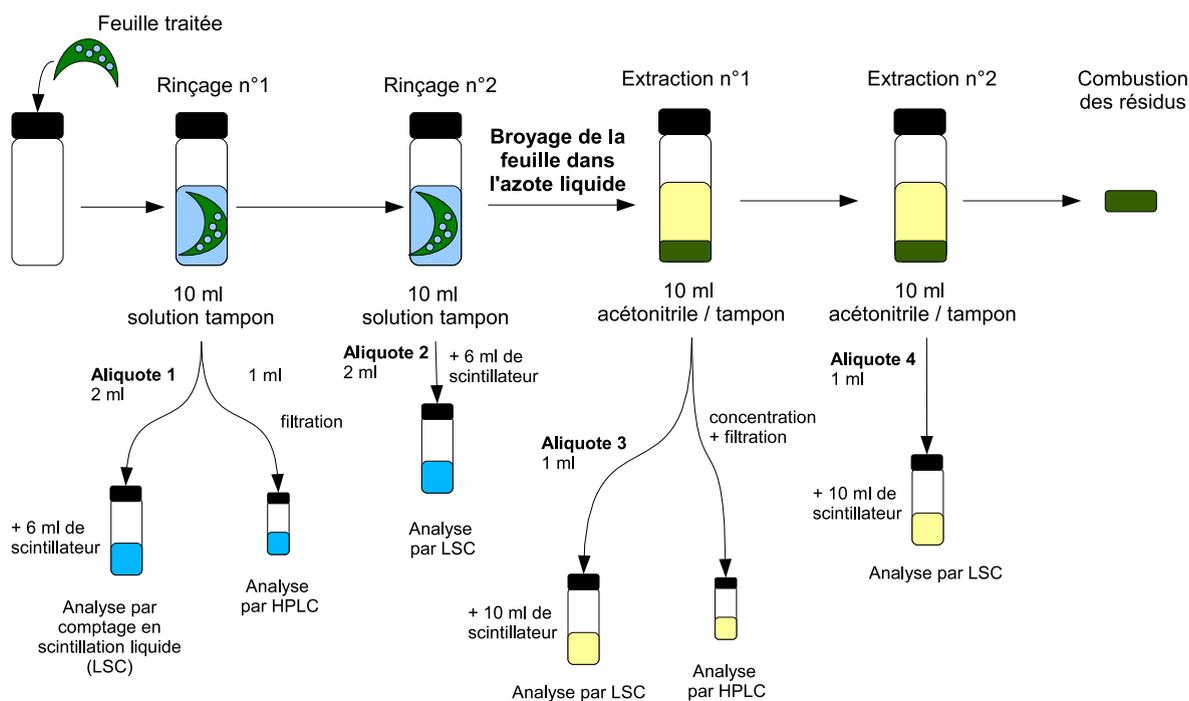


Figure II.8: Protocole d'extraction des feuilles de maïs et de morelle traitées

Sur les feuilles

Les feuilles traitées puis prélevées ont été rincées deux fois avec 10 ml d'une solution aqueuse tamponnée à pH 6,5. Ce premier rinçage a permis de resolubiliser la sulcotrione et les photoproduits présents à la surface des feuilles. Pour chacune de ces deux étapes successives, une aliquote de 2 ml a été prélevée à la solution de rinçage (aliquotes 1 et 2 sur la figure II.8), et 6 ml de scintillateur ont été ajoutés pour l'analyse de l'activité totale. De plus, 1 ml environ de la première solution de rinçage a été filtré sur filtre Whatman 0,45 μm puis analysé par HPLC.

Résidus extractibles des feuilles

Les feuilles traitées ont ensuite été broyées avec une tige de verre dans de l'azote liquide. Le broyat a été extrait deux fois avec 10 ml d'un mélange acétonitrile (50%) / eau tamponnée (50%). Pour chacune de ces deux extractions, le solvant a été récupéré après centrifugation de

l'échantillon (6000 tpm, 10 min). Un volume de 1 ml de chaque solution, auquel ont été ajoutés 10 ml de scintillateur, a été utilisé pour l'analyse par comptage en scintillation liquide (aliquotes 3 et 4 sur la figure II.8 page précédente). Nous avons concentré la solution de la première extraction par élimination d'une partie du solvant à l'évaporateur rotatif. Après passage sur un filtre Whatman 0,45 μm , nous avons injecté la solution en HPLC. Ce deuxième traitement a permis de récupérer la sulcotrione et ses produits de dégradation extractibles présents à l'intérieur des feuilles.

Résidus liés

Enfin, le broyat a été séché puis introduit dans une chambre de combustion afin d'analyser la quantité de radioactivité restante, correspondant aux résidus liés.

Dans le reste de la plante

Les feuilles non traitées et le reste de la plante ont été conservés pour analyser éventuellement la radioactivité restante correspondant aux molécules transloquées sous forme de sulcotrione ou de ses produits de dégradation.

5 Méthodes analytiques

5.1 Herbicides et insecticides non marqués

A. Spectrométrie UV-visible

Les spectres d'absorption et les mesures de densité optique des solutions de pesticides ont été enregistrés à l'aide des spectrophotomètres Cary 3 ou 13 à double faisceau parallèle ayant une précision de $\pm 0,002$ en absorbance.

L'enregistrement des spectres d'absorption des matières actives a permis de s'assurer de la stabilité des solutions au cours des manipulations. La mesure de la densité optique des solutions a été utilisée pour estimer l'efficacité du rinçage des films lors des tests préliminaires.

B. Chromatographie Liquide Haute Pression

La chromatographie a été utilisée pour ajuster la concentration des solutions commerciales de pesticides et pour analyser la concentration des principes actifs au cours de l'irradiation. Trois HPLC ont été utilisées pour ce travail :

- une HPLC Hewlett Packard équipée d'un détecteur UV-visible HP (type 1090), de deux pompes HP (type 1090) et d'un passeur d'échantillon HP 1090. L'appareil est équipé d'un dégazeur Agilent 1100 Series modèle G1379A. L'acquisition et le traitement des données sont assurés par le logiciel classe VP ;
- une HPLC Waters équipée d'un détecteur à barrette de diode (type 996), d'un détecteur UV-visible à deux longueurs d'onde (type 2487), de deux pompes (type 510) et d'un passeur d'échantillon 717. L'appareil est équipé d'un dégazeur Agilent 1100 Series modèle G1379A. L'ensemble est piloté par le logiciel Millennium. Ce système est désigné par la suite Waters Empower ;
- une HPLC Waters équipée d'un détecteur UV-visible à deux longueurs d'onde (type 2487), d'un détecteur de fluorescence à longueurs d'ondes variable (type 2475), d'un module Waters 2695 comprenant deux pompes, un passeur d'échantillon thermostaté, un dégazeur et un four à colonne thermostaté. L'ensemble est piloté par le logiciel Millennium. Ce système est désigné par la suite Waters Alliance.

Les conditions chromatographiques utilisées sont listées dans le tableau II.1 pour les pesticides étudiés. Une pré-colonne de même phase a été systématiquement ajoutée. Le débit du solvant dans la colonne a été fixé à 1 ml/min pour toutes les analyses. Le volume d'injection était de 50 μ l pour les pyréthrinés et de 25 μ l pour les autres molécules.

Pesticides	Colonnes chromatographiques	Solvants	Détection	Temps de rétention
Mésotrione	X-Terra RP-18 Waters 5 μ m 250 mm \times 4,6 mm	eau acide / ACN 65%/35%	270 nm	8,4 min
Sulcotrione	Nucleodur C18 Macherey-Nagel 5 μ m 250 mm \times 4,6 mm	eau acide / ACN 70%/30%	240 nm	13,6 min
Nitroanisole	Nucleodur C18 Macherey-Nagel 5 μ m 250 mm \times 4,6 mm	eau / ACN 50%/50%	300 nm	9,0 min
Cyperméthrine	Zorbax SBCN Agilent 5 μ m 250 mm \times 4,6 mm	eau / ACN (65%/35%)	225 nm	8,2 min
Deltaméthrine	Zorbax SBCN Agilent 5 μ m 250 mm \times 4,6 mm	eau / ACN (65%/35%)	225 nm	8,6 min

Tableau II.1: Conditions HPLC pour les analyses effectuées

En raison du pKa des tricétones, le solvant utilisé pour les analyses a été préparé à partir d'eau ultrapure acidifiée avec 3 ml d'acide formique par litre d'eau. Le pH de l'éluant aqueux était alors fixé à 1, pH auquel la mésotrione et la sulcotrione sont protonées.

Une courbe d'étalonnage a été tracée avec le principe actif pur dans la gamme de concentration étudiée, avec la méthode décrite dans le tableau II.1. Ceci a permis de mettre en évidence le domaine de linéarité, la limite de détection et la limite de quantification des pesticides étudiés (voir tableau II.2). Cette courbe d'étalonnage a également permis d'ajuster la concentration des solutions de mélanges commerciaux. Une solution concentrée de formulation commerciale, de concentration théorique $C=1 \times 10^{-2}$ M était préparée par dilution dans l'eau ultrapure. Un volume de 1 ml de cette préparation était ensuite dilué dans 100 ml d'eau pure afin d'obtenir une concentration théorique de 1×10^{-4} M, située dans le domaine de linéarité du système d'analyse. La concentration réelle de cette solution était déterminée à partir de la courbe de calibration et la teneur en principe actif de la solution mère recalculée précisément.

Les domaines de linéarité et limites de détection pour les deux systèmes chromatographiques utilisés sont listés dans le tableau II.2. La limite de détection correspond à un rapport signal sur bruit supérieur à 3 et la limite de quantification à un rapport supérieur à 10.

HPLC	Système de détection	Pesticides	Domaines de linéarité	LMD	LMQ
HP 1090	Barrette de diode	Mésotrione	10^{-6} - 10^{-3} M		$5 \cdot 10^{-6}$ M
Waters Empower	Détecteur 2 longueurs d'onde Waters 2487	Mésotrione	$5 \cdot 10^{-7}$ - $5 \cdot 10^{-3}$ M		$< 10^{-6}$ M
Waters Alliance	Détecteur 2 longueurs d'onde Waters 2487	Cyperméthrine	10^{-8} - $> 10^{-4}$ M	10^{-8} M	10^{-7} M
		Cyplan			
		Deltaméthrine	10^{-7} - $> 10^{-4}$ M	10^{-8} M	10^{-7} M
		Decis Protech			

Tableau II.2: Domaines de linéarité, limites de détection et de quantification pour le matériel utilisé

Ces méthodes d'analyse ont été utilisées pour le suivi de l'évolution de la concentration des composés au cours de l'irradiation. La solution tampon, pour la mésotrione et la sulcotrione, ou le mélange acétonitrile-eau, pour les pyréthrinés, utilisés pour le rinçage des films ont été injectés directement et l'aire du pic chromatographique a permis le calcul de la concentration dans l'échantillon.

C. Spectrométrie de masse

Les analyses par spectrométrie de masse qui ont permis l'identification des photoproduits ont été réalisées au Centre Régional de Mesures Physiques (CRMP) de Clermont Ferrand. L'appareillage utilisé était de marque Q-tof-Micro/Waters 2699, couplé à une HPLC Waters équipée d'un détecteur UV-visible, d'un module Waters 2695 comprenant deux pompes, un passeur d'échantillon thermostaté, un dégazeur et un four à colonne thermostaté. A l'interface entre l'HPLC et le spectromètre de masse se trouve la chambre de nébulisation qui permet l'ionisation des molécules présentes dans l'échantillon. Le mode d'ionisation utilisé était l'Electrospray (ESI).

La séparation des produits a été réalisée en phase inverse sur une colonne Nucleosil 100-5 C₁₈, 3,5 μ m (150 mm \times 2,1 mm) à 20°C. Les solvants qui ont été utilisés sont l'acétonitrile et l'eau acidifiée avec de l'acide formique (0,4%). Le gradient d'élution a été représenté à la figure II.9 et le débit a été fixé à 0,2 ml/min.

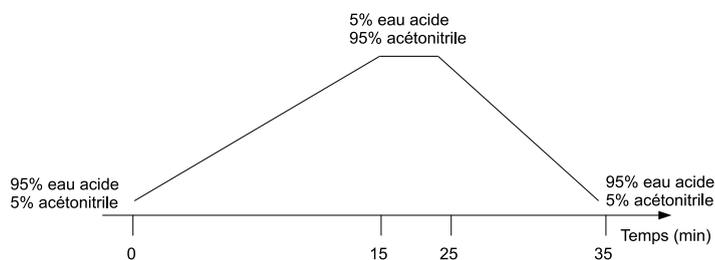


Figure II.9: Gradient d'élution pour l'analyse de la mésotrione en spectrométrie de masse

5.2 Analyse de la sulcotrione radiomarquée

Nous avons effectué deux types d'analyses pour la sulcotrione radiomarquée. D'une part, le comptage par scintillation liquide nous a donné une valeur de l'activité totale des échantillons. D'autre part, l'analyse par chromatographie liquide a permis de séparer l'activité correspondant à la sulcotrione de celle correspondant à ses produits de dégradation.

A. Comptage en scintillation liquide

Le comptage par scintillation liquide consiste à mesurer l'émission lumineuse produite par le scintillateur soumis à la radioactivité de l'échantillon. En général, l'efficacité de conversion de la radioactivité en lumière n'est pas de 100%, il n'est pas rare que des phénomènes de quenching dus au solvant apparaissent. La valeur obtenue est alors corrigée en fonction du solvant utilisé.

Les échantillons dans l'eau tamponnée ont été analysés grâce à un Tri-carb 2800 TR (Perkin Elmer) piloté par un ordinateur. Les échantillons solubilisés dans le mélange acétonitrile / eau tamponnée ont été analysés grâce à un Tri-carb 2300 TR (Perkin Elmer) qui corrige automatiquement le quenching dû au solvant.

B. Chromatographie liquide

La chromatographie liquide en phase inverse a permis de séparer les photoproduits et de déterminer leur proportion dans les extraits. Le matériel utilisé est une chaîne chromatographique Jasco équipée d'un détecteur UV-visible Jasco (type 1575), de deux pompes Jasco (type PU-980), d'un radio-détecteur Flow-One beta (Radiometric). L'appareil était équipé d'une pompe supplémentaire permettant l'ajout du scintillateur Ultima Flow M (Perkin Elmer) à l'entrée du radio-détecteur. La colonne utilisée était une LiCrosphere RP-18 5 μm , (250 mm \times 4 mm) (Merck).

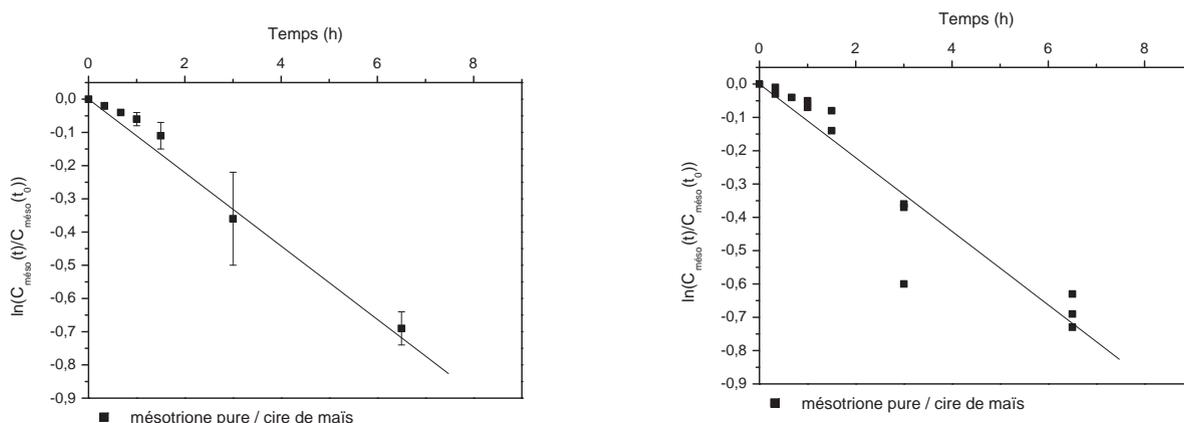
6 Exploitation des résultats

6.1 Cinétique de disparition et tracé des courbes

Pour chaque résultat expérimental, deux graphiques ont été tracés. Premièrement, le suivi de la quantité $C_t/C_0 \cdot 100$ en fonction du temps montre le profil de disparition du pesticide étudié. C_t représente la concentration restant à la surface du film ou de la feuille traitée au temps t et C_0 la concentration moyenne des échantillons conservés à l'obscurité.

Deuxièmement, l'ordre de la réaction a été déterminé par le tracé du logarithme du rapport C_t/C_0 en fonction du temps. Lorsque le tracé est linéaire, on admet que la cinétique est de pseudo-premier ordre. La régression linéaire permet alors d'estimer la constante de vitesse apparente de la réaction. Cet ajustement a été réalisé à l'aide du logiciel Origin 6.0.

Les échantillons ont été tripliqués et les analyses chromatographiques dupliquées. Pour chaque point expérimental, la valeur présentée sur le graphique correspond à la moyenne des valeurs des réplicats et la barre d'erreur correspond à l'écart type (voir figure II.10a). Afin d'améliorer la justesse du calcul de la constante de vitesse à l'aide de la méthode des moindres carrés, tous les points ont été conservés pour le calcul de la constante apparente de pseudo-premier ordre (voir figure II.10b). La valeur de la constante de réaction est donnée avec un niveau de confiance de 95%.



(a) Représentation avec la moyenne des réplicats

(b) Tracé de la régression linéaire en utilisant toutes les valeurs des réplicats des points expérimentaux

Figure II.10: Tracé de la droite de régression linéaire et représentation graphique

6.2 Test statistique

Le protocole expérimental fait appel à une méthode d'analyse destructive de l'échantillon par resolubilisation des principes actifs en surface. L'erreur, représentée par l'écart-type de la valeur de la concentration sur les trois prélèvements, est importante.

L'effet des paramètres tels que le support ou la présence d'additifs sur la phototransformation des principes actifs a été évalué par la comparaison des constantes de vitesse. Pour comparer les pentes de deux régressions linéaires, un test d'hypothèse a été effectué avec un niveau de confiance de 5% (voir annexes 1).

6.3 Calculs pour la sulcotrione radiomarquée

Le traitement des données pour la sulcotrione radiomarquée a nécessité des calculs supplémentaires que je présente rapidement dans ce paragraphe.

A. Activité totale

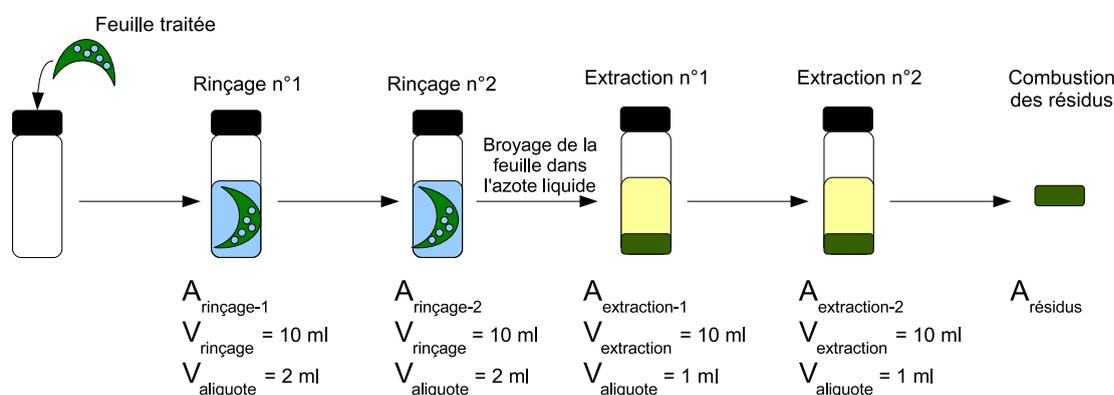


Figure II.11: Activité, volume d'extraction et volume des aliquotes pour les différentes fractions analysées

La radioactivité totale extraite a été calculée avec l'équation II.2 page suivante à partir des résultats du comptage par scintillation liquide de chacune des quatre fractions (figure II.11) :

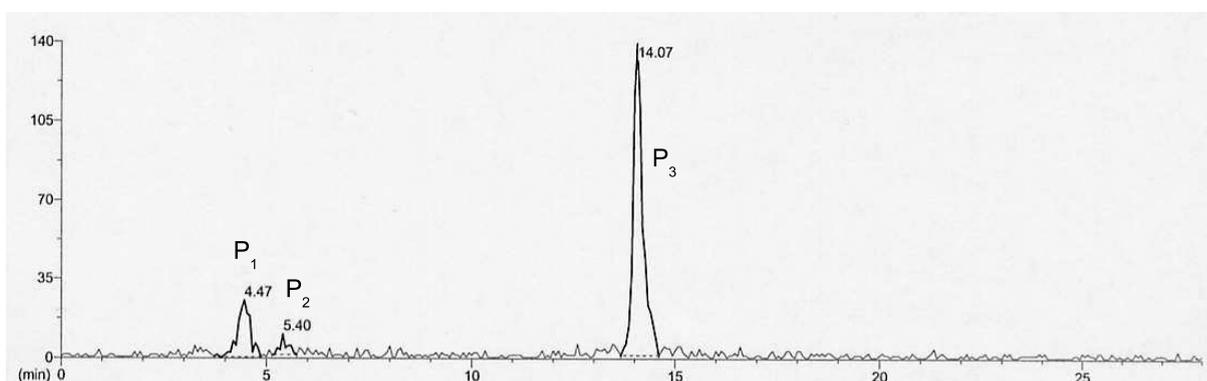
- les deux rinçages avec la solution tampon : $A_{\text{rinçage-1}}$ et $A_{\text{rinçage-2}}$;
- les deux extractions à l'acétonitrile : $A_{\text{extraction-1}}$ et $A_{\text{extraction-2}}$;
- les résidus liés : $A_{\text{résidus}}$

$$A_{\text{totale}} = A_{\text{rinçage-1}} + A_{\text{rinçage-2}} + A_{\text{extraction-1}} + A_{\text{extraction-2}} + A_{\text{residus}} \quad (\text{II.2})$$

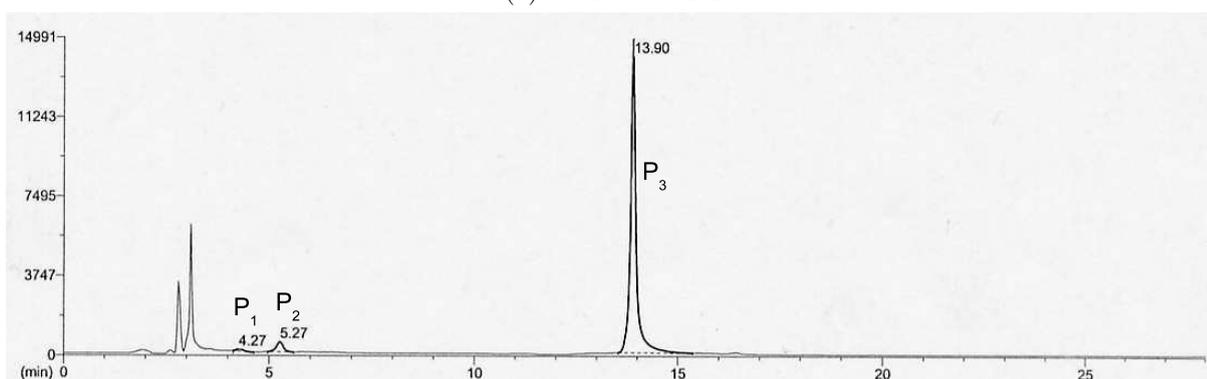
Pour chaque fraction, j'ai effectué le comptage par scintillation sur une aliquote. La quantité de radioactivité dans les 10 ml initiaux est recalculée grâce à l'équation II.3. Par exemple, pour la première fraction correspondant au rinçage de la feuille par 10 ml de solution tampon, la quantité de radioactivité est calculée avec $V_{\text{rinçage-1}}=10$ ml et $V_{\text{aliquote-1}}=2$ ml.

$$A_{\text{rinçage-i}} = A_{\text{aliquote-i}} \times \frac{V_{\text{rinçage-i}}}{V_{\text{aliquote-i}}} \quad (\text{II.3})$$

B. Dosage par chromatographie liquide



(a) Radiodétection



(b) Détection UV : $\lambda = 270$ nm

Figure II.12: Chromatogramme HPLC de la solution tampon utilisée pour le rinçage de la feuille de maïs après 3 heures d'irradiation en chambre climatique

Comme nous ne disposons pas de standards radiomarqués pour les produits de dégradation de la sulcotrione, les pics ont été identifiés grâce à leur temps de rétention et par comparaison avec leur signal obtenu grâce à la détection UV (voir figure II.12b). Les valeurs d'aires que

j'ai utilisées pour les calculs correspondent aux aires déterminées sur le chromatogramme par radiodétection (voir figure II.12a). Ce dosage par HPLC donne une valeur pour l'aire de chaque pic (P_1 , P_2 et P_3 sur la figure II.12). Le pourcentage d'activité correspondant à chaque produit dans la fraction analysée est donc calculé par la formule II.4.

$$\%P = \frac{A_P}{\sum A_{P_i}} \quad (\text{II.4})$$

où P correspond à la molécule dont on veut déterminer le pourcentage, A_P à son aire chromatographique et $\sum A_{P_i}$ à la somme des aires de tous les pics détectés par le radiodétecteur.

**PHOTOTRANSFORMATION DE
PESTICIDES SUR FEUILLES**

Chapitre III

Phototransformation des herbicides tricétoniques

1 Introduction bibliographique

La sulcotrione et la mésotrione sont deux herbicides de la famille des tricétones (voir figure III.1 page suivante). Elles ont été développées par Zeneca et commercialisées en Europe en 1993 et 2001 [67] en remplacement de l'atrazine, interdite en Europe depuis 2003.

1.1 Mode d'action des tricétones

La sulcotrione et la mésotrione agissent en inhibant l'enzyme 4-hydroxy-phényl-pyruvate-dioxygénase (4-HPPD), localisée dans le cytoplasme des cellules vivantes [68]. Cette enzyme intervient, chez les végétaux, dans la synthèse de la plastoquinone. La plastoquinone-9 est un co-facteur de la phytoène désaturase, une enzyme impliquée dans la synthèse des caroténoïdes [69]. Les herbicides tricétoniques agissent donc indirectement sur la production des carotènes qui jouent un rôle important dans le mécanisme photosynthétique. Ils transfèrent l'énergie lumineuse absorbée à la chlorophylle, désactivent l'oxygène singulet et protègent les tissus végétaux [70]. Le traitement des organismes photosynthétiques par les herbicides tricétoniques entraîne le blanchiment des jeunes feuilles et la mort de la plante par photooxydation de la chlorophylle et destruction des membranes cellulaires qui ne sont plus protégées par les carotènes dont la production s'arrête [70]. Les herbicides tricétoniques ne causent pas de blanchiment des tissus matures qui possèdent déjà leur stock de carotènes. Cependant, la plastoquinone est aussi un transporteur mobile d'électrons de l'appareil photosynthétique. Dans les

organes matures, le traitement par les tricétones perturbe donc la chaîne de transfert d'électrons photosynthétiques, bloquant ainsi le mécanisme vital de production d'énergie au sein de la plante [71].

L'application de ces matières actives doit se faire à un stade de développement précoce des *dicotylédones* ciblées pour être pleinement efficaces et entraîner leur suppression. Les tricétones agissent par voies foliaire et racinaire et possèdent une action antigerminative permettant de contrôler les levées d'*adventices* postérieures au traitement. La fonction nitro de la mésotrione, qui remplace le chlore de la sulcotrione, lui confère une activité herbicide plus importante [69] et un spectre d'activité plus large [72].

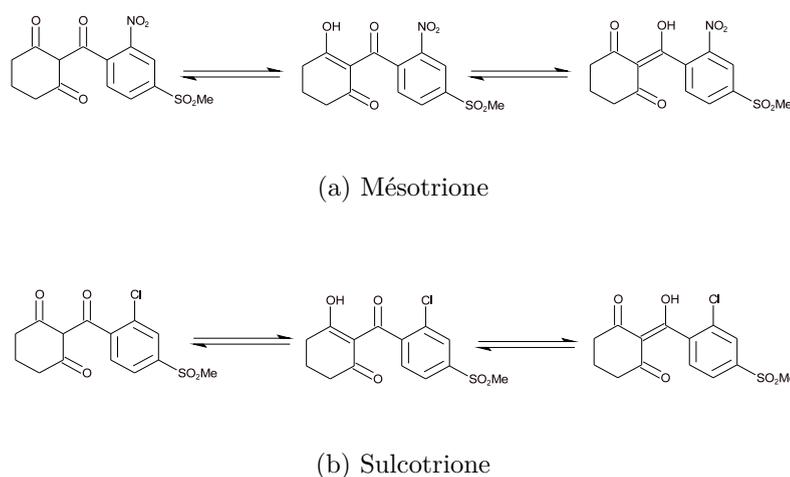


Figure III.1: Structure chimique des tricétones étudiées

1.2 Formulations commerciales

Ces herbicides sont utilisés pour le traitement en pré ou en post-émergence dans les cultures de maïs (voir figure III.2). Plusieurs formulations commerciales sont disponibles : Callisto, Khalifat, Camix et Calibra pour la mésotrione [73]; Cornbest, Cornet, Cortes, Cube, Gecko, Sulko, Sulwesi, Termika et Mikado pour la sulcotrione [74]. Certains de ces mélanges disponibles sur le marché contiennent une ou plusieurs matières actives en complément de la tricéto. Calibra par exemple est un mélange de S-metolachlore, bénomaxacor et mésotrione. De plus, l'utilisateur est autorisé à mélanger lui-même deux formulations commerciales dont les matières actives ont des modes d'action complémentaires. Dans ce cas, les mélanges autorisés et les concentrations sont précisés sur le flacon. L'ajout, par l'utilisateur, de nicosulfuron, herbicide de la famille des sulfonilurées qui inhibe la division cellulaire [75], améliore l'efficacité de la mésotrione sur plusieurs types d'*adventices* peu sensibles aux tricétones.

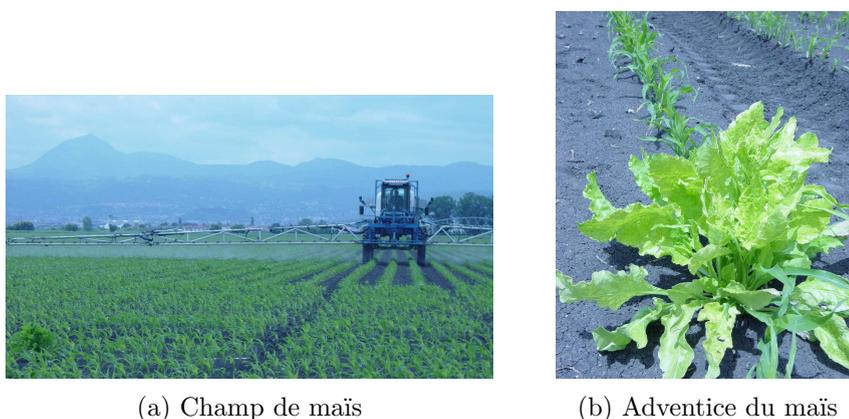


Figure III.2: Traitement du maïs en post levée

1.3 Devenir dans l'environnement

La persistance de la mésotrione et de la sulcotrione dans l'environnement dépend des phénomènes de dissipation *biotiques* et *abiotiques* auxquels ces herbicides sont soumis après la pulvérisation au champ. Les données de la littérature traitent principalement du compartiment aquatique et des sols.

Dans les sols

La dissipation dans les sols a été étudiée par plusieurs auteurs et dans différents types de sols. La mésotrione et la sulcotrione ont un comportement similaire dans les sols ; leur durée de demi-vie varie de 5 à 65 jours [76] et les processus mis en jeu sont l'hydrolyse et la biotransformation. La persistance dans les sols est aussi liée à l'adsorption des principes actifs sur les constituants des sols. Elle est plus importante sur des sols riches en matières organiques [77, 78] et dépend du pH [79]. La dégradation dans les sols étant modérée, l'étude de la contamination des eaux par *lixiviation* [76] est nécessaire. La sulcotrione est en effet mobile dans les sols jusque plus d'un mois après l'application. Un métabolite majoritaire, le CMBA (voir figure III.3) a été retrouvé par Cherrier *et al.* [80] dans les couches superficielles du sol. Quant à la mésotrione, l'analyse de ses résidus dans les sols par Alferness *et al.* [81] a mis en évidence la production d'AMBA et de MNBA au cours de la biotransformation (voir figure III.5).

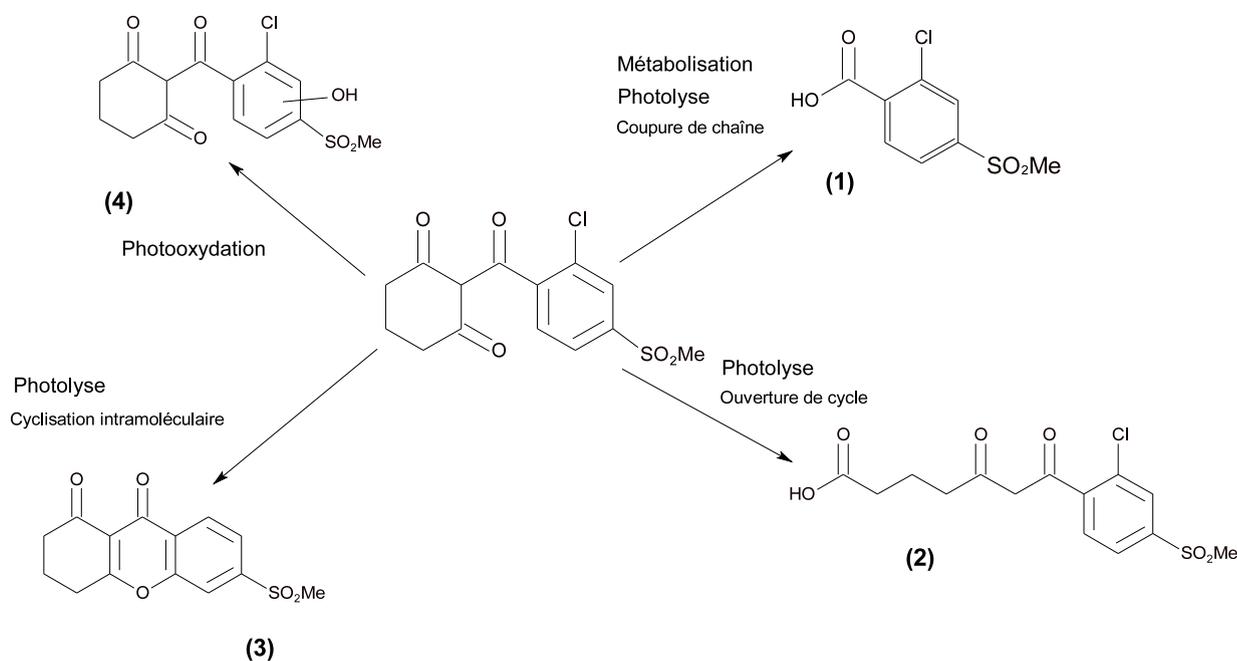


Figure III.3: Métabolites et photoproduits de la sulcotrione

En milieu aqueux

Des analyses par HPLC-MS d'échantillons provenant d'un lac suisse ont révélé la contamination des eaux de surface par un grand nombre d'herbicides dont la sulcotrione [82], 9 ans après son autorisation de mise sur le marché. Les phénomènes de dissipation à l'oeuvre dans les eaux de surface sont la biotransformation, la phototransformation et l'hydrolyse. Ces processus sont influencés par le pH, la diversité microbienne ou la quantité de matière organique en solution. La durée de demi-vie de la sulcotrione passe en effet de trente heures à pH 6,5 à moins d'une heure à pH 2,5 [43] sous irradiation. Les photoproduits détectés sont le CMBA, des isomères hydroxylés de la sulcotrione et un xanthène, produit de cyclisation intramoléculaire isolé et caractérisé par Ter Halle *et al.* [43] (voir figure III.3).

En ce qui concerne la mésotrione, la biotransformation et la phototransformation ont été étudiées en milieu aqueux. Durand *et al.* [83] ont isolé à partir de l'eau des nuages une souche bactérienne capable de métaboliser la mésotrione. Ils ont identifié plusieurs métabolites dont l'AMBA, l'hydroxylamine, l'isoxazole-3-ol, l'isoxazole et un produit issu de l'hydroxylamine par ouverture de la cyclohexanone (composés 1, 5, 7, 8 et 6 de la figure III.5 page 59). Les études réalisées pour l'autorisation de mise sur le marché montrent que la mésotrione est rapidement biotransformée dans les eaux de surface. En revanche, sous l'effet uniquement de la lumière,

sa durée de demi-vie dans l'eau varie de 86 à 96 jours dans des conditions d'ensoleillement estivales [84].

Le mécanisme de phototransformation de la mésotrione a été étudié en solution aqueuse. Il fait intervenir l'état excité triplet de la mésotrione [85]. Cet intermédiaire réactionnel peut être désactivé par l'eau ou par la mésotrione elle-même, qui joue alors le rôle de donneur-H. D'autre part, un transfert d'énergie entre l'état excité triplet de la mésotrione et l'oxygène de l'air peut avoir lieu et conduire à la formation d'oxygène singulet capable d'oxyder la mésotrione (voir figure III.4).

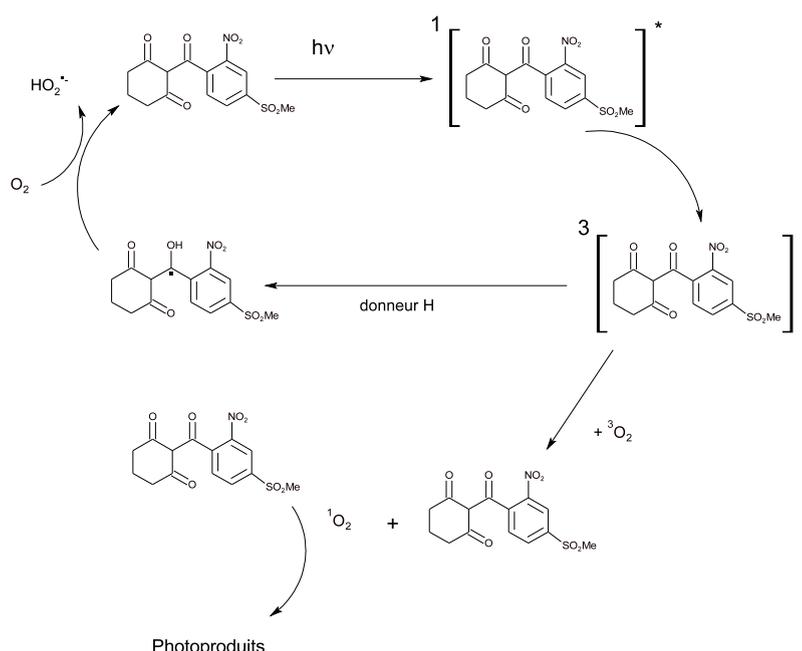


Figure III.4: Mécanisme de phototransformation de la mésotrione dans l'eau

La phototransformation de la mésotrione en solution est aussi influencée par la matière organique naturelle. La réaction est complexe : elle dépend de la concentration en matière organique. Ajoutée entre 0 et 5 mg/l, la matière organique exerce un effet inhibiteur sur la phototransformation de la mésotrione. Cette inhibition est due à la présence de groupements donneurs-H (voir figure III.4). Au-delà de 5 mg/l, l'effet photosensibilisateur l'emporte sur l'effet inhibiteur. Les photoproduits majoritaires identifiés sont alors le MNBA et deux molécules issues de l'ouverture du cyclohexane [85] (composés 2, 3 et 4 sur le figure III.5).

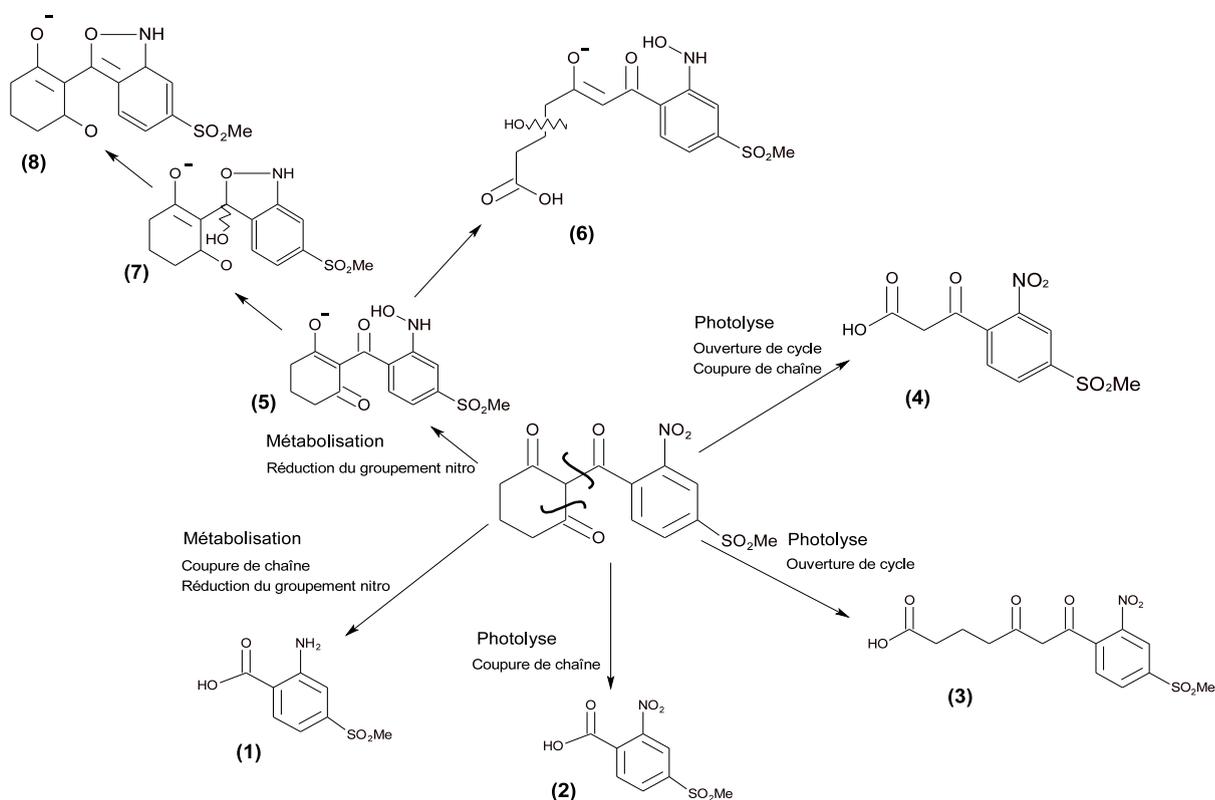


Figure III.5: Métabolites et photoproduits de la mésotrione

Dans l'air

L'eau et le sol sont les deux compartiments visés par la directive européenne 91/414 pour l'étude des risques environnementaux des substances actives [86]. Le comportement dans l'air se réduit aux données physico-chimiques telles la constante de Henry et la tension de vapeur. La mésotrione et la sulcotrione ont une tension de vapeur de $5,7 \times 10^{-6}$ Pa et $5,0 \times 10^{-6}$ Pa respectivement. Ce sont donc des molécules peu volatiles.

Sur les surfaces foliaires

Une étude récente a montré la rapidité de la phototransformation de la sulcotrione sur les feuilles de maïs, prouvant l'importance de ce processus pour des molécules photosensibles. En effet, un jour après pulvérisation, 90% de la sulcotrione avait disparu de la surface de la feuille et 23% s'était transformée en xanthène, photoproduit sélectif de la sulcotrione [87]. De plus, cette molécule s'accumule à la surface des feuilles au cours des trois premiers jours. Une autre étude,

cette fois dans des conditions de laboratoire, sur cette même substance active a mis en évidence une accélération de la phototransformation sur les cires par rapport au taux de disparition en solution [43]. On en conclut que les durées de demi-vie sur les surfaces végétales ne peuvent pas être directement extrapolées des données en solution et que des études au cas par cas sont nécessaires pour évaluer les risques de phototransformation des pesticides pulvérisés sur les cultures.

Les données de la littérature montrent que la sulcotrione et la mésotrione, de structure chimique très proche, ont des comportements photochimiques différents ; la sulcotrione est le siège d'une cyclisation intramoléculaire alors que la phototransformation de la mésotrione, conduit à d'autres photoproduits.

2 Introduction au travail expérimental

La phototransformation de la mésotrione et de la sulcotrione sur les feuilles peut être influencée par de nombreux paramètres. Afin d'évaluer l'influence du support et des additifs de la formulation, la phototransformation de la mésotrione a été étudiée en plusieurs étapes.

Tout d'abord, la photolyse de la mésotrione pure a été testée sur des films de cires de compositions différentes. Une étude analytique a permis de proposer une structure pour les photoproduits de la mésotrione sur la cire.

Dans un second temps, nous avons étudié Callisto, la formulation commerciale de la mésotrione. Des supports de complexité croissante ont été utilisés :

- trois cires différentes ;
- des feuilles de morelle coupées ;
- des plantes entières.

Sur les cires, nous avons mis en évidence l'influence des additifs, le rôle de l'oxygène singulet, et l'influence de la concentration sur la vitesse de photolyse de la mésotrione. Nous avons également réalisé une formulation synthétique de la mésotrione au laboratoire. Ceci nous a permis de comprendre l'effet des surfactants présents dans Callisto. Sur les plantes, notre but a été de déterminer la part de la phototransformation sur la dissipation globale de la mésotrione dans Callisto, soumise aux conditions climatiques extérieures.

Pour l'étude de la sulcotrione pure et formulée, nous avons utilisé le protocole mis en place sur les films de cire. Puis nous avons réalisé une étude sur le maïs et sur la morelle noire avec de la sulcotrione radiomarquée. Cette étude nous a permis d'établir un bilan global du devenir de l'herbicide sur les plantes.

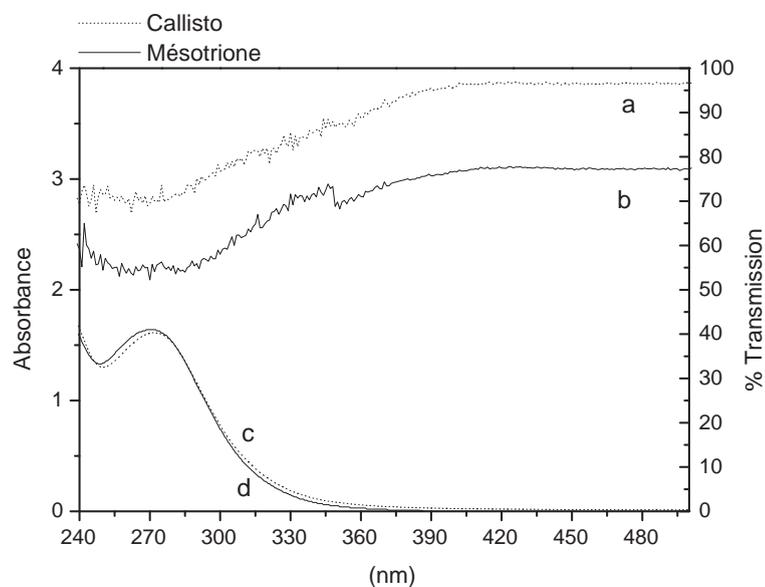
3 Phototransformation de la mésotrione pure et de Callisto

3.1 Propriétés spectrales de la mésotrione et de Callisto

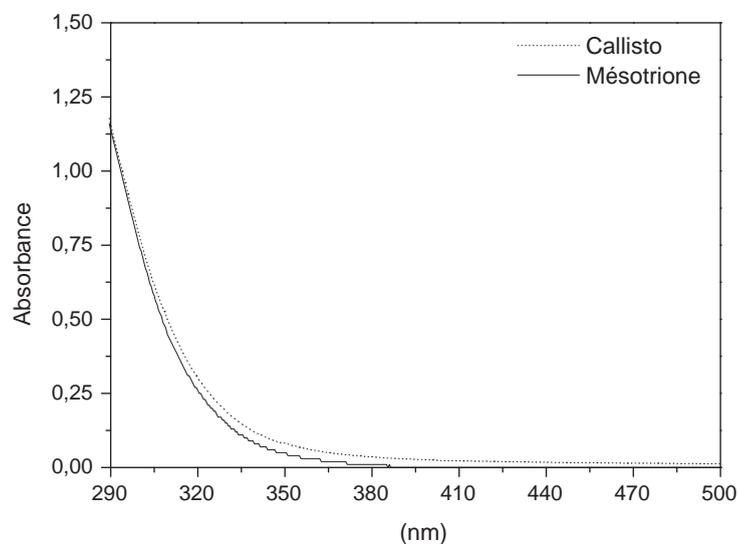
Les figures III.6a page suivante et III.6b page suivante montrent le spectre d'absorption des solutions de mésotrione et de Callisto dans l'acétonitrile (courbes c et d). Ces deux spectres présentent un maximum à 270 nm ($\epsilon_{\text{mésotrione}}=16000 \pm 500 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$). La solution de Callisto a le même profil d'absorption que la solution de mésotrione. Cependant, entre 290 et 500 nm, l'absorption de la solution de Callisto est un peu plus importante. Les additifs de la formulation commerciale absorberaient donc faiblement la lumière dans la portion actinique du spectre solaire.

J'ai effectué de nombreux essais pour enregistrer le spectre d'absorption de la mésotrione et de Callisto dans des conditions proches de celles des expérimentations, c'est-à-dire à sec. Dans un premier temps, j'ai essayé de déposer de la mésotrione à la surface d'une plaque de quartz. Pendant l'évaporation, des agrégats de cristaux répartis de manière inhomogène se sont formés. Le spectre d'absorption n'était pas exploitable. Dans un second temps, j'ai tenté le dépôt de la solution de mésotrione sur un film de cire de maïs très fin avec le même résultat. Finalement j'ai effectué une dispersion de mésotrione et de Callisto dans une solution de kaolin, que j'ai ensuite déposée sur une plaque de quartz. L'épaisseur optimale de la couche de kaolin était de 0,5 μm . Après l'évaporation du solvant, le film contenant Callisto avait un aspect beaucoup plus homogène que le film contenant la mésotrione pure. Ceci était dû à la présence, dans la formulation, de *tensioactifs* favorisant l'étalement à la surface de la plaque de quartz. Les films de kaolin analysés sont très différents des films de cire. Cependant, c'est le système qui nous a permis d'acquérir des spectres d'absorption des molécules à sec. Ils ont été enregistrés avec un spectrophotomètre UV-visible muni d'une sphère d'intégration et ont été comparés aux spectres d'absorption en solution.

Les courbes a et b de la figure III.6a représentent le spectre d'absorption d'un film de kaolin contenant de la mésotrione et du Callisto. L'inhomogénéité du film contenant la mésotrione provoque de la diffusion caractérisée par une ligne de base autour de 77% de transmission. Pour le film contenant Callisto, la ligne de base se situe autour de 95% de transmission. Il est difficile de comparer l'absorption des deux films de kaolin. Malgré cela, on peut voir qu'ils présentent le même maximum d'absorption centré autour de 270 nm.



(a) Spectres d'absorption de la mésotrione et de Callisto en solution (courbes c et d). Spectres en transmission dans un film de kaolin (courbes a et b)



(b) Spectres d'absorption de la mésotrione et de Callisto entre 290 et 450 nm

Figure III.6: Spectres d'absorption de la mésotrione et de Callisto en solution dans l'acétonitrile, $C_{\text{mésotrione}}=10^{-4}$ M, et dans des films de kaolin sur des plaques de quartz, 0,5 mg de mésotrione + 0,3 mg de kaolin ($C_{\text{mésotrione}}=17\ 000$ g/ha)

3.2 Méso-trione pure

Les premières études de phototransformation sur les films de cire ont été réalisées avec de la méso-trione pure. Pour ces manipulations, la puissance du Suntest a été fixée à 765 W/m^2 .

A. Méso-trione en solution et sur cire de maïs

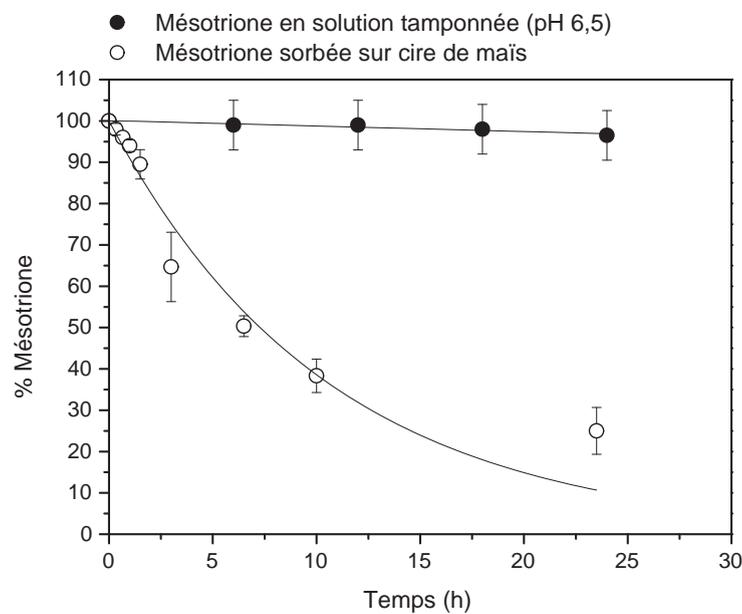
Après la pulvérisation en *post-levée* au champ, les solutions de pesticides sont dispersées sous forme de gouttelettes à la surface des feuilles de la plante. Peu après le traitement, le solvant s'évapore, laissant les composés non volatils sorbés à la surface de la feuille. Afin de reproduire les conditions à la surface du végétal après traitement, les manipulations sur les supports ont été réalisées après évaporation du solvant.

Notre première étude a consisté à comparer la vitesse de phototransformation de la méso-trione sorbée sur cire de maïs avec celle en solution tamponnée à pH 6,5. Ce pH a été choisi car il est proche du pH des eaux douces de surface qui varie entre 6,4 et 8,3. La concentration de la solution est de $1 \times 10^{-4} \text{ M}$. Sur les films de cire, nous avons fixé la quantité de méso-trione à 1750 g/ha par hectare. Cette valeur correspond à une quantité dix fois plus importante que la quantité recommandée pour le traitement agricole. Pour les deux manipulations, nous avons déposé le même nombre de moles de méso-trione par cristalliseur.

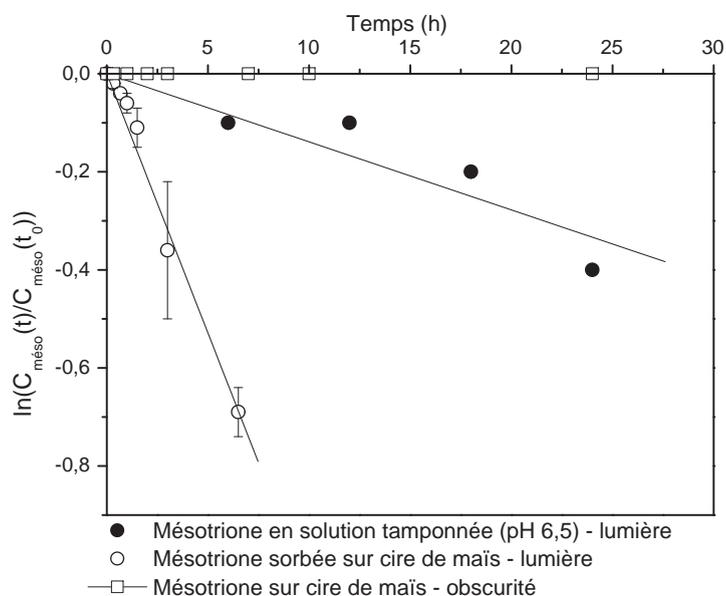
En parallèle, nous avons réalisé le suivi de l'évolution de la quantité de méso-trione au cours du temps, pour des échantillons conservés à l'obscurité. En solution comme sur les films de cire, nous n'avons pas observé de disparition de l'herbicide, même après 24 heures. Les phénomènes de pénétration, de volatilisation, de dégradation thermique et d'hydrolyse n'ont donc pas lieu lors de ces manipulations au laboratoire.

La figure III.7a page suivante montre l'évolution de la quantité de méso-trione restant au cours de l'irradiation en Suntest à 765 W/m^2 , en solution tamponnée et à la surface des films de cire de maïs. Pour la solution tamponnée, après 24 heures d'irradiation, moins de 5% de la méso-trione a été transformée. Sur les films de cire de maïs, plus de 70% de la méso-trione a disparu après 24 heures d'exposition.

Sur la figure III.7b page suivante nous avons tracé le logarithme du rapport C_t/C_0 pour la méso-trione en fonction du temps : pour les manipulations à la lumière dans l'eau et sur les films de cire, ainsi que pour la manipulation sur les films conservés à l'obscurité. Les points expérimentaux se distribuent selon une droite ce qui met en évidence l'ordre 1 apparent de la réaction de phototransformation. Pour tous les graphiques représentant $\ln(C_t)/C_0=f(t)$, je me limiterai aux points qui permettent un tracé du pseudo-premier ordre.



(a) Pourcentage de mésotrione restant dans le cristalliseur en fonction du temps d'irradiation



(b) Evolution du logarithme du rapport C_t/C_0 pour la mésotrione en fonction du temps d'irradiation

Figure III.7: Suivi de la disparition de la mésotrione en solution tamponnée à pH=6,5 ($C_{\text{mésotrione}}=10^{-4}$ M) et sorbée sur film de cire de maïs ($C_{\text{mésotrione}}=1750$ g/ha) sous irradiation en Suntest à 765 W/m²

La constante de photolyse de la mésotrione dans l'eau a pour valeur $k_{app}=3,6\times 10^{-7} \text{ s}^{-1} \pm 61\%$. Pour la phototransformation de la mésotrione sorbée sur la cire de maïs, on remarque que le pseudo-premier ordre n'a été établi que jusqu'à 50% de conversion sur les cires. la valeur de la constante apparente est $k_{app}=3,0\times 10^{-5} \text{ s}^{-1} \pm 19\%$.

La phototransformation de la mésotrione sorbée sur la cire de maïs est plus rapide que la photolyse dans l'eau à pH 6,5. Le rapport des constantes de vitesse apparentes calculées est de 86.

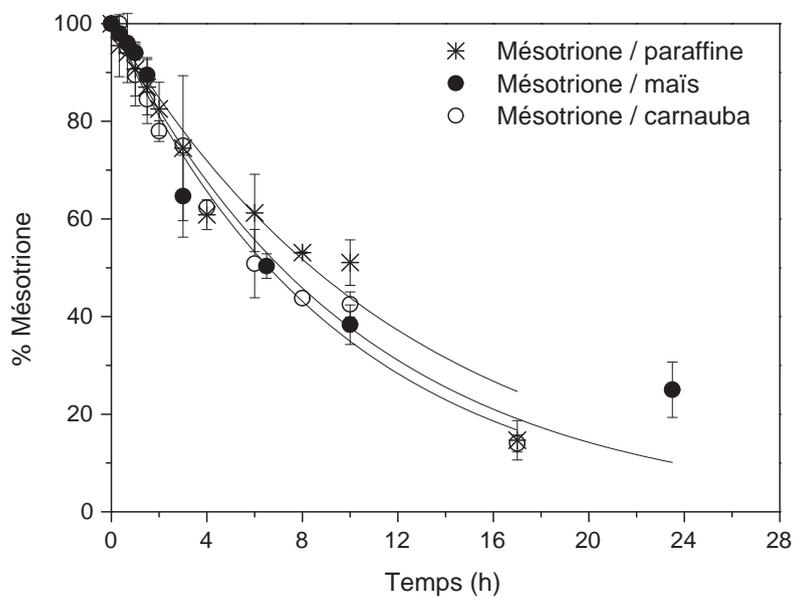
B. Influence de la nature de la cire

Selon certains auteurs, la composition chimique de la cuticule influence la vitesse de phototransformation des polluants à leur surface [26, 45]. Afin d'étudier l'influence de la nature du film sur la phototransformation de la mésotrione, nous avons centré notre étude sur trois cires différentes : la cire de maïs, la cire de carnauba et la cire de paraffine. La cire cuticulaire du maïs a été extraite au laboratoire suivant le protocole décrit dans la partie expérimentale. Elle représente la surface des feuilles de maïs traitées. La cire de carnauba composée d'alcools à longues chaînes est une cire commerciale dont la composition est proche de la cire du maïs juvénile. La cire de paraffine représente quant à elle la surface foliaire de la morelle noire dont la composition chimique est similaire. Pour cette étude, la quantité initiale de mésotrione à la surface des films de cire était de 1750 g/ha.

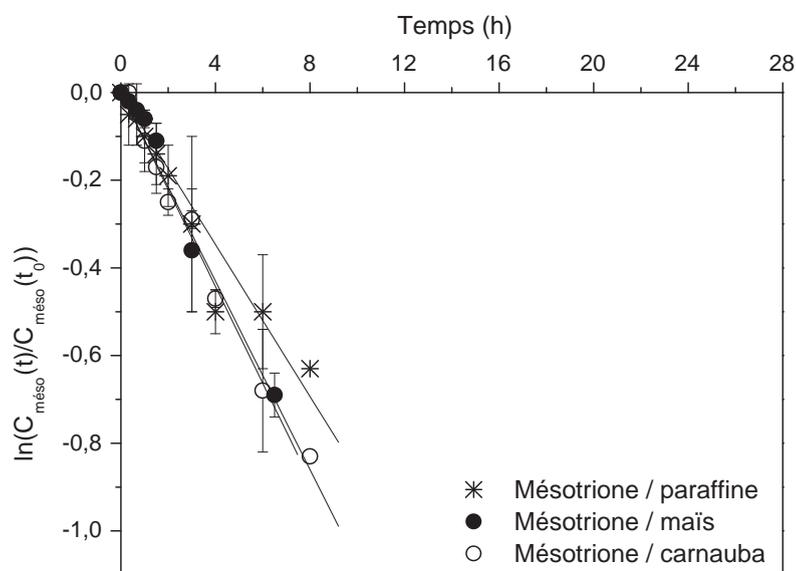
La figure III.8a page suivante représente l'évolution du pourcentage de mésotrione sorbée sur les films de cire au cours de l'irradiation en Suntest à 765 W/m^2 . Entre 6 et 8 heures sont nécessaires pour phototransformer la moitié de la mésotrione appliquée sur les différents films de cire.

Pour les 8 premières heures d'irradiation, la distribution des données expérimentales suit une cinétique de disparition du premier ordre représentée à la figure III.8b page suivante. Les constantes apparentes de pseudo-premier ordre sur la cire de maïs et sur la cire de carnauba sont identiques ($k_{app}=3,0\times 10^{-5} \text{ s}^{-1} \pm 19\%$). La valeur de la constante apparente sur la cire de paraffine est plus faible : $k_{app}=2,4\times 10^{-5} \text{ s}^{-1} \pm 17\%$. Un test statistique permettant de comparer les constantes apparentes de photolyse de la mésotrione sur la cire de maïs et sur la cire de paraffine a permis de montrer qu'elles sont significativement différentes au seuil de 5%.

Nous avons cherché l'explication d'un ralentissement de la photolyse de la mésotrione sorbée sur la cire de paraffine dans la chimie du support. Dolinova *et al.* [26] a montré que les alcanes saturés de la cire de paraffine peuvent être des sources d'atomes H dans les réactions de phototransformation.



(a) Pourcentage de mésotrione restant à la surface du film de cire en fonction du temps d'irradiation



(b) Evolution du logarithme du rapport C_t/C_0 pour la mésotrione en fonction du temps d'irradiation

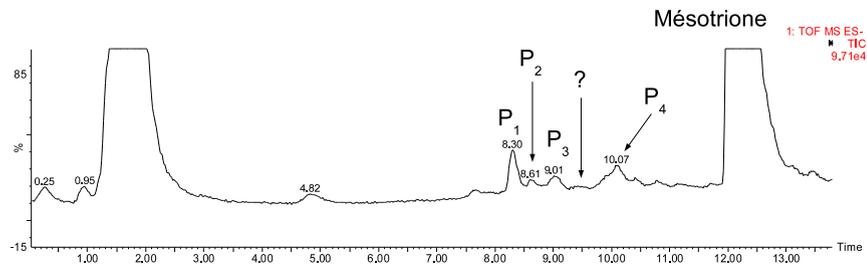
Figure III.8: Influence de la nature de la cire sur la cinétique de disparition de la mésotrione pure ($C_{\text{mésotrione}}=1750$ g/ha) sous irradiation en Suntest à 765 W/m²

D'après le mécanisme de la photolyse de la mésotrione en solution, une molécule donneur H peut avoir un effet inhibiteur sur la transformation de la mésotrione en réagissant avec son état triplet [85]. Si l'on suppose que la phototransformation de la mésotrione sur les films de cire passe aussi par son état triplet, l'effet donneur H de la cire de paraffine pourrait expliquer la vitesse de photolyse moins importante sur cette cire.

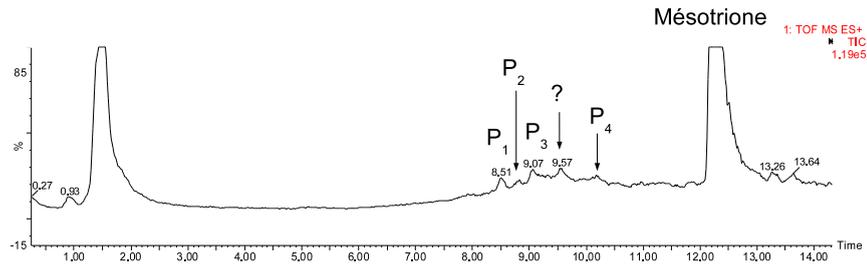
Les courbes de disparition de la mésotrione pure sur les trois films de cire montrent que la vitesse de phototransformation n'est que faiblement influencée par la chimie du support. En effet, la constante apparente de réaction est multipliée par un facteur 1,3 lorsque l'on passe de la cire de paraffine à la cire de maïs.

C. Etude analytique

Nous avons effectué des analyses par HPLC couplée à un spectromètre de masse sur un échantillon de mésotrione pure irradiée sur la cire de carnauba en Suntest. Les spectres de masse en modes positif et négatif nous ont permis de proposer une structure pour quatre des photoproduits.



(a) Mode positif



(b) Mode négatif

Figure III.9: Spectres de masse de la mésotrione irradiée deux heures en Suntest à 765 W/m^2 sur un film de cire de carnauba

La figure III.9 présente les TIC (total ion chromatogram) de la mésotrione et de ses photoproduits resolubilisés après irradiation en Suntest à 765 W/m^2 sur un film de cire de carnauba. A chaque pic de la figure III.9 correspond un spectre de masse. Sur ces spectres, qui peuvent s'étendre de 100 à 1000 Da, le rapport m/z des ions fragments est mesuré. L'intensité de chaque pic est proportionnelle à la quantité de l'ion fragment mesuré.

	Mode positif		Mode négatif	
	t_R (min)	m/z	t_R (min)	m/z
Méso	12,10	340 ; 328	12,70	338 ; 291 ; <i>239</i>
P1	8,51	216 ; 198	8,30	214 ; 170 ; <i>121</i>
P2	8,82	308	8,61	306 ; <i>247</i> ; <i>214</i>
P3	9,07	331 ; 315 ; 293	9,01	
P4	10,20	380 ; 358 ; 340 ; <i>294</i> ; <i>226</i>	10,07	378 ; 356 ; <i>354</i> ; <i>307</i>

Tableau III.1: Temps de rétention et fragments des différents photoproduits de la mésotrione irradiée en Suntest à 765 W/m^2 sur la cire de carnauba

Le tableau III.2 présente les temps de rétention et les rapports m/z des fragments qui apparaissent sur le spectre de masse de chacun des photoproduits. Les fragments non identifiés ont été écrits en italique dans le tableau. La structure des quatre photoproduits identifiés ainsi que leur spectre de masse sont détaillés dans les paragraphes qui suivent.

Les photoproduits P1, P2 et P4 ont été identifiés grâce à la comparaison des spectres de masse obtenus en mode positif et négatif, qui présentent systématiquement les pics correspondant aux ions $[P+H]^+$ et $[P-H]^-$. Quant au photoproduit P3, nous connaissions son spectre de masse puisque c'est une molécule qui a été isolée et caractérisée au laboratoire par Ter Halle et al.[43].

La mésotrione

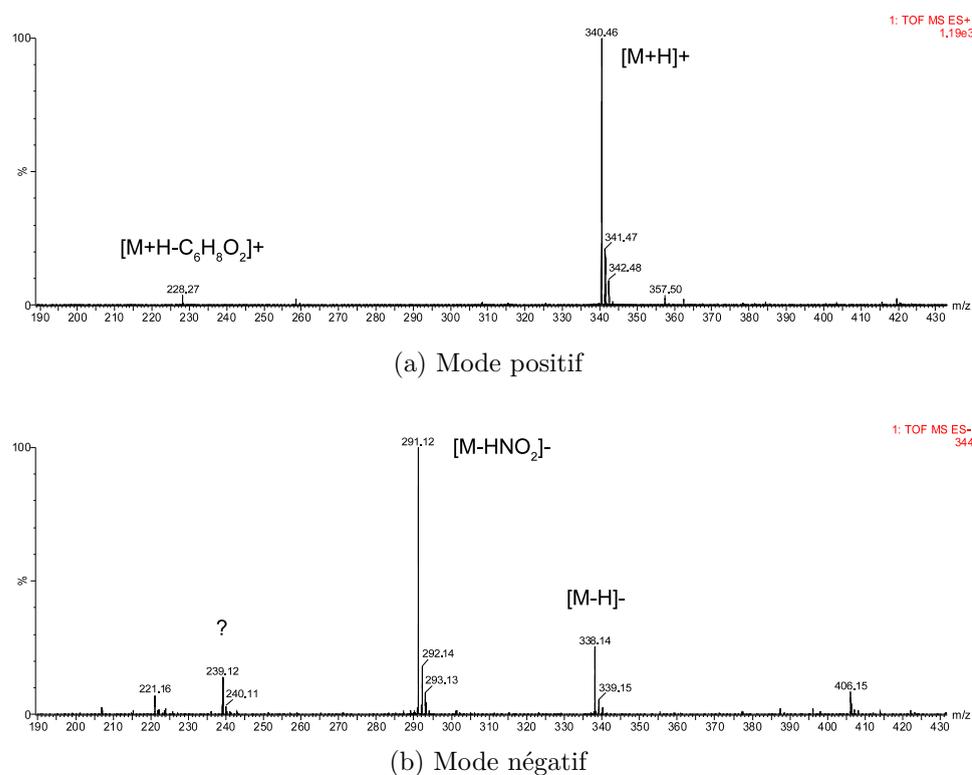
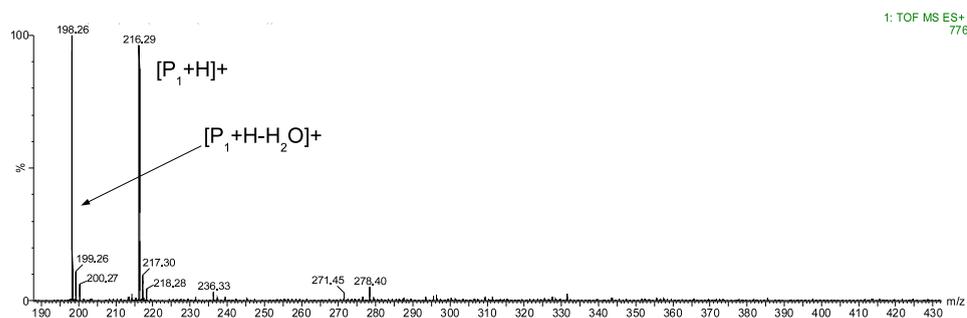


Figure III.10: Spectre de masse de la mésotrione

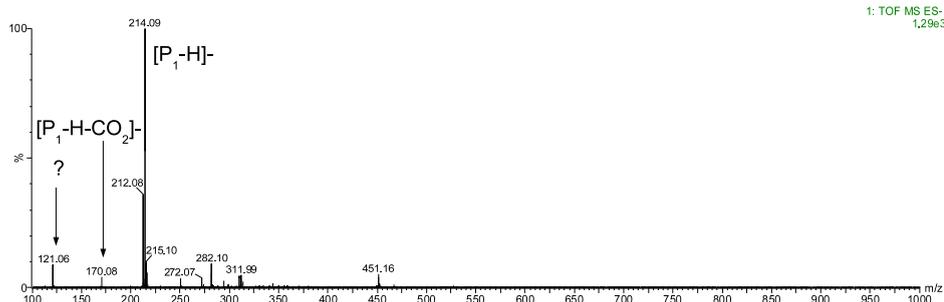
La figure III.10a présente le spectre de masse de la mésotrione en mode positif. Le pic de base correspond à l'ion moléculaire ($m/z=340$). Le pic à $m/z=228$ correspond à la fragmentation de la mésotrione par perte de la cyclohexanedione.

La figure III.10b montre le spectre de masse de la mésotrione en mode négatif. Le pic de l'ion moléculaire apparent à $m/z=338$. Le pic de base ($m/z=291$), quant à lui, correspond à la perte du groupement HNO_2 résultant de la cyclisation intramoléculaire de la mésotrione. Ce processus a aussi été observé par Durand et al. [83]. Le fragment ionique correspondant à $m/z=239$ n'a pas été identifié.

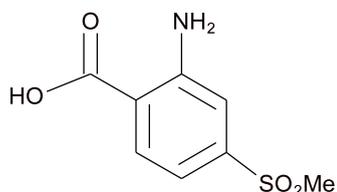
Photoproduit 1 : l'AMBA



(a) Mode positif



(b) Mode négatif



(c) Structure chimique de l'AMBA

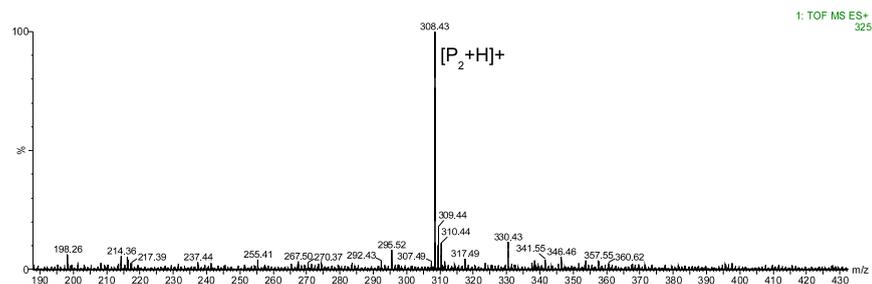
Figure III.11: Spectres de masse et structure chimique du photoproduit 1 de la mésotrione irradiée deux heures en Suntest à 765 W/m^2 sur un film de cire de carnauba

Les figures III.11a et III.11b présentent le spectre de masse du premier photoproduit. Les ions moléculaires $[P_1+H]^+$ ($m/z=216$) et $[P_1+H]^-$ ($m/z=214$) permettent d'établir le poids moléculaire de la molécule mère ($M=215 \text{ Da}$). Le pic de base pour le spectre de masse en mode positif ($m/z=198$) correspond à la perte d'une molécule d'eau. La fragmentation en mode négatif donne naissance au pic à $m/z=170$, correspondant à la perte du groupement acide. C'est une fragmentation couramment observée pour les acides carboxyliques. Je n'ai pas réussi à attribuer le fragment correspondant à $m/z=121$.

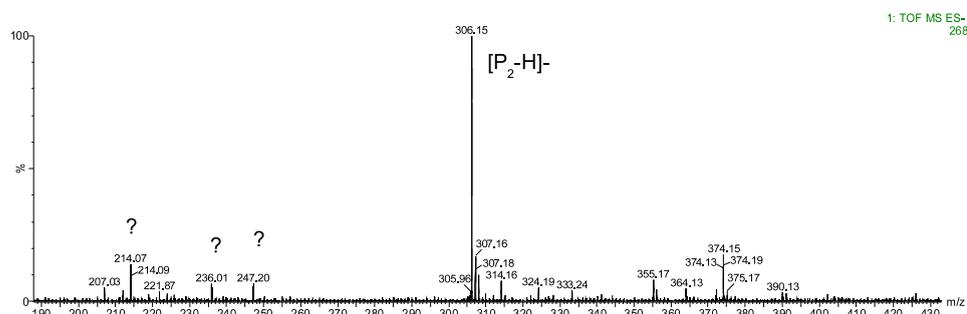
La structure proposée à partir de cette analyse est l'AMBA de formule brute $C_8H_9NO_4S$ (figure III.11c). Elle a été confirmée par la recherche de la masse exacte. La valeur mesurée est de $216,0300 \pm 0,0031$ Da. Sa formation à partir de la mésotrione passe par la réduction du groupement nitro et la perte du cyclohexanedione (figure III.15 page 80).

L'AMBA est cité à plusieurs reprises dans la littérature. Il a été identifié comme métabolite de la mésotrione chez le rat et la souris [88] et pour la souche bactérienne *Bacillus* sp. 3B6 isolée par Durand *et al.* [83]. Il a aussi été détecté dans les sols et le maïs des cultures traitées par la mésotrione [89]. Les fragments que nous avons décrits ($m/z=214$ et 170 en mode négatif et $m/z=216$ en mode positif) ont aussi été observés par Durand *et al.* A notre connaissance, l'AMBA n'a jamais été décrit comme un photoproduit de la mésotrione. Ter Halle *et al.* [43] ne l'ont pas détecté lors de l'étude de la phototransformation de la mésotrione en solution aqueuse.

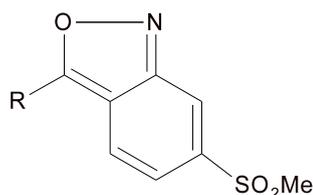
Photoproduit 2 : l'isoxazole



(a) Mode positif



(b) Mode négatif



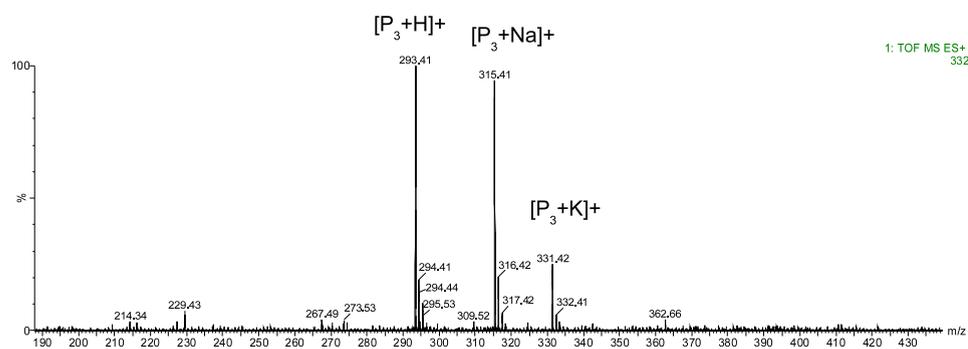
(c) Structure chimique de l'isoxazole

Figure III.12: Spectres de masse du photoproduit 2 de la mésotrione irradiée deux heures en Suntest à 765 W/m^2 sur un film de cire de carnauba

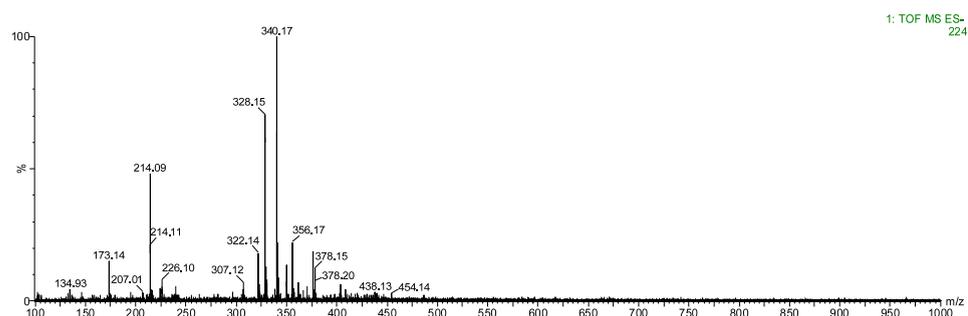
Les spectres de masse de la figure III.12 ne font apparaître que les fragments correspondant aux ions moléculaires : $m/z=308$ et $m/z=306$. Les autres fragments dont les signaux sont peu intenses n'ont pas pu être identifiés. La structure de l'isoxazole a été confirmée par la recherche de la masse exacte dont la valeur mesurée est de $308,0595 \pm 0,0002 \text{ Da}$.

Les travaux de Durand *et al.* [83] ont montré la formation de l'isoxazole-3-ol au cours de la métabolisation de la mésotrione par la souche *Bacillus* sp. 3B6. Dans notre cas la phototransformation de la mésotrione en isoxazole peut s'expliquer par trois étapes successives. La première étape est la réduction du groupe nitro en hydroxylamine (voir figure III.15 page 80). La formation de l'hydroxylamine par photoréduction du groupement nitro en nitroso sur les cuticules a été décrite par Rung *et al.* [90] pour le parathion appliqué sur la cuticule de la pomme. La seconde étape correspond à la formation de l'isoxazole-3-ol. La troisième étape est une déshydratation conduisant à l'isoxazole (voir figure III.15 page 80). La formation de ce produit à partir de la mésotrione est surprenante car elle conduit à une perte d'aromaticité correspondant à une perte de stabilité. C'est certainement pour cette raison que l'intensité du signal sur le TIC (figures III.9a et III.9b page 69) est faible.

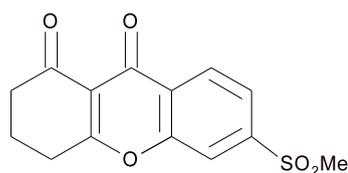
Photoproduit 3 : le xanthène



(a) Mode positif



(b) Mode négatif



(c) Structure chimique du xanthène

Figure III.13: Spectres de masse du photoproduit 3 de la mésotrione irradiée deux heures en Suntest à 765 W/m^2 sur un film de cire de carnauba

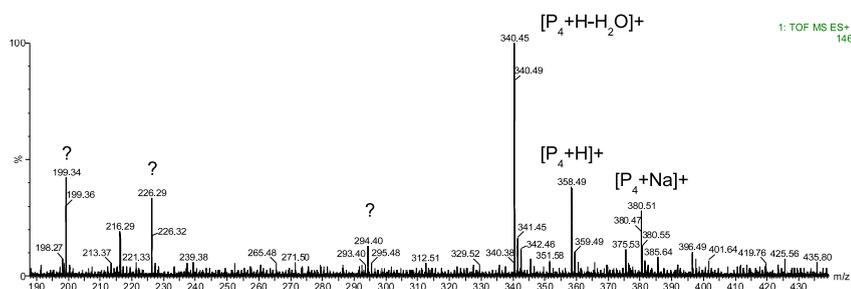
L'ion moléculaire du photoproduit 3 qui apparaît à la figure III.13a a été identifié grâce à la présence de deux adduits, au potassium ($m/z=331$) et au sodium ($m/z=315$). Aucun pic identifiable n'apparaît en mode négatif (figure III.13b). Cependant, le temps de rétention du pic chromatographique et le fragment à $m/z=293$ (en mode positif) correspondent aux données de Ter Halle *et al.* [43], qui avaient isolé et caractérisé le xanthène formé au cours de la phototransformation de la sulcotrione.

La mesure de la masse exacte a permis de confirmer les conclusions tirées de l'interprétation

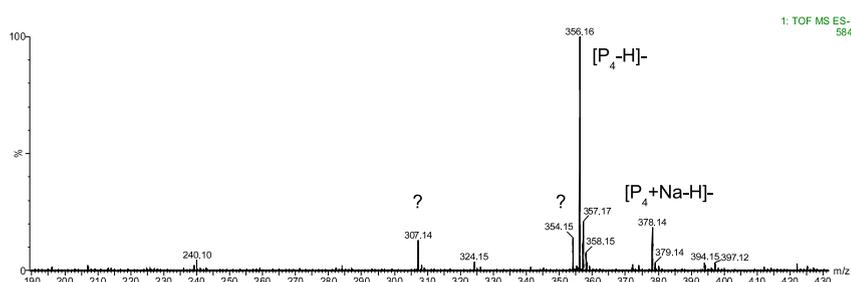
du spectre de masse de la molécule en mode positif. La valeur mesurée est de $293,0439 \pm 0,0045$ Da.

Le xanthène a été décrit dans la littérature comme un photoproduit de la sulcotrione dans l'eau et sur la cire de maïs. En revanche, il n'a jamais été décrit comme un photoproduit de la mésotrione. Le xanthène est formé par une substitution nucléophile intramoléculaire conduisant à la cyclisation de la molécule. La différence de réactivité entre les deux tricétones s'explique par la nature du groupe nucléofuge (voir la structure chimique des deux tricétones figure III.1 page 55). Le groupement chlore est en effet un meilleur nucléofuge que le groupement nitro dans les réactions de substitution nucléophile. Ceci explique la formation préférentielle du xanthène à partir de la sulcotrione.

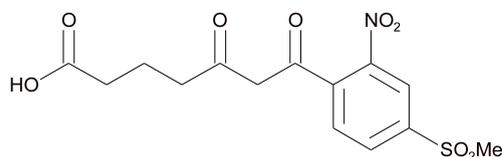
Photoproduit 4 : l'acide heptanoïque



(a) Mode positif



(b) Mode négatif



(c) Structure chimique de l'acide heptanoïque

Figure III.14: Spectres de masse du photoproduit 4 de la mésotrione irradiée deux heures en Suntest à 765 W/m^2 sur un film de cire de carnauba

Les ions moléculaires $[P_4 + H]^+$ ($m/z=358$ sur la figure III.14a) et $[P_4 - H]^-$ ($m/z=356$ sur la figure III.14b) permettent d'établir la masse molaire de la molécule mère à 357 Da. Sur la figure III.14a représentant le spectre de masse en mode positif, le pic à $m/z=380$ correspond à l'adduit au sodium alors que le pic à $m/z=340$ correspond à la perte d'une molécule d'eau. Je n'ai pas réussi à attribuer les pics de valeurs 199, 226 et 294.

Sur la figure III.14b qui présente le spectre de masse en mode négatif, le pic de base correspond à l'ion moléculaire ($m/z=356$). Le pic à $m/z=378$ correspond à l'adduit au sodium. Les autres pics à 354 et 307 n'ont pas été identifiés.

La structure proposée a été confirmée par la mesure de la masse exacte ($358,0604 \pm 0,0007$ Da).

L'acide heptanoïque avait déjà été identifié comme un photoproduit de la mésotrione dans l'eau par Ter Halle *et al.* [85].

Composé	Masse mesurée (Da)	Masse calculée (Da)	Erreur (mDa)	Ion moléculaire
Mésotrione	340,0493	340,0491	0,2	$C_{14}H_{14}NO_7S^+$
Acide heptanoïque	358,0604	358,0597	0,7	$C_{14}H_{16}NO_8S^+$
Xanthène	293,0439	293,0484	-4,5	$C_{14}H_{14}O_5S^+$
Isoxazole	308,0595	308,0593	0,2	$C_{14}H_{14}NO_5S^+$
AMBA	216,0300	216,0331	-3,1	$C_8H_{10}NO_4S^+$

Tableau III.2: Tableau récapitulatif des mesures de masses exactes pour les photoproduits de la mésotrione irradiée en Suntest à 765 W/m^2 sur la cire de carnauba

Le tableau III.2 résume les masses exactes des photoproduits identifiés, l'erreur par rapport à la masse calculée et la formule brute de l'ion moléculaire.

Mécanisme de phototransformation

La figure III.15 page suivante montre le mécanisme de phototransformation que nous proposons pour la phototransformation de la mésotrione sur les cires. Trois types de réactions sont envisagées :

- une réaction de photoréduction qui conduit à la formation de l'isoxazole P2 ;
- une réaction de substitution nucléophile intramoléculaire, à l'origine de la formation du xanthène P3 ;
- deux mécanismes de photohydrolyse qui donnent naissance à l'AMBA P1 et à l'acide heptanoïque P4.

Nous ne nous attendions pas à observer des réactions de photohydrolyse puisque la mésotrione est sorbée à sec sur les films de carnauba au moment de l'irradiation. L'humidité relative de l'air ou la présence de molécules d'eau autour du cristal de mésotrione pourraient expliquer ces réactions.

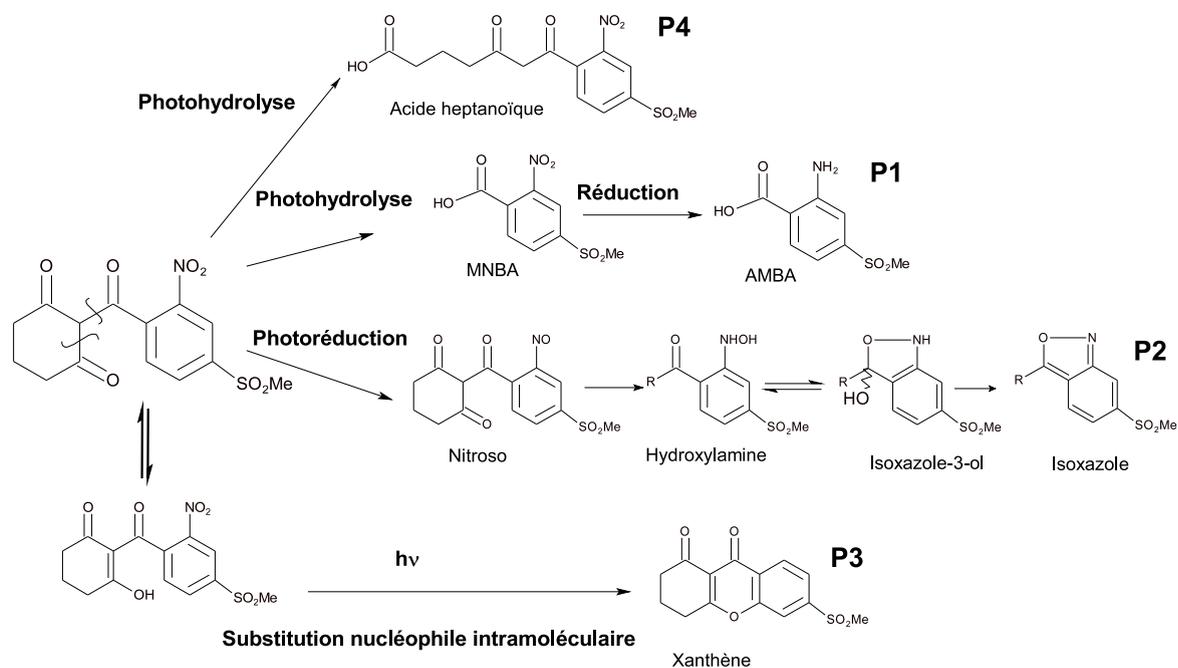


Figure III.15: Photoproduits de la mésotrione identifiés par HPLC-MS

Finalement, le mécanisme proposé ici est différent du mécanisme en solution de Ter Halle *et al.* [85] puisque trois des photoproduits primaires identifiés sur cires n'ont pas été détectés en solution : le xanthène, l'isoxazole et l'AMBA. **Les cires sont donc le siège de réactions de réduction, de substitution nucléophile intramoléculaire et d'hydrolyse alors qu'en solution, seules les réactions d'hydrolyse de la mésotrione ont été observées.**

3.3 Formulation commerciale de la mésotrione

A. Comparaison avec la mésotrione pure sur les films de cire de maïs

Pour les applications agricoles, les herbicides sont formulés afin d'améliorer l'efficacité et la sélectivité de la matière active. Ces mélanges complexes sont protégés par des brevets et leur composition est inconnue du grand public. Afin de se rapprocher des conditions réelles à la surface des feuilles pulvérisées, il nous a semblé important d'évaluer l'effet des additifs de la formulation commerciale sur la photochimie de la mésotrione. Pour cela, nous avons comparé la photolyse de la mésotrione pure et de Callisto (formulation commerciale à 100 g/l en principe actif) sur les films de cire de maïs. Les expériences ont été effectuées avec une quantité de 1750 g/ha en mésotrione.

Des échantillons conservés à l'obscurité ont permis d'évaluer les pertes de Callisto par les phénomènes de dissipation compétitifs de la phototransformation. Comme dans le cas de la mésotrione, les pertes à l'obscurité sont négligeables et le pourcentage de récupération est de $97\% \pm 5\%$ à la surface du film de cire de maïs. La mésotrione dans Callisto ne se volatilise pas et ne diffuse pas dans le film. Nous avons été surpris par ce résultat car Callisto est formulé pour favoriser la pénétration du principe actif dans la cuticule des plantes. Il est possible que la quantité de mésotrione nécessaire pour éradiquer les *adventices* soit suffisamment faible pour que les pertes par diffusion dans le film de cire ne soit pas détectables par HPLC.

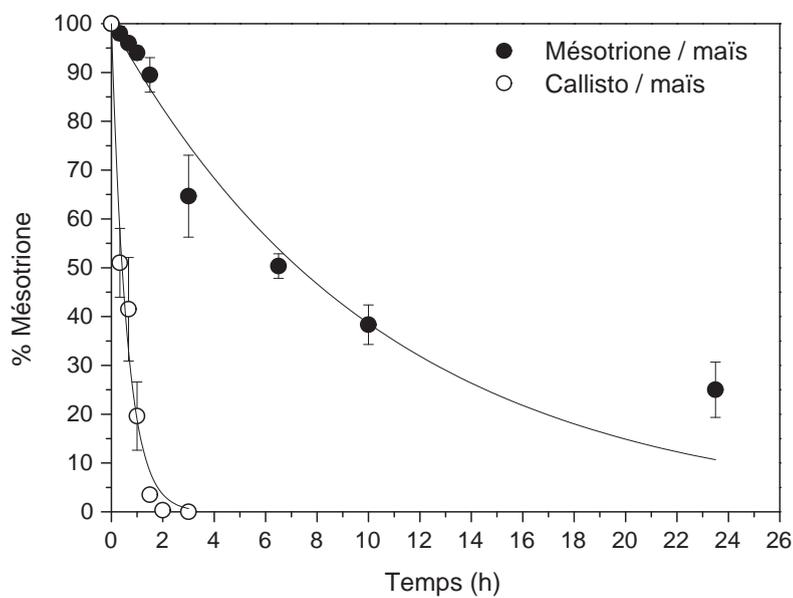
La figure III.16a page suivante présente le suivi du pourcentage de mésotrione restant à la surface de la cire de maïs au cours de l'irradiation en Suntest à 765 W/m^2 . La moitié de la mésotrione pure a disparu après 7 heures d'irradiation. En revanche, il suffit de 30 minutes pour phototransformer la moitié de Callisto.

La figure III.16b page suivante montre que les cinétiques de photolyse sont du pseudo-premier ordre sur les premiers points expérimentaux : jusqu'à 1 heure pour Callisto et jusqu'à 7 heures pour la mésotrione. La constante de vitesse apparente calculée à partir de ces données a une valeur de $k_{\text{app}}=4,6 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1} \pm 40\%$ pour Callisto et de $k_{\text{app}}=3,0 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1} \pm 19\%$ pour la mésotrione pure.

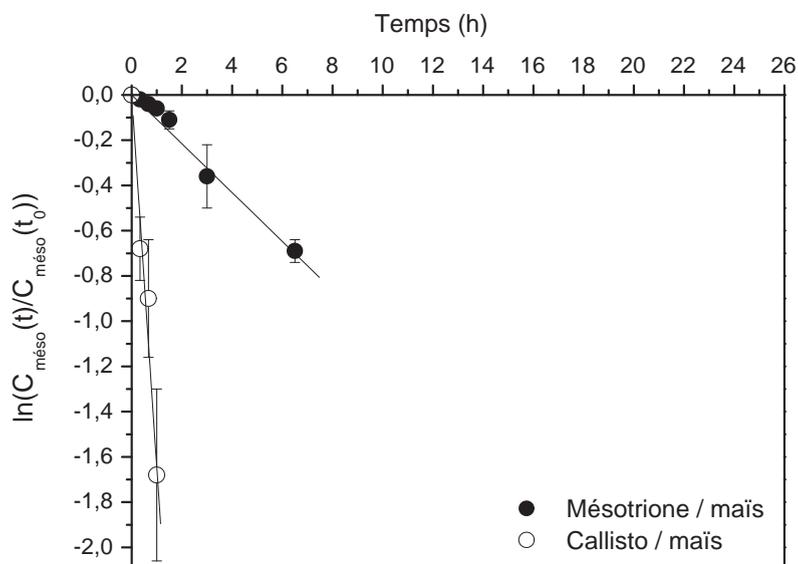
La photolyse de la mésotrione dans Callisto sur la cire de maïs est donc plus rapide que la photolyse de la mésotrione pure. La constante de vitesse apparente de phototransformation de la mésotrione est multipliée par un facteur 15 en présence des additifs de la formulation commerciale.

Plusieurs hypothèses permettraient d'expliquer l'accélération :

1. La mésotrione est un très bon complexant, notamment des ions cuivre et zinc [81]. La présence d'ions dans la formulation commerciale pourrait modifier la photochimie de la mésotrione. L'effet accélérateur de la complexation sur la phototransformation en solution a déjà été observé pour les amides carboxyliques par exemple [91]. Une analyse élémentaire nous a permis de déterminer la quantité d'ions métalliques dans Callisto. La quantité de cuivre était inférieure à 0,1% de la quantité totale en mésotrione. Une part aussi faible de mésotrione complexée rend peu probable cette explication ;
2. La seconde hypothèse est l'effet photosensibilisateur des additifs présents dans Callisto. Cette phototransformation induite s'ajouterait à la photolyse directe observée dans le cas de la mésotrione pure. Or, les spectres d'absorption de la mésotrione et de Callisto présentent le même profil d'absorption (voir figure III.6 page 63). Entre 290 et 450 nm, l'absorption de Callisto est faible mais un peu plus importante que l'absorption de la mésotrione. Dans le film de kaolin, la diffusion est trop importante pour pouvoir mettre



(a) Pourcentage de mésotrione restant à la surface du film de cire en fonction du temps d'irradiation



(b) Evolution du logarithme du rapport C_t/C_0 pour la mésotrione en fonction du temps d'irradiation

Figure III.16: Suivi de la disparition de la mésotrione pure et dans Callisto ($C_{\text{mésotrione}}=1750$ g/ha) sur un film de cire de maïs; irradiation en Suntest à 765 W/m²

en évidence une différence d'absorption. Nous ne pouvons donc pas éliminer l'hypothèse d'une photoinduction par les additifs de la formulation, même si ils n'absorbent que faiblement la lumière dans le domaine du spectre solaire. Cependant, ce n'est vraisemblablement pas le seul facteur ;

3. La troisième hypothèse est l'étalement du principe actif à la surface du film. Certains additifs de la formulation commerciale ont pour fonction d'améliorer l'étalement de la solution herbicide à la surface de la plante cible. Après évaporation du solvant, les échantillons préparés à partir de la mésotrione pure et de Callisto sont différents. Dans le cas de la mésotrione pure, les cristaux sont agrégés à la surface et ne couvrent qu'une petite partie du film. Dans le cas de Callisto, les additifs non volatils sont présents à la surface du film avec la molécule pure et la surface couverte par le dépôt est plus importante. Nous avons effectué des mesures d'angle de contact sur des films de cire de maïs grâce à un goniomètre. Les mesures ont donné une valeur de 120° pour la solution de mésotrione pure et 0° pour la formulation qui s'étale très rapidement à la surface du film de cire. Ces valeurs permettent de conclure que l'étalement de la solution est meilleur en présence d'additifs. L'étalement de Callisto favoriserait donc l'interaction mésotrione-lumière et expliquerait l'augmentation de la vitesse de phototransformation.

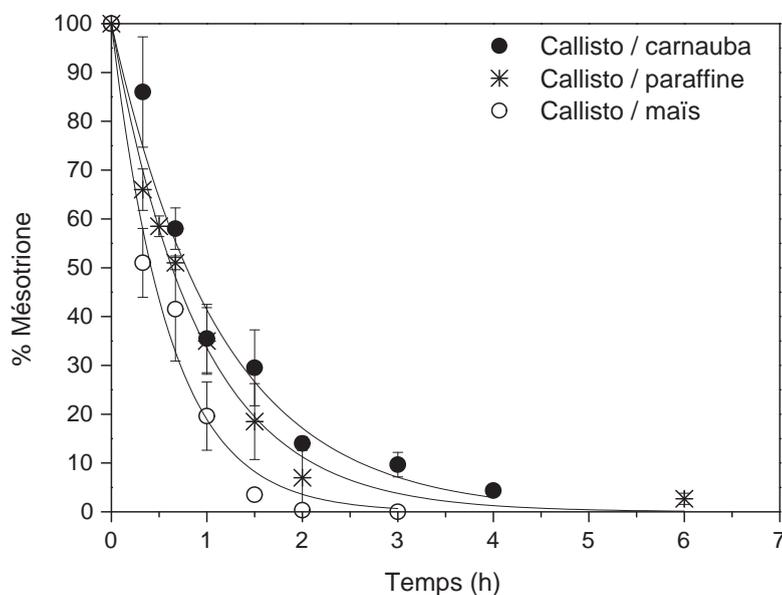
B. Influence de la nature de la cire

L'influence de la nature de la cire sur la photolyse de Callisto a été étudiée en comparant les cires de maïs, de carnauba et de paraffine. Les manipulations ont été réalisées avec une quantité de mésotrione par unité de surface traitée de 1750 grammes par hectare.

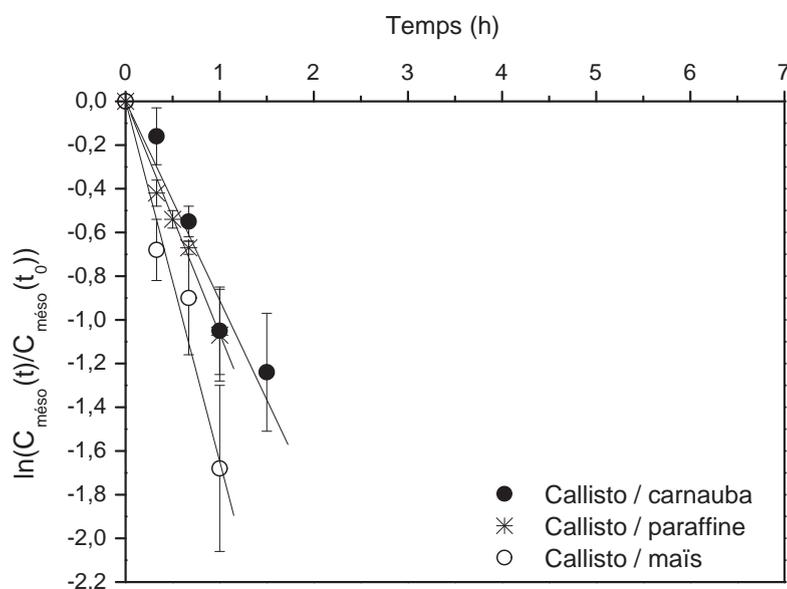
La figure III.17a page suivante fait apparaître l'évolution du pourcentage de Callisto restant à la surface du film au cours de l'irradiation en Suntest à 765 W/m^2 . Sur les films de cire de maïs, la mésotrione formulée disparaît complètement après 3 heures d'irradiation alors qu'il reste de la mésotrione formulée à la surface des films de carnauba et de paraffine après 6 heures d'irradiation.

Sur la figure III.17b page suivante, la distribution des points expérimentaux en $\ln(C_t/C_0)$ en fonction du temps montre que la cinétique de phototransformation de la mésotrione dans Callisto est d'ordre 1 apparent pendant les deux premières heures de l'expérimentation. Les constantes de vitesse et les durées de demi-vie calculées à partir de l'ajustement mathématique ont les valeurs suivantes :

- sur la cire de maïs : $k_{\text{app}}=4,6 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1} \pm 40\%$ et $t_{1/2}=30 \text{ min}$;
- sur la cire de paraffine : $k_{\text{app}}=3,0 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1} \pm 25\%$ et $t_{1/2}=40 \text{ min}$;
- sur la cire de carnauba : $k_{\text{app}}=2,5 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1} \pm 34\%$ et $t_{1/2}=50 \text{ min}$.



(a) Pourcentage de mésotrione dans Callisto restant à la surface du film de cire en fonction du temps d'irradiation



(b) Evolution du logarithme du rapport C_t/C_0 pour la mésotrione dans Callisto en fonction du temps d'irradiation

Figure III.17: Influence de la nature de la cire sur la disparition de la mésotrione dans Callisto ($C_{\text{mésotrione}}=1750 \text{ g/ha}$) sous irradiation en Sunttest à 765 W/m^2

Un test d'hypothèse a permis de conclure que les constantes de vitesse sont significativement différentes deux à deux au seuil de 5%.

La phototransformation de la mésotrione formulée est un peu plus rapide sur la cire de maïs que sur les cires de carnauba et de paraffine. Le rapport des constantes de vitesse est de l'ordre de 1,7.

Deux hypothèses permettraient d'expliquer cette petite augmentation de la vitesse de transformation de la mésotrione dans Callisto sur les films de cire de maïs. D'une part, le relief des films et, d'autre part, l'influence de l'oxygène singulet.

Nous avons vu précédemment que l'étalement est un paramètre important influençant la vitesse de phototransformation de la mésotrione. Or, sa répartition à la surface des cires est conditionnée par le relief du film. La surface des cires de paraffine et de carnauba a une apparence plus lisse que celle des films de cire de maïs. La répartition du principe actif n'est vraisemblablement pas la même, conduisant à une vitesse de phototransformation différente sur le maïs et sur les cires commerciales.

D'autre part, le mécanisme de phototransformation de la mésotrione en solution aqueuse a permis de mettre en évidence l'implication de l'oxygène singulet dans la phototransformation de la mésotrione. Or, le procédé d'extraction de la cuticule du maïs conduit à une solubilisation partielle de la chlorophylle et des métabolites de la plante qui se retrouvent dans le film reconstitué (voir le spectre d'absorption à la page 32). Sous irradiation, la chlorophylle-a sensibilise la production d'oxygène singulet [92]. D'autre part, certains métabolites peuvent également produire de l'oxygène singulet, avec des rendements quantiques allant de 1 jusqu'à 100% [93]. La durée de vie de cette espèce réactive est limitée à 30 μ s [94] en solution ce qui limite sa réactivité. Lorsque Callisto est sorbée sur les films de cire, elle est en contact avec l'air. Or, la durée de demi-vie de l'oxygène singulet varie de 54 à 85 ms dans l'air à 298 K et 1 bar [94] ce qui favoriserait la photooxydation sur les films de cire. Cette hypothèse a été testée par des études avec le Rose de bengale.

Cette série d'expériences sur les cires montre que la phototransformation est le seul phénomène de dissipation au laboratoire. Nous évaluerons par la suite si la photochimie reste prépondérante lorsque l'on passe à des systèmes plus complexes : feuilles coupées et plantes en pot, en conditions contrôlées au laboratoire. Enfin, nous verrons l'influence des paramètres climatiques non contrôlés (vent, humidité, rosée) sur les manipulations en extérieur.

C. Expériences avec le rose de bengale : rôle de l'oxygène singulet

Pour interagir avec Callisto déposé sur le film de cire de maïs, l'oxygène singulet doit, une fois produit, diffuser à travers la cire. Afin de prouver l'implication de l'oxygène singulet, nous avons utilisé la cire de carnauba, qui ne contient pas de chlorophylle et nous l'avons dopée avec du Rose de bengale (RB). Ce colorant est en effet connu pour photosensibiliser la production d'oxygène singulet sous irradiation.

Tout d'abord, il a fallu déterminer si la mésotrione formulée sorbée à la surface des films était sensible à l'oxygène singulet. Nous avons donc effectué des manipulations de photolyse en présence de Rose de bengale à la surface d'un film de carnauba.

Dans un second temps, il nous a fallu déterminer si l'oxygène singulet avait une durée de vie suffisante pour diffuser à travers la cire. Pour cela, nous avons déposé le Rose de bengale sous le film de cire de carnauba, Callisto étant à sa surface. La quantité de mésotrione dans Callisto a été fixée à 1750 g par hectare et la puissance du Suntest à 550 W/m².

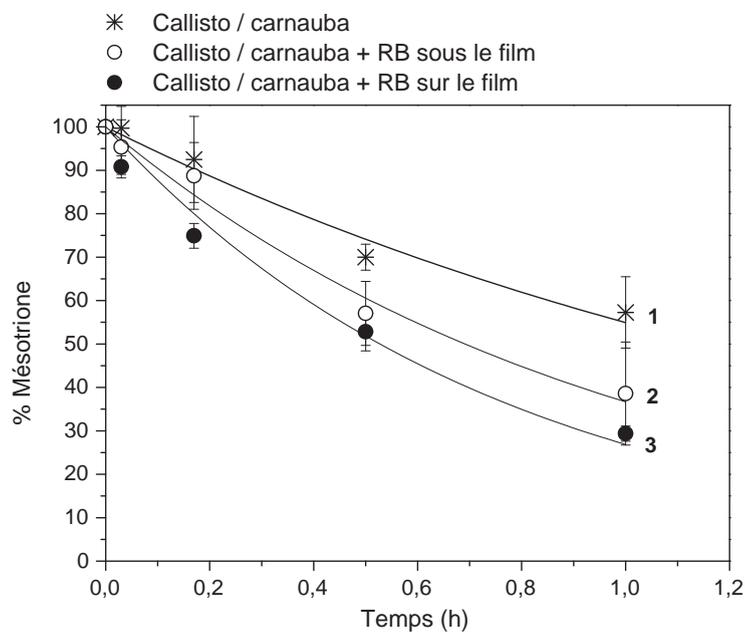
La figure III.18a page suivante présente le suivi du pourcentage de Callisto restant à la surface du film de carnauba au cours de l'irradiation en Suntest à 550 W/m². Après une heure d'expérimentation, 40% de Callisto s'est phototransformé sur le film en l'absence de Rose de bengale. Lorsque le colorant est présent à la surface de la carnauba, 70% de Callisto disparaît en une heure. Le taux de conversion est de 60% lorsque le Rose de bengale était déposé sous le film de carnauba.

La figure III.18b page suivante montre que les trois cinétiques de photolyse sont du pseudo-premier ordre. Les constantes de vitesse apparentes et les durées de demi-vie calculées à partir de ces données sont listées ci-dessous :

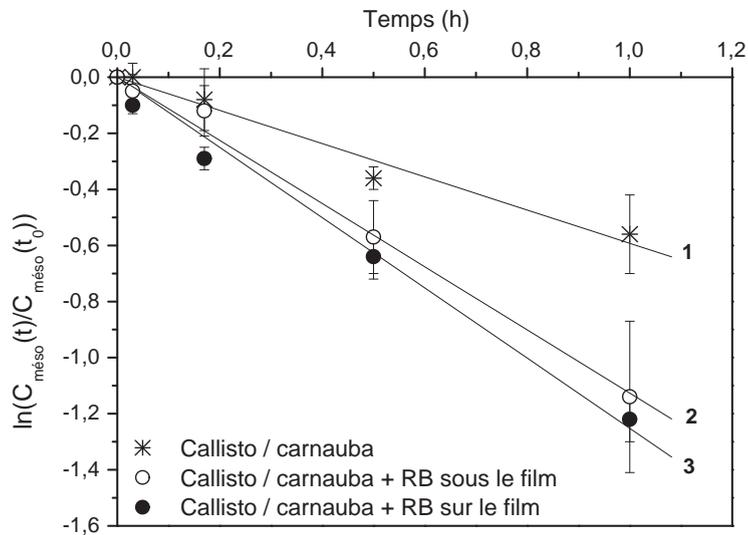
- pour la cire de carnauba : $k_{app}=1,7\times 10^{-4} \text{ s}^{-1} \pm 27\%$ et $t_{1/2}=1$ heure et 10 minutes ;
- lorsque le Rose de bengale est déposé à la surface du film : $k_{app}=3,5\times 10^{-4} \text{ s}^{-1} \pm 10\%$ et $t_{1/2}=30$ minutes ;
- lorsque le Rose de bengale est ajouté sous le film : $k_{app}=2,8\times 10^{-4} \text{ s}^{-1} \pm 27\%$ et $t_{1/2}=40$ minutes.

Les trois constantes de photolyse sont significativement différentes deux à deux au seuil de 5%.

La photolyse de la mésotrione dans Callisto sur la cire de carnauba est photosensibilisée par le Rose de bengale présent à la surface du film (courbes 1 et 3 de la figure III.18 page suivante). La constante de pseudo-premier ordre est alors multipliée par 2. **Ainsi, la mésotrione est sensible à l'oxygène singulet produit par le colorant à la surface du film de cire.**



(a) Pourcentage de mésotrione dans Callisto restant à la surface du film de cire en fonction du temps d'irradiation



(b) Evolution du logarithme du rapport C_t/C_0 pour la mésotrione formulée en fonction du temps d'irradiation

Figure III.18: Influence de l'oxygène singulet sur la cinétique de disparition de la mésotrione dans Callisto ($C_{\text{mésotrione}}=1750$ g/ha) sur la cire de carnauba sous irradiation en Suntest à 550 W/m²

Si l'on compare les courbes 1 et 2 de la figure III.18 page suivante, on peut voir que le Rose de bengale a un effet sur la photolyse de la mésotrione dans Callisto même lorsque le colorant est sous le film de carnauba. La constante de pseudo-premier ordre est dans ce cas multipliée par un facteur 1,7. **L'oxygène singulet produit sous le film migre donc à travers la cire jusqu'à la surface couverte de Callisto. Cette étude montre que la présence de métabolites pourrait expliquer en partie l'accélération de la photolyse de la mésotrione formulée observée sur la cire de maïs. L'oxygène singulet produit lors de l'exposition de la chlorophylle et des métabolites du maïs présents dans les films de cire en Suntest pourrait migrer jusqu'à la surface de la cire et interagir avec Callisto.**

D. Phototransformation sur la feuille de morelle noire

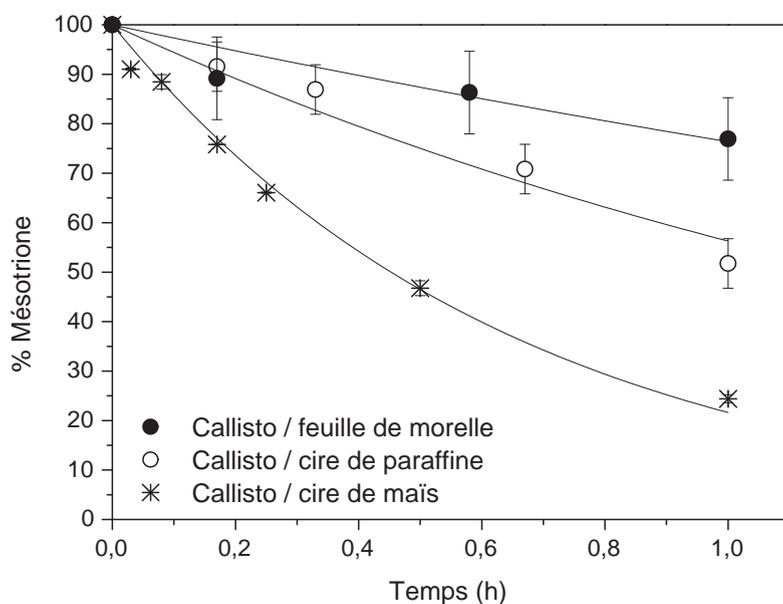
Afin de valider la pertinence des études sur les cires, nous avons étudié la phototransformation de la mésotrione formulée sur des feuilles détachées de morelle noire. Cette étape nous a permis de nous rapprocher des conditions au champ. Pour cette étude, la puissance du Suntest a été réglée à 550 W/m^2 afin d'éviter le dessèchement complet des feuilles détachées pendant l'irradiation. Nous avons réalisé une nouvelle étude sur les films de paraffine et de maïs à cette puissance, pour les comparer aux résultats obtenus sur les feuilles.

Pour l'application de l'herbicide sur les feuilles coupées, j'ai adapté le protocole expérimental. La solution de Callisto a été appliquée sous forme de gouttelettes de $10 \mu\text{l}$. Pour pouvoir comparer la photolyse sur les feuilles et sur les cires, la concentration de la solution a été recalculée pour conserver la même quantité de matière active par unité de surface. La diffusion de Callisto dans les feuilles détachées de morelle noire a été suivie pendant la manipulation à l'obscurité. Elle est négligeable dans les conditions expérimentales choisies.

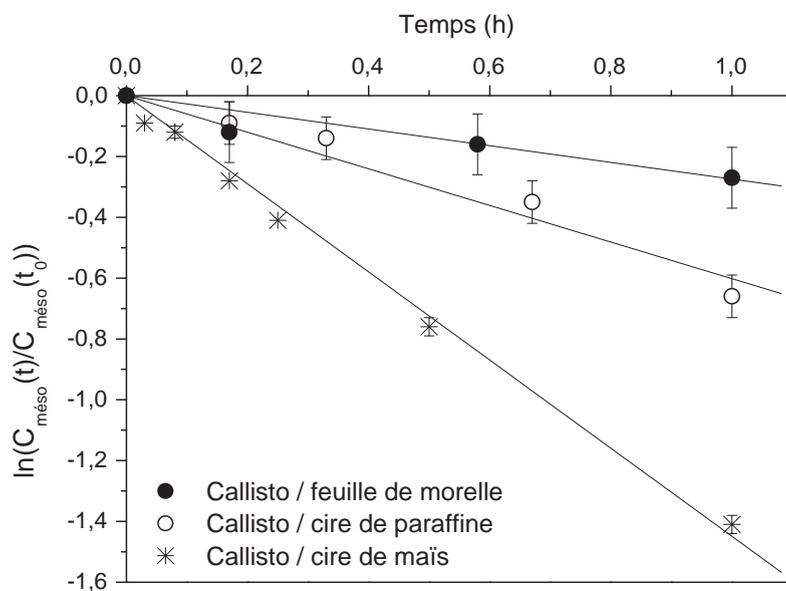
Lorsque la feuille est coupée, la circulation d'eau dans la plante est interrompue, ralentissant la diffusion et le transport de l'herbicide de la surface vers l'intérieur de la feuille. Ceci expliquerait l'absence de pénétration observée sur les feuilles de morelle coupées.

La figure III.19a page suivante permet de comparer l'évolution de la concentration de mésotrione à la surface des cires et sur la feuille au cours de l'irradiation en Suntest à 550 W/m^2 . Après 1 heure, 35% de la quantité de Callisto appliquée a disparu de la surface des feuilles de morelle. Pendant ce même temps, 45% se sont phototransformés sur la cire de paraffine et 75% sur la cire de maïs.

Les droites de la figure III.19b page suivante ont été tracées à partir des données expérimentales reportées en $\ln(C_t/C_0)$ en fonction du temps. La répartition des points montre que



(a) Pourcentage de mésotrione dans Callisto restant à la surface du support en fonction du temps d'irradiation



(b) Evolution du logarithme du rapport C_t/C_0 pour la mésotrione formulée en fonction du temps d'irradiation

Figure III.19: Influence de la nature de la cire sur la cinétique de disparition de la mésotrione dans Callisto ($C_{\text{mésotrione}}=1750$ g/ha) sous irradiation en Suntest à 550 W/m²

les cinétiques de disparition de la mésotrione à la surface des supports sont du premier ordre apparent. Les constantes de photolyse et les durées de demi-vie calculées ont les valeurs suivantes :

- sur la feuille de morelle : $k_{\text{app}}=7,6\times 10^{-5} \text{ s}^{-1} \pm 44\%$ et $t_{1/2}=2$ heures et 30 minutes ;
- sur la cire de paraffine : $k_{\text{app}}=1,7\times 10^{-4} \text{ s}^{-1} \pm 25\%$ et $t_{1/2}=1$ heure ;
- sur la cire de maïs : $k_{\text{app}}=4,0\times 10^{-4} \text{ s}^{-1} \pm 5\%$ et $t_{1/2}=30$ minutes.

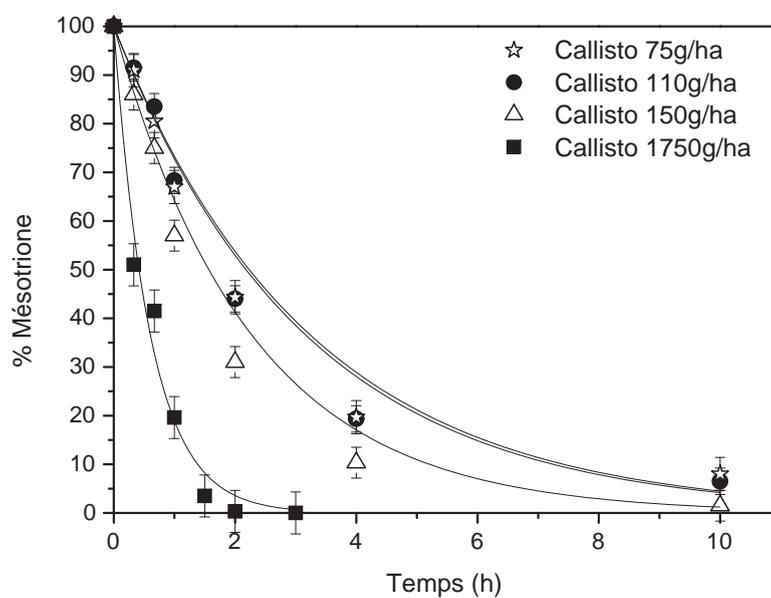
La vitesse de photolyse de la mésotrione formulée à la surface du film de cire de maïs à 550 W/m^2 est plus grande que sur la feuille de morelle noire. En revanche, les vitesses sur la cire de paraffine et sur la feuille de morelle noire sont proches. La petite différence observée pourrait provenir de l'inhomogénéité de la surface de la feuille due à la présence des poils et des nervures. Ce relief influencerait l'étalement de la formulation et expliquerait en partie la différence observée. De plus, les processus métaboliques qui pourraient avoir lieu au sein de la feuille au cours du traitement par Callisto produiraient des molécules diverses qui pourraient interférer avec la phototransformation de l'herbicide en surface.

En conclusion, la vitesse de phototransformation de Callisto sur la feuille de morelle noire est proche de la vitesse observée sur la cire de paraffine. Cette dernière est donc le support qui représente le mieux la surface de la morelle noire. Cette étude sur feuilles a permis de valider les études sur les cires, qui représentent bien la surface des plantes. Une fois encore, comme sur les cires, 100% de la dissipation de la mésotrione formulée sur les feuilles de morelle est dû à la phototransformation.

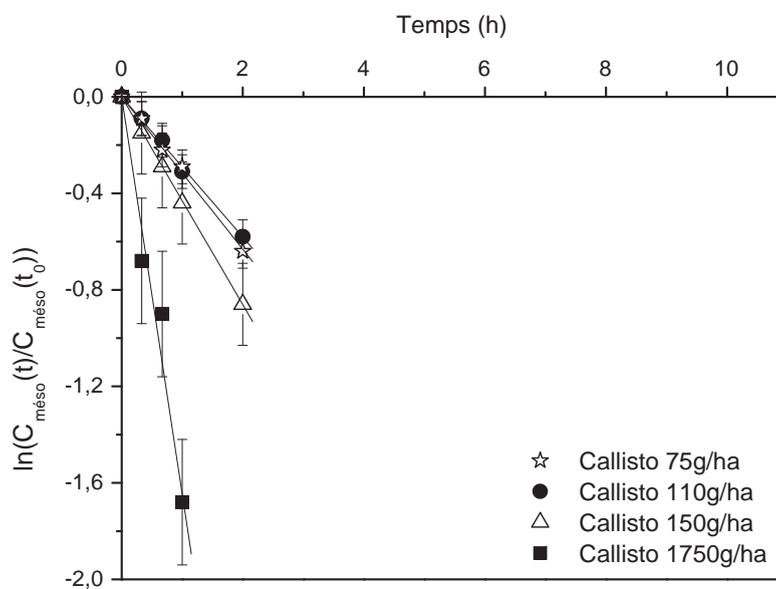
E. Influence de la concentration

La dose de Callisto recommandée pour le traitement en *post-levée* des cultures de maïs varie de 0,75 à 1,5 l/ha (soit de 75 à 150 g de mésotrione par hectare). Afin d'étudier l'effet de la dose sur la vitesse de phototransformation, nous avons effectué des essais sur des films de cire de maïs pour les doses de 75, 110 et 150 g/ha en fixant la puissance du Suntest à 550 W/m^2 . La cinétique présentée précédemment obtenue pour une dose de 1750 g/ha a été ajoutée sur les figures.

La figure III.20a page suivante présente le suivi du pourcentage de mésotrione formulée restant à la surface de la cire de maïs au cours de l'irradiation en Suntest à 550 W/m^2 . Après 2 heures d'irradiation, la quasi-totalité de la mésotrione appliquée à la dose maximale (1750 g/ha) a disparu. Pour une dose de 150 g/ha, 70% s'est phototransformé alors que pour une dose de 75 et 110 g/ha, 2 heures d'exposition entraînent la disparition de 55% de la mésotrione formulée.



(a) Pourcentage de mésotriane dans Callisto restant à la surface du film de cire en fonction du temps d'irradiation



(b) Evolution du logarithme du rapport C_t/C_0 pour la mésotriane formulée en fonction du temps d'irradiation

Figure III.20: Influence de la concentration de Callisto sur la cinétique de disparition de la mésotriane sur la cire de maïs sous irradiation en Sunttest à 550 W/m^2

La figure III.20b page suivante montre que les cinétiques de photolyse sont du pseudo-premier ordre sur les premiers points expérimentaux : jusqu'à 2 heures pour les doses recommandées et 1 heure pour la dose maximale. Les valeurs des constantes de pseudo-premier ordre et des durées de demi-vie sont listées ci-dessous :

- pour une dose de 75 g/ha : $k_{app}=8,8\times 10^{-5} \text{ s}^{-1} \pm 20\%$ et $t_{1/2}=2$ heures et 10 minutes ;
- pour une dose de 110 g/ha : $k_{app}=8,1\times 10^{-5} \text{ s}^{-1} \pm 10\%$ et $t_{1/2}=2$ heures et 20 minutes ;
- pour une dose de 150 g/ha : $k_{app}=1,2\times 10^{-4} \text{ s}^{-1} \pm 7\%$ et $t_{1/2}=1$ heure et 40 minutes ;
- pour une dose de 1750 g/ha : $k_{app}=4,0\times 10^{-4} \text{ s}^{-1} \pm 40\%$ et $t_{1/2}=30$ minutes.

Les constantes de pseudo-premier ordre pour les deux doses les plus faibles (75 et 110 g/ha) ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%. L'augmentation de la quantité de Callisto dans cette gamme de concentration n'entraîne donc pas d'effets sur la vitesse de photolyse de la mésotrione. En revanche, lorsque la concentration de Callisto augmente jusqu'à 150 g/ha, la constante de vitesse est multipliée par un facteur 1,5. Pour une dose de 1750 g/ha, la constante augmente encore d'un facteur 4.

À partir d'une certaine valeur, plus la concentration par unité de surface augmente, plus la phototransformation de la mésotrione formulée est rapide. Pour les concentrations agricoles, la durée de demi-vie de la mésotrione dans Callisto à la surface de la cire de maïs est de 2 heures en moyenne dans les conditions expérimentales.

F. Devenir de Callisto sur les plantes

Afin de valider les expérimentations au laboratoire, nous avons effectué une étude sur des plantes entières. Des maïs, ayant atteint un stade de développement de cinq feuilles, ont été traités avec Callisto ($C_{mésotrione}=110$ g/ha) grâce à une chambre de pulvérisation (voir le protocole expérimental à la page 39). Nous les avons ensuite exposés à la lumière solaire. Dans les conditions agricoles, le traitement par Callisto a généralement lieu au mois de juin. En raison de pluies fréquentes cette année-là, l'étude se déroule à la fin du mois de juillet.

La figure III.21 montre l'évolution de l'intensité lumineuse extérieure au cours de la manipulation, qui a duré trois jours.

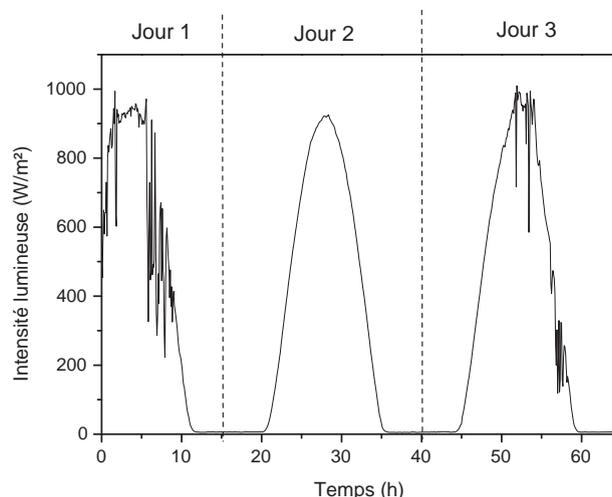


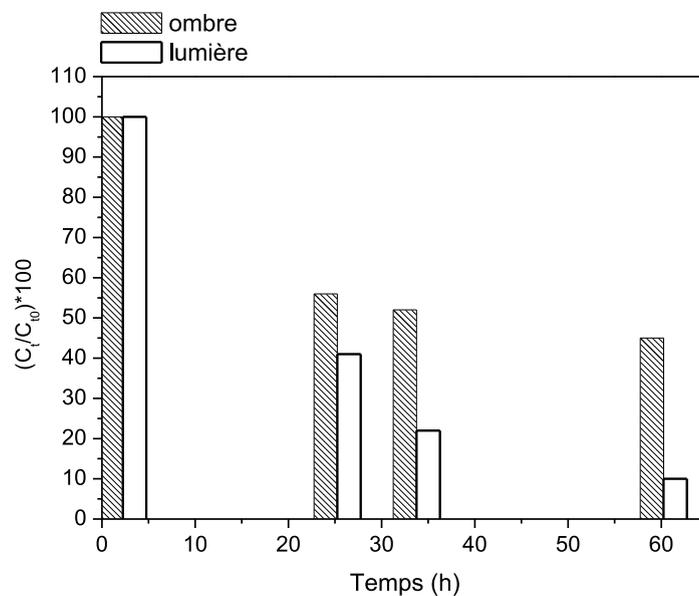
Figure III.21: Suivi de l'intensité lumineuse extérieure au cours de l'expérimentation sur les plantes, campus des Cézeaux du 25 au 27 juillet 2007

La figure III.22a page suivante montre le suivi de la disparition de la mésotrione à la surface des plantes au cours des deux jours de l'expérimentation. Les données correspondant aux plantes conservées à l'obscurité sous une bâche et aux plantes irradiées sont représentées.

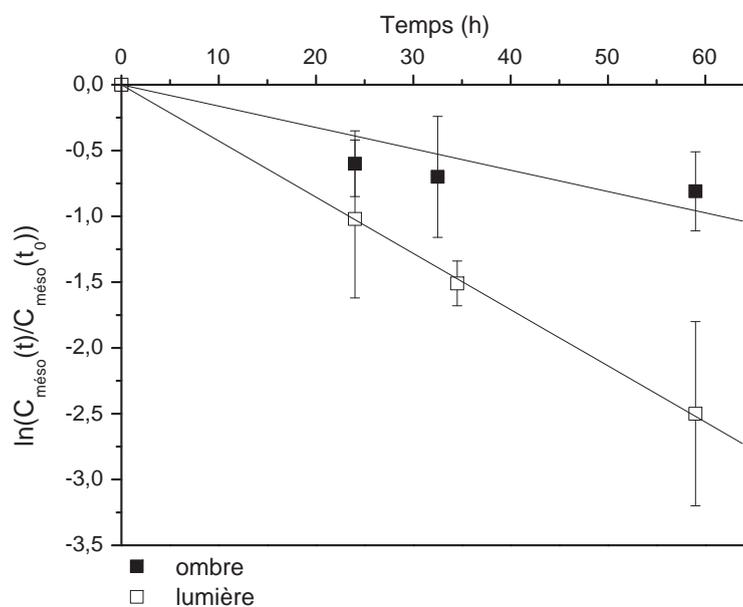
On remarque une diminution de la quantité de Callisto à l'obscurité. La quantité de lumière traversant la bâche étant négligeable, les pertes ne sont donc pas attribuables à de la phototransformation. La mésotrione étant une molécule non volatile, nous pouvons également exclure les pertes par volatilisation. Cette dissipation est donc vraisemblablement due, en partie, à la diffusion du principe actif dans la cuticule du maïs. Cependant, les pertes avoisinent 45% après 24 heures. Or, nous avons vu pour les feuilles coupées, que les pertes par diffusion étaient négligeables ; même si l'on suppose qu'elles sont plus importantes sur le maïs dans les conditions extérieures, il est vraisemblable qu'elle ne puisse pas expliquer totalement les pertes à l'obscurité. Nous pensons qu'une partie des pertes est attribuable au lessivage de la surface des feuilles par la rosée, abondante au cours des trois jours de la manipulation.

Pour les plantes exposées à la lumière solaire, les pertes de Callisto sont de 60% après 24 heures d'expérimentation et atteignent 90%, 60 heures après le début de la manipulation.

La figure III.22b page suivante présente la répartition des points expérimentaux en $\ln(C_t/C_0)$ pour Callisto en fonction du temps. Cette représentation permet de mettre en évidence un ordre 1 apparent pour la dissipation de la mésotrione formulée à l'obscurité et à la lumière.



(a) Suivi de la quantité de mésotrione formulée restante à la surface des feuilles de maïs



(b) Evolution du logarithme du rapport C_t/C_0 pour la mésotrione dans Callisto en fonction du temps d'exposition

Figure III.22: Disparition de Callisto sur le maïs exposé à la lumière solaire, $C_{\text{mésotri}}=110$ g/ha, campus des Cézeaux du 25 au 27 juillet 2007

Les constantes de dissipation et les durées de demi-vie ont les valeurs suivantes :

- à l'ombre : $k_{app}=4,6\times 10^{-6} \text{ s}^{-1} \pm 16\%$ et $t_{1/2}=43$ heures ;
- à la lumière : $k_{app}=1,2\times 10^{-5} \text{ s}^{-1} \pm 16\%$ et $t_{1/2}=16$ heures.

Ces données montrent que les phénomènes de dissipation de Callisto sur les plantes sont le lessivage, la diffusion dans la cuticule et la phototransformation.

La part de la phototransformation a été recalculée à partir des séries de données à l'obscurité et à la lumière. Nous avons émis l'hypothèse que les pertes par resolubilisation de Callisto par la rosée et par diffusion dans la cuticule étaient les mêmes pour les plantes sous la bâche et pour les plantes exposées à la lumière extérieure. La quantité phototransformée correspond donc à la quantité qui disparaît à la lumière à laquelle nous avons soustrait la quantité qui a disparu à l'obscurité.

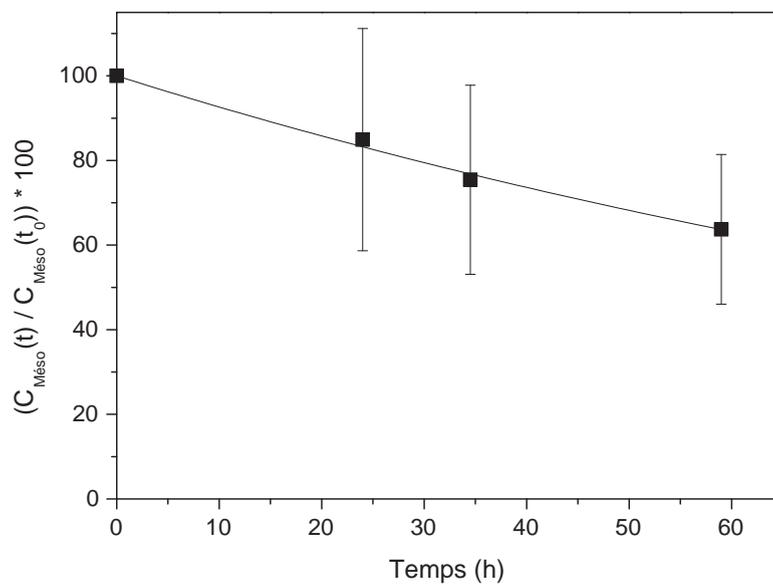
La figure III.23a page suivante montre le suivi de la phototransformation de Callisto à la surface des plantes au cours des 2 jours de l'expérimentation. Les valeurs ont été calculées par différence entre le taux de dissipation à l'ombre et à la lumière. Les pertes par phototransformation atteignent 25% en 35 heures . Alors que sur les films de cire et les feuilles coupées au laboratoire, 100% de la disparition de la mésotrione était attribuable à la phototransformation, d'autres phénomènes de dissipation deviennent majoritaires lorsque les plantes sont exposées aux conditions extérieures.

La répartition des points expérimentaux en $\ln(C_t/C_0)$ en fonction du temps montre que la photolyse de Callisto à la surface des maïs suit une loi cinétique du pseudo-premier ordre. La constante calculée a une valeur de $k_{app}=2,3\times 10^{-6} \text{ s}^{-1} \pm 55\%$. La durée de demi-vie est de 3 jours en conditions extérieures, c'est-à-dire pour une irradiation non continue. La valeur calculée en considérant uniquement les heures les plus lumineuses de la journée est de 33 heures.

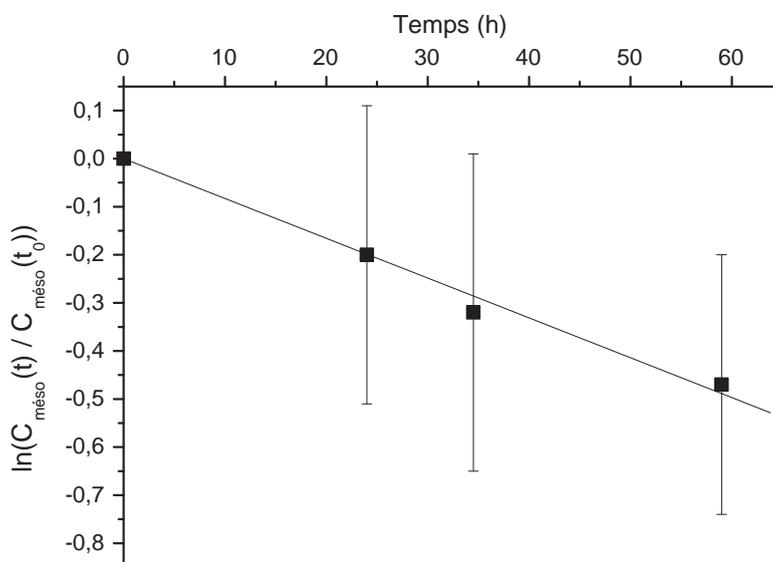
Cette expérience nous a montré que trois phénomènes de dissipation interviennent pour la mésotrione formulée sur les plantes exposées aux conditions climatiques extérieures. Ce sont le lessivage par la rosée, la diffusion dans la cuticule et la phototransformation.

G. Devenir de Callisto au champ

Afin de suivre la disparition de Callisto et de mettre en évidence l'importance de la phototransformation dans les conditions réelles d'utilisation, nous avons fait traité un champ de maïs en juin 2007.



(a) Pourcentage de mésotrione formulée dissipée par phototransformation en fonction du temps



(b) Evolution du logarithme du rapport C_t/C_0 pour la mésotrione dans Callisto en fonction du temps d'exposition

Figure III.23: Cinétique de disparition de la mésotrione formulée sur les plantes soumises aux conditions extérieures ; $C_{\text{mésotrione}}=110$ g/ha.

Le traitement a été effectué à l'aide d'une rampe de pulvérisation et la concentration de Callisto a été fixée à 150 g/ha. Comme dans le cas de l'étude sur plantes (paragraphe précédent), nous avons placé une bâche sur une petite partie du champ après la pulvérisation pour protéger certains plants de maïs de la lumière solaire. Des prélèvements de feuilles traitées étaient prévus matin et soir pendant une semaine pour les plantes exposées et les maïs sous la bâche. Cependant, les conditions climatiques ne nous ont pas permis de finaliser cette étude. Suite à de fortes pluies 2 heures après l'application, les analyses du premier prélèvement se sont révélées inexploitable.

3.4 Formulation synthétique

Nous avons vu à la page 80 que les additifs de la formulation commerciale influençaient fortement la vitesse de phototransformation de la mésotrione. Malheureusement, nous ne connaissons pas la composition exacte de Callisto. Pour essayer de comprendre l'effet de la formulation, nous avons donc créé une formulation synthétique. Pour cela, nous nous sommes basés sur les renseignements donnés par la fiche de données de sécurité de Callisto. Le vendeur doit en effet renseigner les substances présentant un risque pour la santé et l'environnement et dont la concentration est supérieure à 1 % en poids. La fiche de données de sécurité de Callisto mentionne trois des constituants de la formulation : la mésotrione (100 g/l), l'octanol (environ 100 g/l) et un éther isodécylé éthoxylé (500 g/l).

A. Comparaison avec la mésotrione pure et Callisto

Pour comprendre l'effet de ce composé, nous avons choisi un *tensioactif* de structure chimique proche : l'alcool isodécylé comportant 6 unités d'oxyde d'éthylène (voir figure III.24). Il sera désigné dans le texte par AI-6OE. Son but est de favoriser l'étalement de la solution. Il a été ajouté à une solution de mésotrione pure dans les proportions de Callisto, c'est à dire $C_{AI-6OE}=550$ g/ha pour $C_{mésotrione}=110$ g/ha. La cinétique de photolyse de la formulation synthétique a été comparée aux cinétiques de photolyse de la mésotrione pure et de Callisto réalisées dans les mêmes conditions expérimentales.

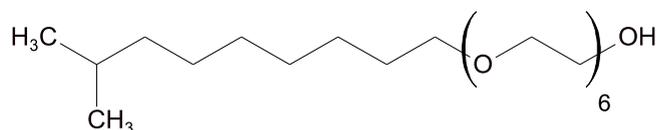


Figure III.24: Structure chimique de l'additif AI-6OE

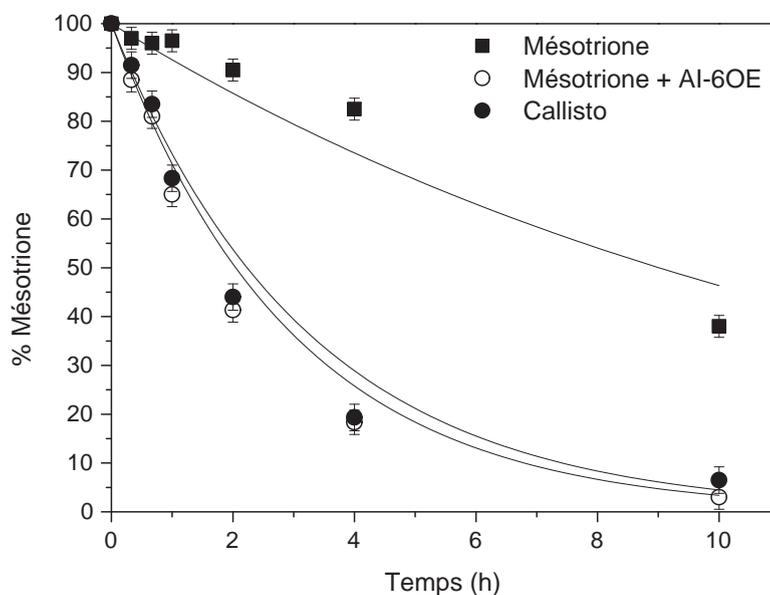
La figure III.25a page suivante présente le suivi du pourcentage de mésotrione restant à la surface de la cire de maïs au cours de l'irradiation en Suntest à 550 W/m^2 . Après 10 heures d'exposition en Suntest, 60% de la mésotrione pure s'est phototransformée. Dans le cas de la mésotrione dans Callisto et dans la formulation synthétique le taux de disparition dépasse 90%.

Sur la figure III.25b page suivante j'ai reporté les valeurs de $\ln(C_t/C_0)$ en fonction du temps. Les cinétiques sont d'ordre 1 apparent sur un temps limité. Les constantes de pseudo-premier ordre et les durées de demi-vie sont listées ci-dessous :

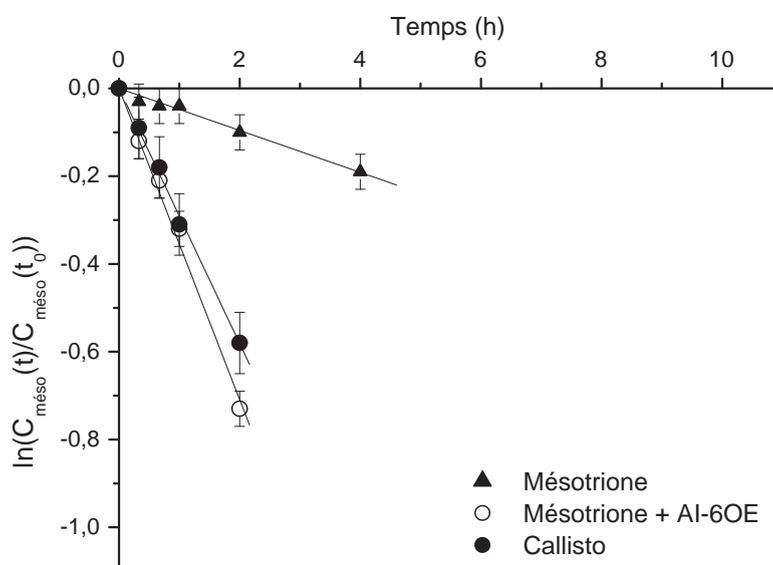
- pour la mésotrione pure : $k_{\text{app}}=1,3 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1} \pm 16\%$ et $t_{1/2}=14$ heures ;
- pour la mésotrione dans Callisto : $k_{\text{app}}=8,1 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1} \pm 10\%$ et $t_{1/2}=2$ heures et 20 minutes ;
- pour la mésotrione dans la formulation synthétique : $k_{\text{app}}=9,8 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1} \pm 15\%$ et $t_{1/2}=2$ heures.

Lorsque l'on a ajouté le *tensioactif* AI-6OE à la mésotrione, la constante de pseudo-premier ordre a été multipliée par un facteur 7. La cinétique de phototransformation était alors identique à celle observée pour la mésotrione dans Callisto. En effet, le test statistique a montré que les constantes de photolyse n'étaient pas significativement différentes au seuil de 5%.

Le rôle principal du *tensioactif* que nous avons étudié est l'étalement de la solution à la surface du film. Ce paramètre semble jouer un rôle primordial sur la photolyse de la mésotrione et l'effet des autres additifs de Callisto est négligeable.



(a) Pourcentage de mésotrione restant à la surface de la cire de maïs en fonction du temps d'irradiation



(b) Evolution du logarithme du rapport C_t/C_0 pour la mésotrione en fonction du temps d'irradiation

Figure III.25: Cinétique de disparition de la mésotrione pure, dans Callisto et dans la formulation synthétique sur la cire de maïs sous irradiation en Suntest à 550 W/m^2 ; $C_{\text{mésotrione}}=110 \text{ g/ha}$ pour les trois courbes et $C_{\text{AI-6OE}}=550 \text{ g/ha}$.

B. Influence de la concentration

Lorsque nous avons travaillé avec différentes concentrations de Callisto (paragraphe E. page 90), nous avons vu qu'à partir d'une certaine valeur, plus la concentration en Callisto augmente, plus sa phototransformation est rapide. Nous soupçonnons que ce phénomène soit dû à la concentration en *tensioactif* par unité de surface. Afin de vérifier cette hypothèse, nous avons effectué des tests avec une concentration de mésotrione constante et une concentration en AI-6OE variable. Le rapport $C_{\text{AI-6OE}}/C_{\text{mésotrione}}$ sera noté R par la suite. Nous l'avons fait varier de 0,5 à 50, la valeur R=5 correspondant au rapport dans Callisto. La quantité de mésotrione a été fixée à 110 g/ha et la puissance du Suntest à 550 W/m².

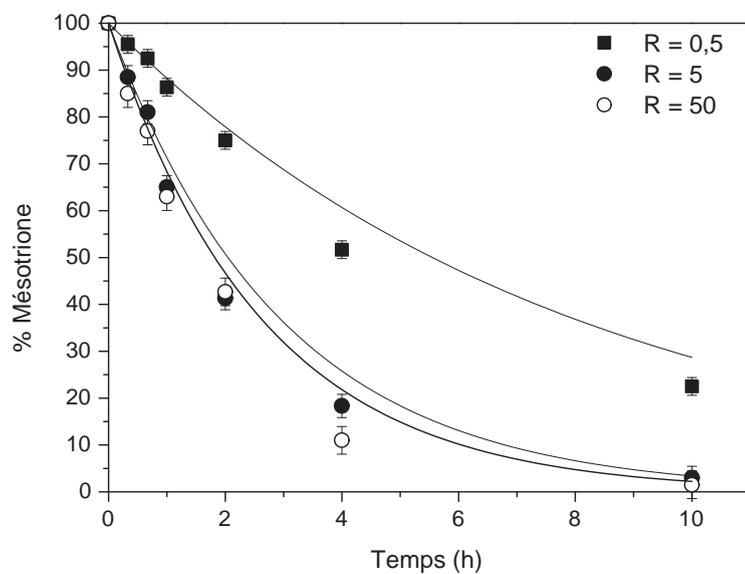
La figure III.26a page suivante montre le suivi du pourcentage de mésotrione restant à la surface de la cire de maïs au cours de l'irradiation en Suntest à 550 W/m². Après 10 heures d'irradiation, plus de 95% de la mésotrione a disparu dans les formulations synthétiques correspondant à R=5 et R=50. Pour le rapport R=0,5, un peu moins de 80% de la mésotrione s'est phototransformée.

Sur la figure III.26b page suivante on peut voir que les cinétiques de photolyse suivent un ordre 1 apparent sur les premiers points expérimentaux. Les constantes de pseudo-premier ordre et les durées de demi-vie sont listées ci-dessous :

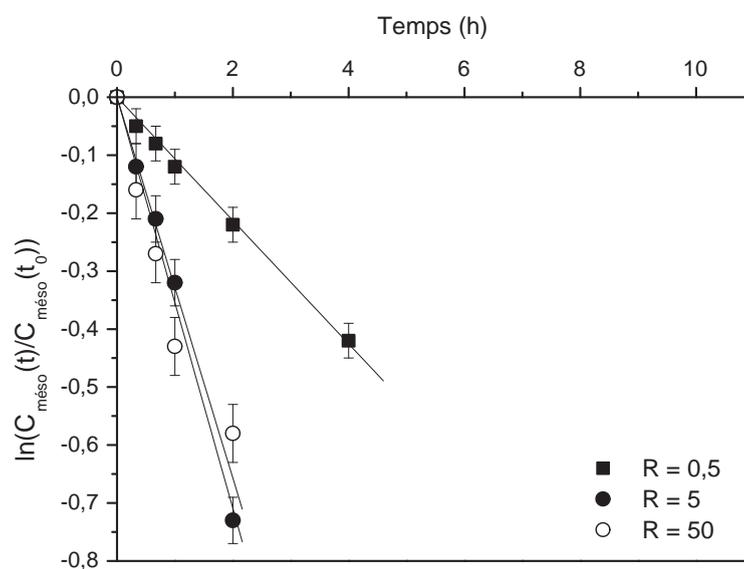
- pour R=0,5 : $k_{\text{app}}=2,9 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1} \pm 12\%$ et $t_{1/2}=6$ heures et 30 minutes ;
- pour R=5 : $k_{\text{app}}=9,8 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1} \pm 15\%$ et $t_{1/2}=2$ heures ;
- pour R=50 : $k_{\text{app}}=9,1 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1} \pm 5\%$ et $t_{1/2}=2$ heures.

Lorsque l'on fait varier R de 0,5 à 5, la concentration en AI-6OE est multipliée par 10 et la constante de pseudo-premier ordre est multipliée par 3. En revanche, lorsque l'on passe de R=5 à R=50, le test d'hypothèse nous dit que les constantes de phototransformation ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%.

Au delà d'une certaine concentration en *tensioactif*, l'étalement de la solution est maximale et la vitesse de phototransformation ne varie plus.



(a) Pourcentage de mésotrione restant à la surface du film de cire en fonction du temps d'irradiation



(b) Evolution du logarithme du rapport C_t/C_0 pour la mésotrione en fonction du temps d'irradiation

Figure III.26: Influence de la concentration en AI-6OE sur la cinétique de disparition de la mésotrione ($C=110$ g/ha) sur la cire de maïs sous irradiation en Suntest à 550 W/m²

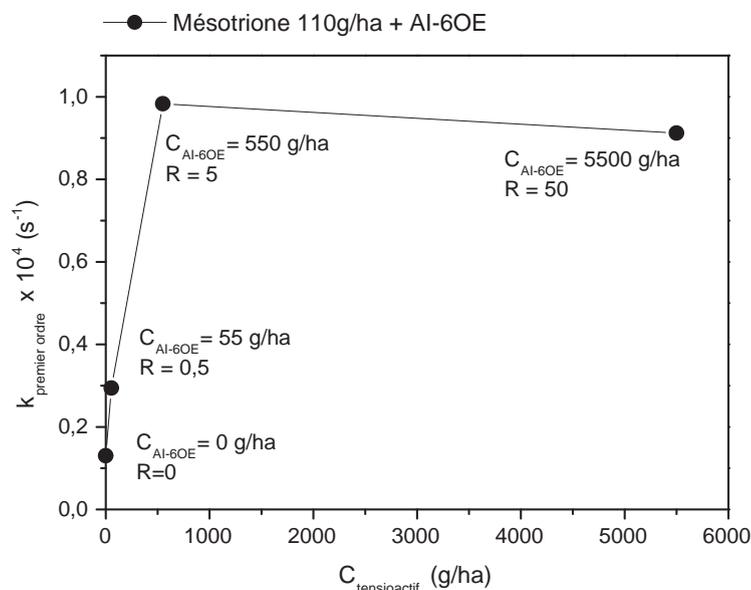


Figure III.27: Variation de la constante de pseudo-premier ordre en fonction de la quantité de AI-6OE sur les films de cire de maïs

La figure III.27 montre l'évolution des constantes de pseudo-premier ordre en fonction de la quantité en AI-6OE par unité de surface. La vitesse de phototransformation de la mésotrione augmente jusqu'à $C_{\text{AI-6OE}}=550 \text{ g/ha}$, c'est-à-dire pour $R=5$. Cette valeur correspond au rapport dans Callisto. **La quantité de *tensioactif* dans Callisto, ajustée par le producteur, semble correspondre à la dose pour laquelle la phototransformation de la mésotrione est la plus rapide.**

Nous pensons que le rapport $R=5$ correspond à l'étalement maximum de la mésotrione à la surface du film. Cependant, dès que l'on ajoute un *tensioactif*, l'angle de contact de la solution sur un support solide devient égale à 0° . Nous n'avons donc pas pu mesurer de différence d'angle de contact sur la cire de maïs entre les solutions correspondant aux différents R.

3.5 Discussion

Le tableau III.3 page 105 regroupe les conditions expérimentales et les constantes de pseudo-premier ordre mesurées pour les expériences concernant la mésotrione. La constante de référence correspond à la phototransformation de la mésotrione pure sur la cire de maïs pour une concentration de 1750 g/ha et une intensité lumineuse de 765 W/m². Dans ce tableau, R est le rapport $C_{\text{AI-6OE}} / C_{\text{mésotrione}}$.

Les études de phototransformation de la mésotrione sur les films de cire a mis en évidence un paramètre important à prendre en compte lors de l'interprétation des données : l'hétérogénéité des échantillons. Contrairement aux expérimentations en solution, les manipulations sur les pesticides sorbés sur les films sont soumises à l'inhomogénéité de la surface. Ceci implique une répartition non statistique de la molécule étudiée. C'est pour cette raison que les points expérimentaux et les constantes de pseudo-premier ordre sont entachés d'une erreur importante. Le tableau III.3 permet toutefois de mettre en évidence certaines tendances.

La durée de demi-vie de la mésotrione dans l'eau est de l'ordre de 86 à 96 jours [89]. Dans les sols, elle est plus courte : 29 jours suffisent pour transformer 50 % de la mésotrione par photolyse [89]. Au vue de ces données, les experts ont conclu que la photolyse de la mésotrione dans l'environnement n'est pas un processus de dissipation majeur. Cependant, nous montrons que la durée de demi-vie de la mésotrione pure sur la cire de maïs est de 7 heures ; cela suggère que la photolyse est un processus de dissipation non négligeable à la surface des feuilles traitées.

Afin de nous rapprocher des conditions agricoles nous avons testé l'influence de différents paramètres. Le tableau III.3 montre bien que la présence d'additifs est le paramètre le plus important pour la phototransformation de la mésotrione. En effet, pour l'étude de la mésotrione dans Callisto, la constante de pseudo-premier ordre est multipliée par un facteur 15 sur les films de cire de maïs. Nous avons avancé l'hypothèse d'une meilleure répartition de Callisto à la surface des cires favorisant l'interaction avec la lumière. Cette hypothèse a été vérifiée par des études sur une formulation synthétique élaborée au laboratoire. De plus, le paramètre important est le rapport de la quantité de *tensioactif* sur la quantité de matière active. Nous avons observé la vitesse de photolyse maximale de la mésotrione pour un rapport correspondant à la quantité d'additifs dans Callisto (R=5).

Lors de la pulvérisation au champ, plusieurs espèces végétales sont traitées simultanément : la plante de culture et les *adventices*. La composition chimique et la surface de leurs feuilles sont très différentes. Il nous a semblé important d'étudier l'influence de la nature de la cire cuticulaire sur la phototransformation de l'herbicide. La vitesse de photolyse de la mésotrione pure est du même ordre de grandeur sur les trois cires étudiées. Lorsque la mésotrione est sorbée

sur le film, elle se présente sous forme d'agrégats cristallins répartis de manière inhomogène à la surface de la cire. Les interactions entre la mésotrione et la surface sont donc limitées rendant les processus de phototransformations peu sensibles à la nature du support utilisé.

En revanche, dans le cas de Callisto, les additifs favorisent l'étalement à la surface des cires. La répartition plus homogène de l'herbicide augmente les interactions avec le support. Les inhomogénéités et la chimie de la surface auraient un effet plus important que dans le cas de la mésotrione pure. Ce phénomène est mis en évidence par la dispersion des valeurs des constantes de phototransformation de Callisto sur les différentes cires étudiées (de $2,5 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ à $4,6 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$).

Le rôle de l'oxygène singulet dans la phototransformation de la mésotrione a été établi grâce à une étude avec le Rose de bengale. Nous avons montré que la chlorophylle et les métabolites présents dans les films de cire de maïs pourrait photosensibiliser la photolyse de la mésotrione à sa surface.

La photolyse de la mésotrione formulée sur les feuilles de morelle détachées a permis de montrer la pertinence des études sur les films de cire. Dans les deux cas, 100% de la mésotrione disparaît par phototransformation et les autres phénomènes de dissipation sont négligeables au laboratoire. Les films cire constituent une première approche et permettent d'estimer de manière acceptable la photodissipation de la mésotrione dans Callisto à la surface des feuilles.

L'étude en extérieur sur les plantes confirme l'importance de la photolyse mais montre l'existence d'autres phénomènes de dissipation, notamment le lessivage des feuilles par la rosée et la diffusion dans la cuticule, qui peuvent devenir prépondérants. Les études en conditions réelles sur des plantes sont importantes car elle permettent de relativiser les résultats obtenus au laboratoire.

Paramètre étudié	Support	Substrat	k_{app} (s^{-1})	k/k_{ref}	$t_{\frac{1}{2}}$
P = 765 W/m²					
Nature de la cire	Cire de maïs	Mésotrione (1750 g/ha)	$3,0 \times 10^{-5}$	k_{ref}	6 h 30 min
	Cire de carnauba	Mésotrione (1750 g/ha)	$3,0 \times 10^{-5}$	1	6 h 30 min
	Cire de paraffine	Mésotrione (1750 g/ha)	$2,4 \times 10^{-5}$	0,8	8 h
	Cire de maïs	Callisto (1750 g/ha)	$4,6 \times 10^{-4}$	15,3	30 min
	Cire de carnauba	Callisto (1750 g/ha)	$2,5 \times 10^{-4}$	8,3	50 min
	Cire de paraffine	Callisto (1750 g/ha)	$3,0 \times 10^{-4}$	10	40 min
P = 550 W/m²					
Supports	Feuille de morelle	Callisto (1750 g/ha)	$7,6 \times 10^{-5}$	2,5	2 h 30 min
	Cire de maïs	Callisto (1750 g/ha)	$4,0 \times 10^{-4}$	13,3	30 min
	Cire de paraffine	Callisto (1750 g/ha)	$1,7 \times 10^{-4}$	5,7	1 h
¹ O ₂	Cire de carnauba	Callisto (1750 g/ha)	$1,7 \times 10^{-4}$	5,7	1 h
	Carnauba + Rose de bengale sur le film	Callisto (1750 g/ha)	$3,5 \times 10^{-4}$	11,7	30 min
	Carnauba + Rose de bengale sous le film	Callisto (1750 g/ha)	$2,8 \times 10^{-4}$	9,3	40 min
Concentration de Callisto	Cire de maïs	Callisto (75 g/ha)	$8,8 \times 10^{-5}$	2,9	2 h 10 min
	Cire de maïs	Callisto (110 g/ha)	$8,1 \times 10^{-5}$	3,3	2 h 20 min
	Cire de maïs	Callisto (150 g/ha)	$1,2 \times 10^{-4}$	4	1 h 40 min
Concentration de AI-6OE	Cire de maïs	Mésotrione (110 g/ha)	$1,3 \times 10^{-5}$	0,4	14 h
	Cire de maïs	Mésotrione (110 g/ha) + AI-6OE (R=50)	$9,1 \times 10^{-5}$	3,0	2 h
	Cire de maïs	Mésotrione (110 g/ha) + AI-6OE (R=5)	$9,8 \times 10^{-5}$	3,3	2 h
	Cire de maïs	Mésotrione (110 g/ha) + AI-6OE (R=0,5)	$2,9 \times 10^{-5}$	1	6 h 30 min
Conditions extérieures					
Plantes	Feuilles de maïs	Callisto (110 g/ha)	$2,3 \times 10^{-6}$	0,08	33 h

Tableau III.3: Tableau récapitulatif des constantes de pseudo premier ordre de phototransformation de la mésotrione pure, dans Callisto et dans la formulation synthétique sur les différents supports étudiés

4 Phototransformation de la sulcotrione pure et de Mikado

La sulcotrione qui est aussi un herbicide du maïs de la famille des tricétones a une structure chimique très proche de celle de la mésotrione. Elle est aussi appliquée en *post-levée*, mais à des doses trois fois plus importantes (300 à 600 g/ha). J'ai tout d'abord effectué une étude préliminaire de phototransformation de la sulcotrione pure sur la cire de maïs. Dans un second temps, j'ai étudié Mikado sur les films de cire de maïs et de paraffine. Ceci m'a permis de comparer les résultats obtenus avec ceux issus d'une expérimentation sur des plantes entières de maïs et de morelle noire.

Ter Halle *et al.* [43] ont identifié la structure de plusieurs photoproduits de la sulcotrione sur les films de cire. Deux d'entre eux sont aisément séparés par chromatographie liquide. Il s'agit du xanthène et du CMBA dont les structures chimiques sont rappelées figure III.28.

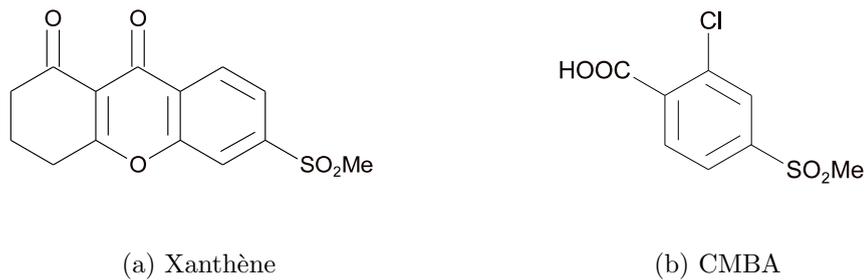
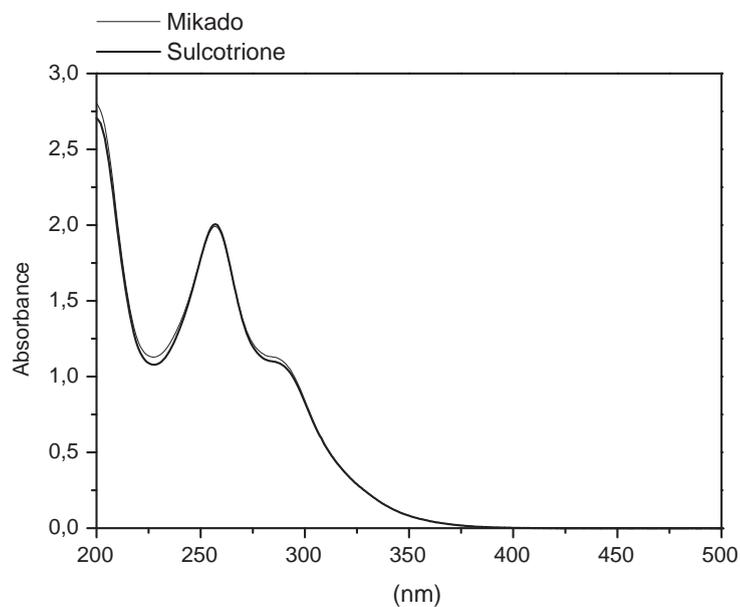


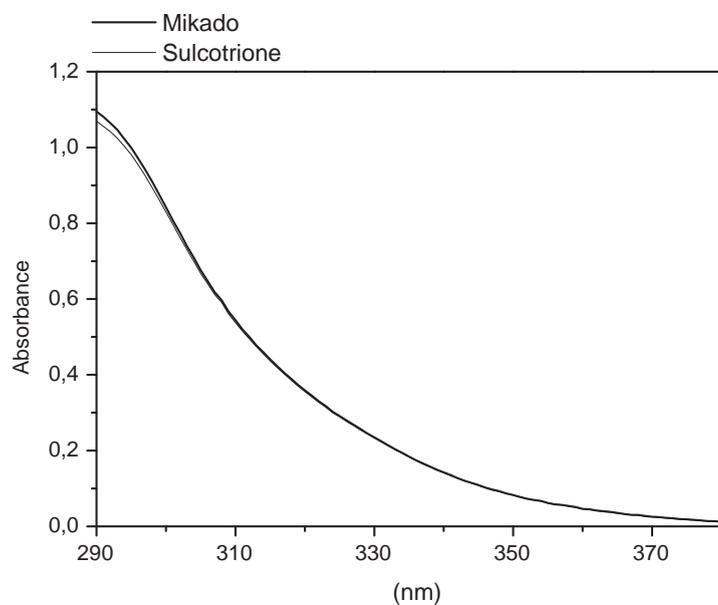
Figure III.28: Photoproduits majoritaires de la sulcotrione

4.1 Caractéristiques spectrales

Les figures III.29a et III.29b page suivante montrent le spectre d'absorption de la sulcotrione et de Mikado dans l'eau pure. Ces deux spectres présentent un maximum à 260 nm ($\epsilon_{\text{sulcotrione}} = 20000 \pm 600 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$). La solution de Mikado présente le même profil d'absorption que la solution de sulcotrione. Cependant, entre 290 et 310 nm, l'absorption de la solution de Mikado est un peu plus importante. Les additifs de la formulation commerciale absorberaient donc faiblement la lumière dans la portion actinique du spectre solaire.



(a) Spectres d'absorption de la sulcotrione et de Mikado en solution dans l'eau ultrapure



(b) Spectres d'absorption de la sulcotrione et de Mikado dans l'eau entre 290 et 310 nm

Figure III.29: Spectres d'absorption de la sulcotrione et de Mikado en solution dans l'eau, $C_{\text{sulcotrione}} = 1 \times 10^{-4} \text{ M}$

4.2 Sulcotrione pure

A. Sulcotrione sur les films de cire de maïs

Pour évaluer la photodissipation de la sulcotrione à la surface des feuilles, nous avons mesuré sa cinétique de phototransformation sur des films de cire de maïs. Lors de notre étude sur la mésotrione nous avons mis en évidence un effet de la concentration sur la phototransformation. Nous avons donc choisi de travailler à une concentration de 400 g/ha en sulcotrione. Cette valeur se situe en effet dans la fourchette des doses recommandées pour l'application au champ (300-600 g/ha). Pour les essais, la puissance du Suntest a été réglée à 550 W/m².

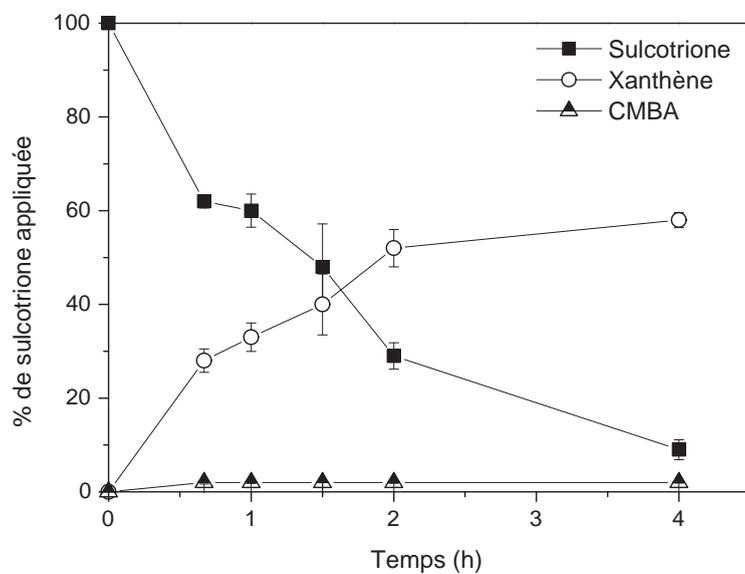
Aucune perte de sulcotrione n'a été détectée sur les échantillons conservés à l'obscurité pendant toute la durée de la manipulation. Comme dans le cas de la mésotrione, la sulcotrione ne se volatilise pas et ne diffuse pas significativement dans le film de cire.

La figure III.30a page suivante présente le suivi du pourcentage de sulcotrione restant à la surface de la cire de maïs au cours de l'irradiation en Suntest à 550 W/m². En parallèle, nous avons mesuré les quantités de xanthène et de CMBA. Après 4 heures en Suntest, plus de 90% de la sulcotrione s'est phototransformée. Le suivi des deux photoproduits met en évidence l'accumulation du xanthène à la surface du film. La quantité détectée sur la cire après 4 heures d'exposition atteint 60% de la quantité de sulcotrione initiale. La concentration de CMBA reste faible au cours de l'irradiation et se stabilise autour de 2% après 40 minutes.

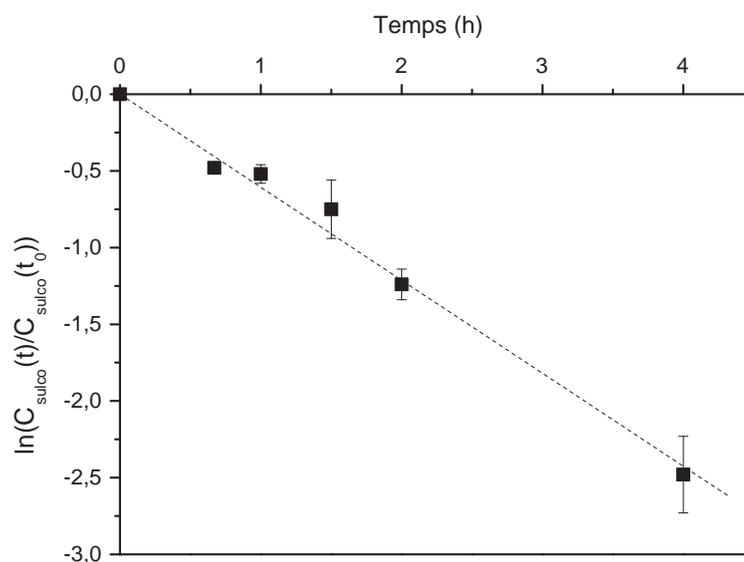
Si l'on fait le bilan après 4 heures d'irradiation, plus de 30% de la quantité initiale de sulcotrione qui n'est ni sous forme de xanthène, ni sous forme de CMBA. Comme la sulcotrione ne pénètre pas dans le film de cire, ce défaut de 30% peut être attribué à :

- la formation de photoproduits volatils ;
- la formation de photoproduits primaires et secondaires non détectés par HPLC ;
- la diffusion des photoproduits dans la cire.

La figure III.30b page suivante montre que les points expérimentaux relatifs à la disparition de la sulcotrione en $\ln(C_t/C_0)$ se distribuent le long d'une droite. La cinétique de photolyse de la sulcotrione sur la cire de maïs est donc d'ordre 1 apparent. La constante de phototransformation a une valeur de $1,7 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1} \pm 15\%$, ce qui correspond à une durée de demi-vie de 1 heure. **La phototransformation de la sulcotrione sorbée sur la cire de maïs est une réaction rapide. Cette réaction donne naissance à un photoproduit majoritaire, le xanthène.**



(a) Evolution du pourcentage de sulcotrione, de xanthène et de CMBA à la surface du film de cire en fonction du temps d'irradiation



(b) Evolution du logarithme du rapport C_t/C_0 pour la sulcotrione en fonction du temps d'irradiation

Figure III.30: Cinétique de disparition de la sulcotrione pure ($C_{\text{sulcotrione}}=400$ g/ha) et cinétiques d'apparition du xanthène et du CMBA sur la cire de maïs irradiée en Suntest à 550 W/m²

4.3 Formulation commerciale de la sulcotrione

Pour l'étude de la sulcotrione formulée nous avons choisi Mikado (300 g/l en sulcotrione), utilisé pour le traitement en *post-levée* du maïs. Les cires de maïs et de paraffine ont été utilisées pour représenter la surface des feuilles de maïs et de morelle noire.

A. Comparaison avec la sulcotrione pure sur film de cire de maïs

Dans un premier temps, j'ai comparé les cinétiques de phototransformation de la sulcotrione pure et dans Mikado sur la cire de maïs. Les conditions expérimentales étaient similaires : la concentration en sulcotrione était fixée à 400 g/ha et la puissance du Suntest à 550 W/m².

La figure III.31a page suivante montre le suivi du pourcentage de sulcotrione restant à la surface du film de cire de maïs au cours de l'irradiation en Suntest à 550 W/m². Deux heures après le début de la manipulation, 70% de la sulcotrione pure introduite et 90% de la sulcotrione formulée ont été photolysés.

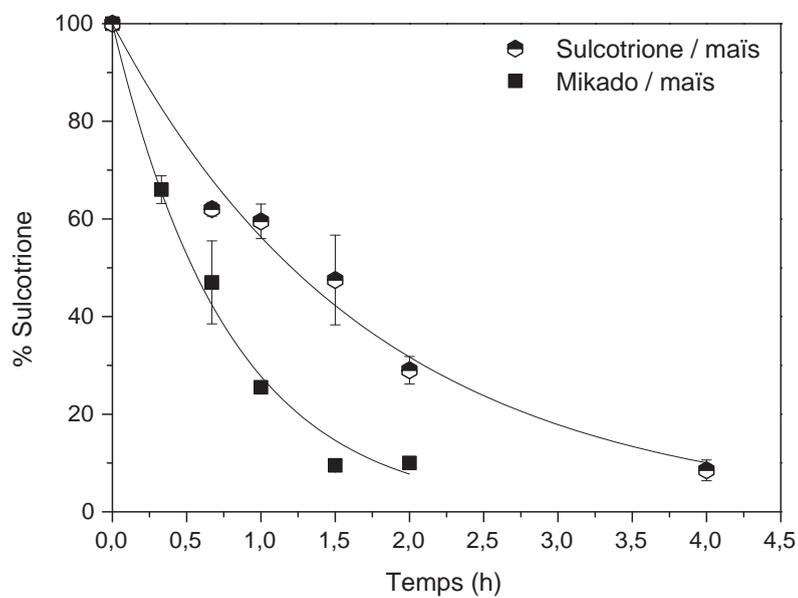
La figure III.31b page suivante montre que les cinétiques de photolyse de la sulcotrione pure et dans Mikado suivent une loi de pseudo premier ordre. Les constantes de phototransformation et les durées de demi-vie sont précisées ci-dessous :

- pour la sulcotrione pure : $k_{app}=1,7 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1} \pm 15\%$ et $t_{1/2}=1 \text{ h}$ (voir page 108) ;
- pour la sulcotrione dans Mikado : $k_{app}=4,1 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1} \pm 20\%$ et $t_{1/2}=30 \text{ min}$.

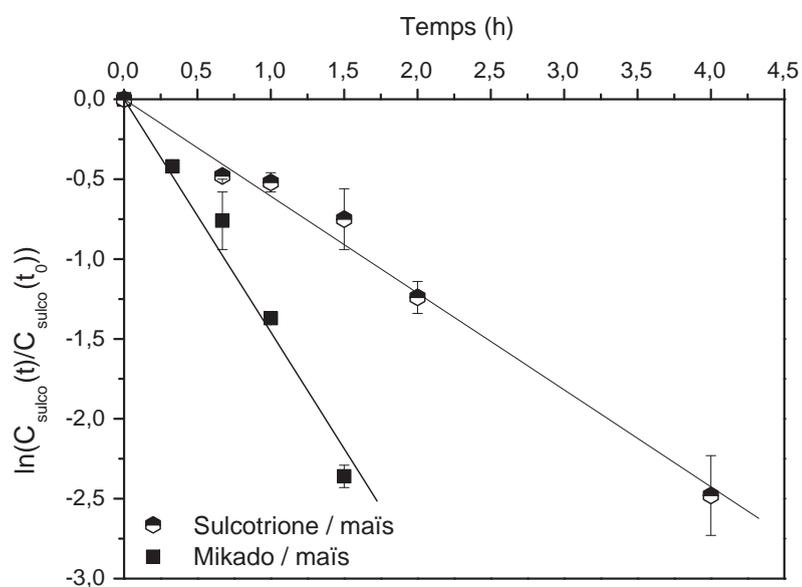
La constante de pseudo-premier ordre est deux fois plus grande pour Mikado que pour la sulcotrione. **La phototransformation de Mikado est donc deux fois plus rapide que la photolyse de la sulcotrione pure sur la cire de maïs.**

Deux hypothèses pourraient expliquer cette accélération :

1. D'une part un effet photosensibilisateur des additifs qui s'ajoutent à la photolyse directe. Les spectres d'absorption de la sulcotrione et de Mikado en solution présentés à la figure III.6 page 63 montrent que les deux profils d'absorption sont similaires. Cependant, les spectres ayant été enregistrés en solution, nous ne pouvons pas exclure le phénomène de photosensibilisation à sec ;
2. D'autre part, la présence des additifs de la formulation, qui améliorent l'étalement de la sulcotrione à la surface du film, pourraient favoriser l'interaction entre le principe actif et la lumière.



(a) Pourcentage de sulcotrione restant à la surface de la cire de maïs en fonction du temps d'irradiation



(b) Evolution du logarithme du rapport C_t/C_0 pour la sulcotrione en fonction du temps d'irradiation

Figure III.31: Cinétiques de disparition de la sulcotrione pure et dans Mikado ($C_{\text{sulcotrione}}=400$ g/ha) sur la cire de maïs irradiée en Suntest à 550 W/m²

B. Influence de la nature de la cire

Comme pour Callisto, nous avons étudié l'influence de la nature de la cire sur la phototransformation de la sulcotrione formulée.

La figure III.32a page suivante présente le suivi du pourcentage de sulcotrione formulée restant à la surface des films de cire au cours de l'irradiation en Suntest à 550 W/m^2 . Après une heure d'exposition en Suntest, la moitié de la sulcotrione dans Mikado a été phototransformée à la surface de la paraffine et plus de 70% sur la cire de maïs.

La figure III.32b page suivante montre que les cinétiques de photolyse sont du pseudo-premier ordre sur les premiers points expérimentaux. Les constantes de phototransformation et les durées de demi-vie ont les valeurs suivantes :

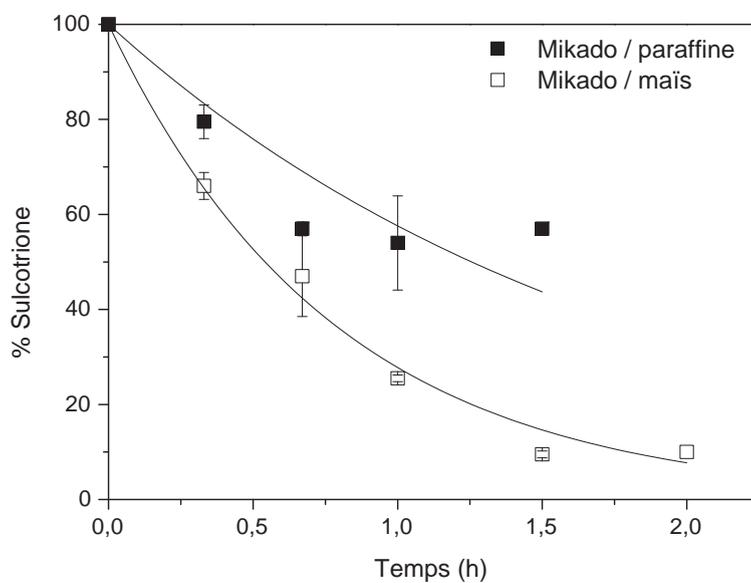
- sur la cire de maïs : $k_{\text{app}}=4,1 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1} \pm 20\%$ et $t_{1/2}=30$ minutes ;
- sur la cire de paraffine : $k_{\text{app}}=1,6 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1} \pm 63\%$ et $t_{1/2}=1$ heure.

La comparaison des constantes de pseudo-premier ordre montre que la photolyse de Mikado sur la cire de paraffine est deux fois plus lente que sur la cire de maïs. **La nature du support influence donc de manière significative la vitesse de phototransformation de Mikado.**

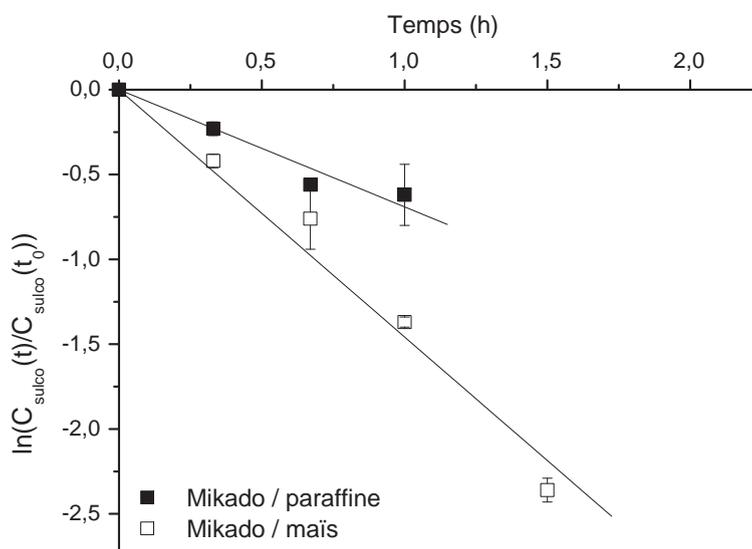
D'un point de vue qualitatif, nous avons suivi la production du xanthène et du CMBA au cours de la photolyse de Mikado sur les deux cires.

La figure III.33a page 114 présente l'évolution de la quantité de sulcotrione, de xanthène et de CMBA au cours de l'irradiation de Mikado sur la cire de maïs. La figure III.33b page 114 montre l'évolution de ces trois molécules sur les films de paraffine. Sur ces deux graphiques, la quantité de chacun des photoproduits est présentée en pourcentage de sulcotrione appliquée à la surface du film. Après 20 minutes d'exposition sur la cire de maïs, 20% de la sulcotrione appliquée est sous forme de xanthène et moins de 1% sous forme de CMBA. Pour le même temps, les proportions sont différents sur la cire de paraffine puisque l'on retrouve 15% de la sulcotrione appliquée sous forme de xanthène et moins de 1% de CMBA.

La sélectivité de la réaction de photolyse dépend donc de la nature de la cire.

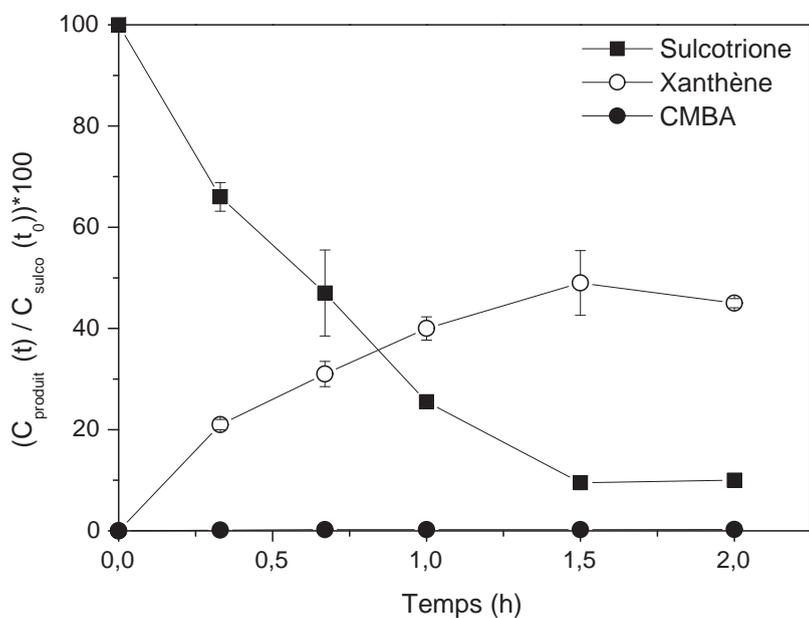


(a) Pourcentage de sulcotrione dans Mikado restant à la surface du film de cire en fonction du temps d'irradiation

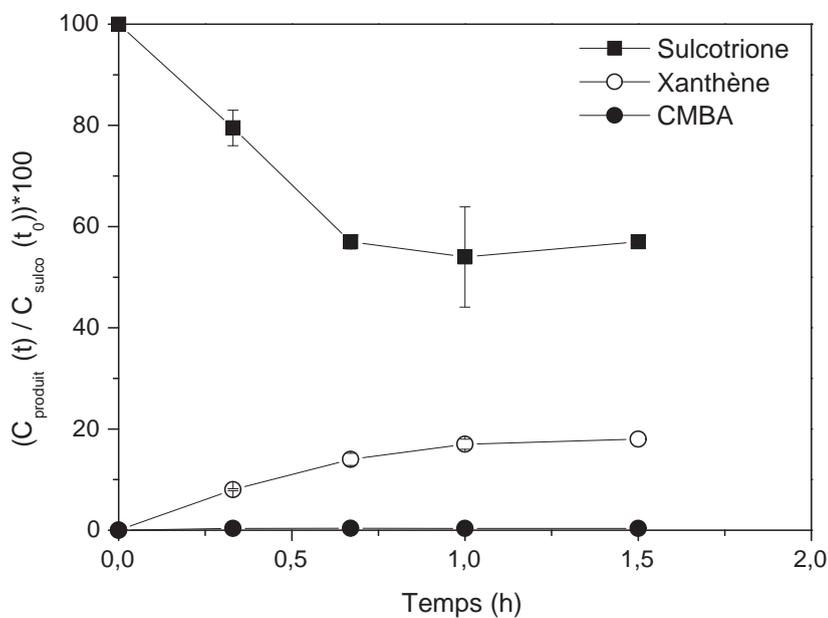


(b) Evolution du logarithme du rapport C_t/C_0 pour la sulcotrione formulée en fonction du temps d'irradiation

Figure III.32: Influence de la nature de la cire sur la cinétique de disparition de la sulcotrione dans Mikado ($C_{\text{sulcotrione}}=400$ g/ha) irradiée en Suntest à 550 W/m².



(a) Cire de maïs reconstituée



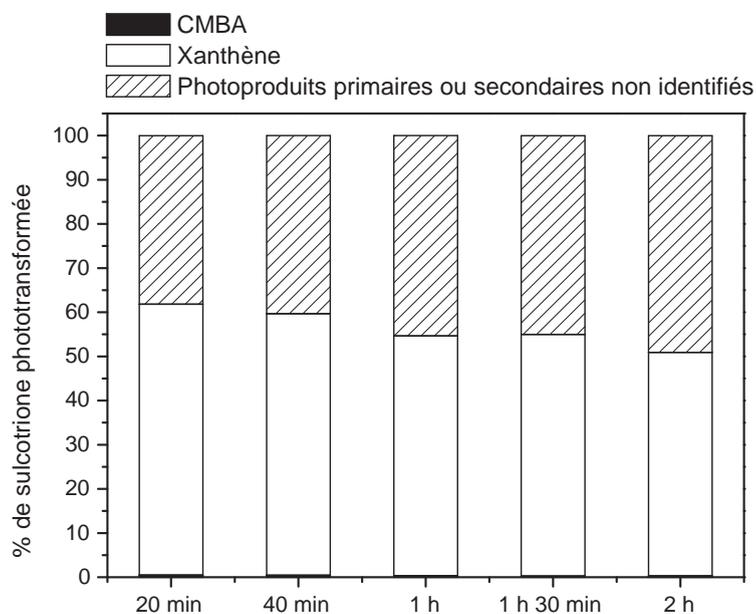
(b) Cire de paraffine

Figure III.33: Cinétiques de disparition de Mikado ($C_{\text{sulcotrione}}=400$ g/l) et d'apparition de la xanthène et du CMBA sur la cire de maïs et de paraffine irradiés en Suntest à 550 W/m²

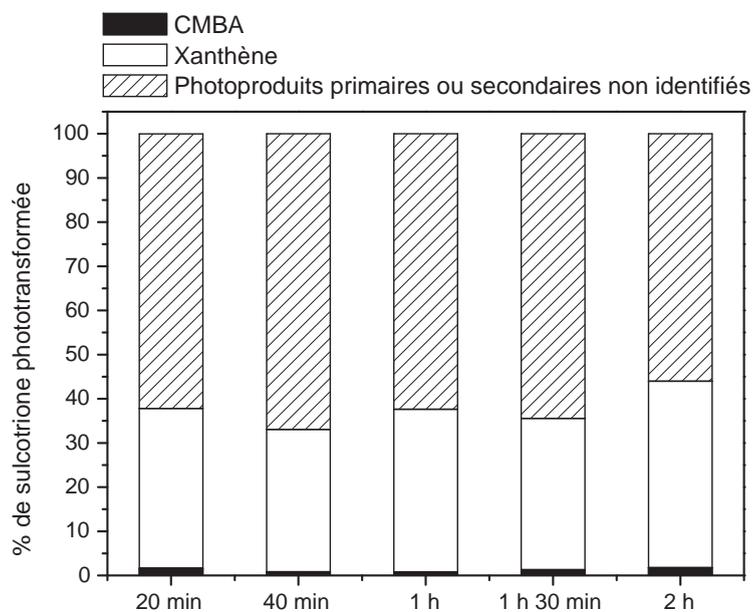
Afin de pouvoir comparer la sélectivité de la phototransformation de Mikado sur les deux cires, il faut ramener la quantité de xanthène et de CMBA produite à la quantité de sulcotrione qui a disparu à chaque instant.

Les figures III.34a et III.34b page suivante font apparaître la part de sulcotrione formulée photolysée sous forme de xanthène, de CMBA et d'autres photoproduits non détectés sur les films de maïs et de paraffine. La part de sulcotrione phototransformée en xanthène varie peu au cours de l'irradiation. En revanche, si l'on compare les résultats obtenus sur les cires de maïs et de paraffine, on remarque que la part de xanthène diffère d'une cire à l'autre. Au début de l'irradiation, la quantité de xanthène atteint 35% la quantité phototransformée sur la cire de paraffine et 65% sur la cire de maïs.

La nature de la cire influence donc quantitativement et qualitativement la phototransformation de la sulcotrione formulée. La réaction est plus rapide sur la cire de maïs et la formation du xanthène semble préférentielle sur cette cire.



(a) Film de cire de maïs



(b) Film de cire de paraffine

Figure III.34: Distribution des photoproduits de la sulcotrione sur les cires de maïs et de paraffine lors de l'irradiation en Suntest à 550 W/m².

C. Devenir de Mikado sur les plantes

Nous avons réalisé un bilan complet du devenir de la sulcotrione sur des plantes grâce à un échantillon radiomarqué. Afin d'intégrer la formulation dans notre étude, nous avons utilisé une solution de Mikado que nous avons dopé avec la sulcotrione marquée au carbone 14 sur le cycle aromatique. Grâce au radiomarquage, il nous a été possible de suivre le devenir de l'herbicide à la surface des feuilles traitées et dans les plantes. Cette étude a été réalisée sur des plants de maïs et de morelle noire exposés à la lumière dans une chambre climatique, pendant 24 et 48 heures respectivement. Une partie de la chambre climatique reste à l'obscurité au cours de la manipulation. Les plantes conservées dans cette partie de la chambre nous ont permis d'évaluer l'importance des phénomènes de diffusion de la matière active dans la cuticule et de métabolisation par l'organisme. Dans cette section, lorsque je parlerai de la sulcotrione, il s'agira de la sulcotrione radiomarquée qui a été appliquée en mélange dans Mikado. L'activité initiale de l'échantillon après purification était de $9,7 \times 10^6$ dpm. Pour cette étude, une feuille par plante a été traitée.

Après le traitement, différentes voies d'évolution sont possibles :

- la sulcotrione reste sorbée à la surface des feuilles (S^{ext} sur la figure III.35 page suivante) ;
- la sulcotrione se volatilise (S^{vol}) ;
- la sulcotrione se phototransforme à la surface de la feuille, donnant naissance à des photoproduits (Pi^{ext}) ;
- la sulcotrione et ses photoproduits diffusent dans la plante à travers la barrière cuticulaire (S^{int} et Pi^{int}) ;
- la sulcotrione à l'intérieur des feuilles se phototransforme donnant naissance à des photoproduits (Pi^{int}) ;
- la sulcotrione est métabolisée à l'intérieur de la plante (M) ;
- enfin, la sulcotrione est transloquée par la plante, de la feuille traitée vers le reste de l'organisme (S^{trans}).

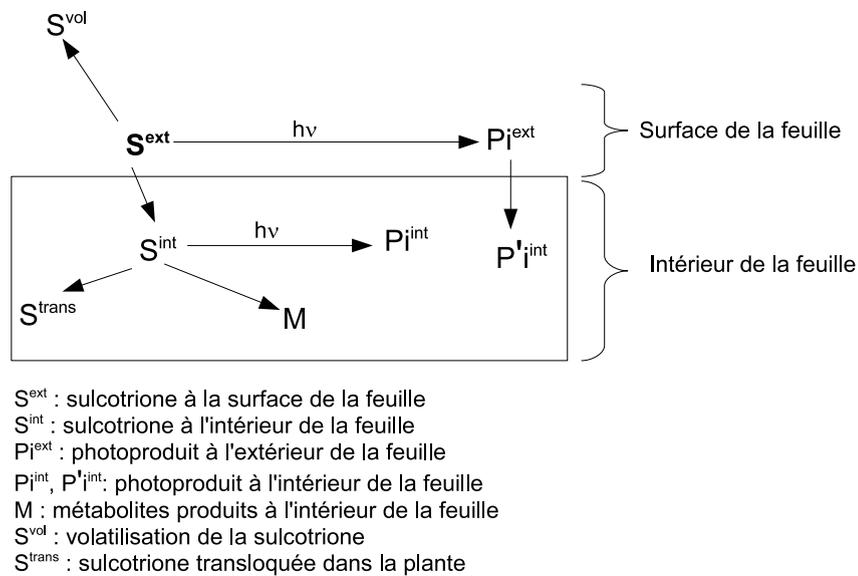


Figure III.35: Distribution de la sulcotrione, de ses photoproduits et de ses métabolites à la surface et dans la feuille traitée

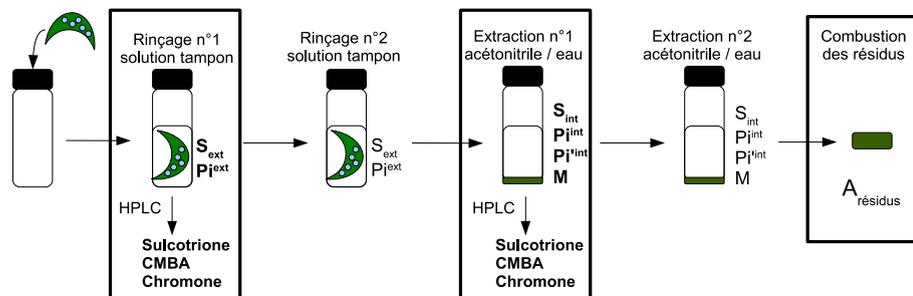


Figure III.36: Protocole pour mesurer la distribution de la sulcotrione et de ses produits de dégradation dans les extraits

Les données présentées ci-après sont issues des analyses des différentes fractions extraites, par scintillation liquide et chromatographie. Pour chaque feuille, l'activité est récupérée dans cinq fractions. Les deux premières correspondent au rinçage de la surface de la feuille traitée par une solution de tampon phosphate. Cette étape permet de solubiliser la sulcotrione et ses produits de dégradation présents à la surface de la feuille traitée (S^{ext} et P_i^{ext}). Deux extractions successives de la feuille broyée par un mélange d'eau et d'acétonitrile permettent d'extraire les résidus présents à l'intérieur de la feuille traitée (S^{int} , P_i^{int} , P'_i^{int} et M). Enfin les résidus liés sont déterminés par combustion du broyat. Le second rinçage avec le tampon phosphate, la deuxième

extraction à l'acétonitrile et la combustion du broyat présentent des activités négligeables par rapport aux premiers rinçages. Les méthodes de rinçage et d'extraction mises au point pour l'étude sur plante sont donc bien adaptées. Les analyses par chromatographie liquide n'ont été effectuées que sur le rinçage 1 et l'extraction 1 (voir figure III.36 page précédente) qui représentent la quasi-totalité de l'activité extraite. L'analyse des fractions par chromatographie liquide permet de séparer la sulcotrione de ses deux produits de dégradation majoritaires, le CMBA et le xanthène. Nous n'avons pas détectés d'autres produits de dégradation.

Ce travail sur des plantes entières est plus complexe que les études sur les films de cire car il est plus difficile de maîtriser les différents paramètres expérimentaux. L'application de l'herbicide goutte à goutte ainsi que l'extraction et l'analyse qui détruisent l'échantillon introduisent des erreurs importantes.

Un volume de 250 μl a été appliqué sur chaque feuille en gouttelettes de 5 μl . L'activité appliquée a été déterminée en analysant, par comptage en scintillation liquide, un volume de 250 μl de la solution initiale. La valeur de l'activité était de $2,25 \times 10^5$ dpm. L'activité totale extraite des feuilles de maïs et de morelle après l'évaporation du solvant était un peu supérieure à cette valeur ($2,36 \times 10^5$ dpm pour le maïs et $2,30 \times 10^5$ dpm pour la morelle). Cette différence de 5% peut s'expliquer par les étapes d'extraction successives qui engendrent des erreurs expérimentales importantes. Par la suite, l'activité totale extraite de la feuille traitée, à t_0 , sera considérée comme l'activité de référence pour les calculs.

La figure III.37 page 121 montre l'évolution de l'activité totale extraite des feuilles de maïs traitées au cours du temps, en nombre de désintégrations par minute. Pour chaque point expérimental, la répartition de l'activité dans les différentes fractions est aussi présentée. L'activité correspondant aux deux rinçages successifs avec la solution tampon est représentée par les rectangles blancs. Ils correspondent à la quantité d'activité récupérée à la surface de la feuille. L'activité des extractions à l'acétonitrile correspond aux résidus non liés. Et enfin, l'activité des résidus liés provient de la combustion du broyat.

La figure III.38 page 122 présente un suivi identique pour les feuilles de morelle traitées.

Pertes par translocation et volatilisation

Le suivi de l'activité totale a permis d'évaluer les pertes de sulcotrione par volatilisation ou par translocation de la feuille traitée vers le reste de l'organisme. L'activité totale correspond à la somme des activités des toutes les fractions (figures III.37 page 121 et III.38 page 122). Nous n'avons pas extrait le reste de la plante ni piéger l'air sortant de la chambre climatique. La perte d'activité au cours du temps est donc attribuée soit à de la volatilisation, soit à de

la translocation. La somme de ces deux voies atteint un maximum de 10% sur le maïs après 24 heures d'exposition à la lumière.

– À l'obscurité

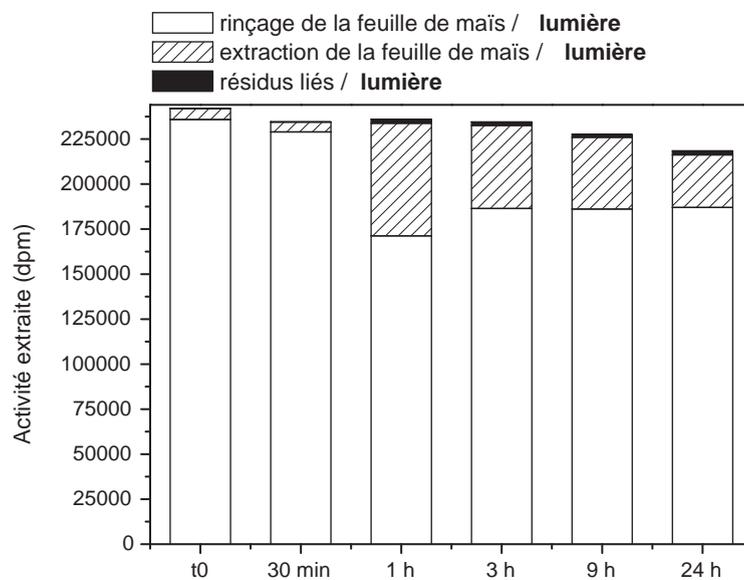
À l'obscurité, l'activité totale sur le maïs varie de $2,4 \times 10^5$ dpm à $2,3 \times 10^5$ dpm entre 0 et 24 heures (figure III.37b page suivante). Les pertes représentent moins de 1% de l'activité appliquée. **Ce suivi à l'obscurité sur le maïs montre que les pertes par translocation et volatilisation sont négligeables dans les conditions expérimentales.** Ceci est en accord avec les données physico-chimiques de la sulcotrione, dont la pression de vapeur saturante de 5×10^{-6} Pa en fait une molécule peu volatile.

Les morelles noires conservées à l'obscurité ont été soumises aux mêmes conditions climatiques. Pourtant, cette fois-ci on observe une perte d'environ 10% de l'activité totale extraite qui passe de $2,37 \times 10^5$ dpm à $2,10 \times 10^5$ dpm entre 0 et 48 heures (figure III.38b page 122). Cette diminution de l'activité serait due à la translocation et à la volatilisation de la sulcotrione. Comme on a vu que la sulcotrione ne se volatilise pas sur le maïs, on peut conclure qu'elle ne se volatilise pas non plus sur la morelle. On peut attribuer ces pertes à de la translocation : une partie de l'activité s'est donc déplacée de la feuille traitée vers le reste de la plante. En effet, la sulcotrione étant un herbicide *systemique*, elle migre de son point d'application (la surface de la feuille d'*adventice*) vers son site d'action (à l'intérieur des cellules).

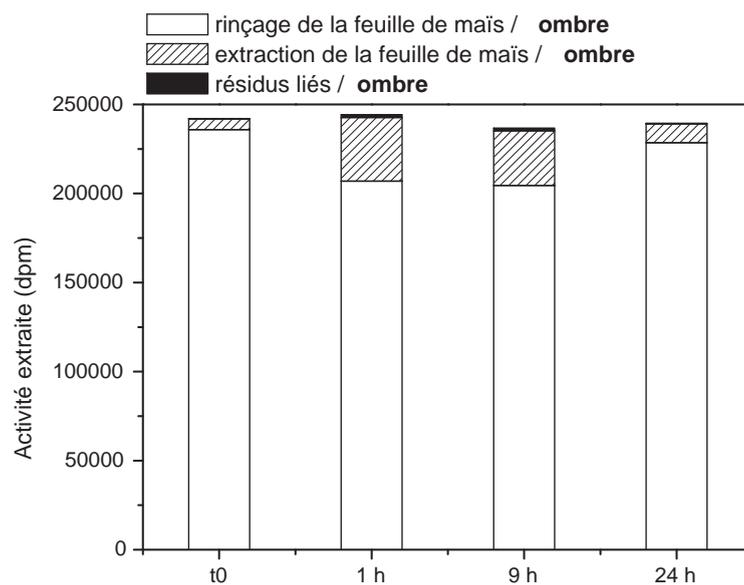
– À la lumière

A la lumière, l'activité totale sur le maïs passe de $2,4 \times 10^5$ dpm à $2,2 \times 10^5$ dpm, soit une variation de 10% de l'activité initiale extraite en 24 heures (figure III.37a page suivante). Cette variation est plus importante à la lumière qu'à l'obscurité. Il est possible que des processus métaboliques activés par la lumière et suivis d'une translocation des produits de dégradation soient à l'origine de cette différence. Cette perte pourrait aussi être attribuée à des photoproduits de la sulcotrione qui se volatiliseraient. Nous avons déjà formulé cette hypothèse lorsque nous avons étudié la phototransformation de la sulcotrione sur les cires (voir le paragraphe A. page 108).

Sur la morelle noire, l'activité totale extraite varie de $2,4 \times 10^5$ dpm à $2,3 \times 10^5$ dpm soit une variation d'environ 5%. Je n'ai trouvé aucune explication satisfaisante pour expliquer la variation de la quantité d'activité totale sur la morelle noire, qui passe de 10% à l'obscurité à 5% à la lumière.

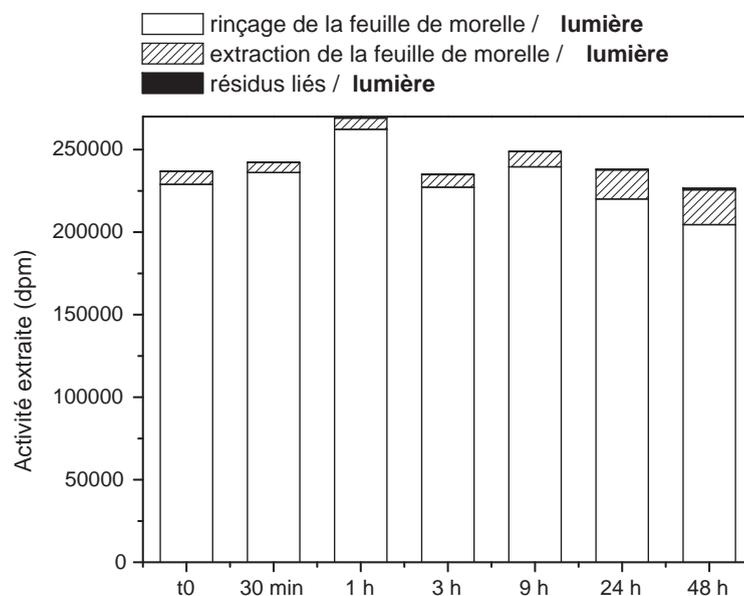


(a) A la lumière

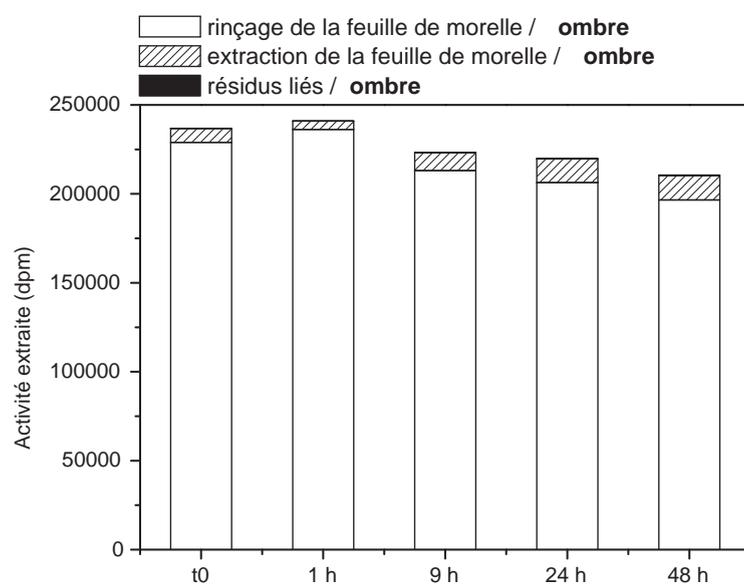


(b) A l'obscurité

Figure III.37: Evolution de l'activité extraite dans les différentes fractions, pour les feuilles de **maïs** traitées, au cours de l'exposition des plantes dans la chambre climatique, $C_{\text{sulcotrione}}=400\text{-}500$ g/ha, $T=20^\circ\text{C}$, $\text{RH}=50\%$, $v_{\text{vent}}=1$ m/s



(a) A la lumière



(b) A l'obscurité

Figure III.38: Evolution de l'activité extraite dans les différentes fractions, pour les feuilles de **morelle** traitées, au cours de l'exposition des plantes dans la chambre climatique, $C_{\text{sulcotrione}}=400-500$ g/ha, $T=20^{\circ}\text{C}$, $\text{RH}=50\%$, $v_{\text{vent}}=1$ m/s

Les pertes par volatilisation et par translocation de la sulcotrione sont négligeables, que ce soit dans le cas du maïs ou dans le cas de la morelle noire.

Pertes par diffusion et phototransformation

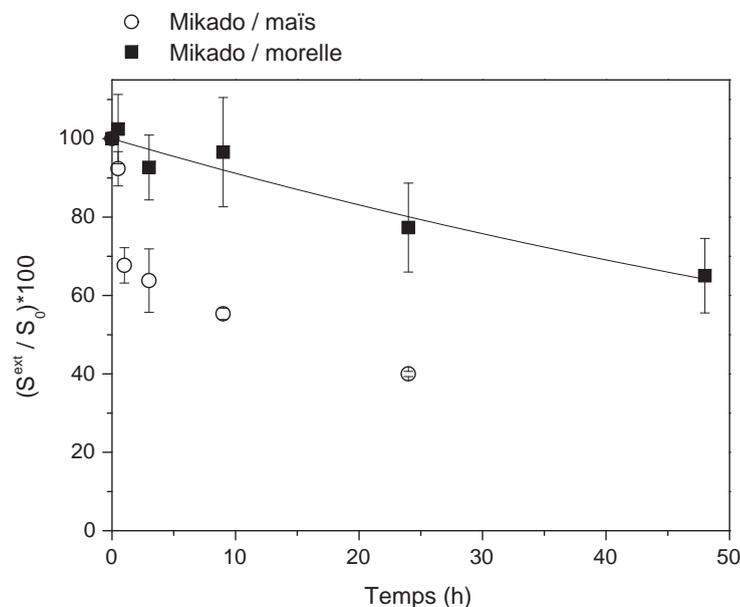
L'étude du devenir de la sulcotrione à la surface des feuilles traitées est basée sur l'analyse du premier rinçage (rinçage n°1 sur la figure III.36 page 118). La cuticule des feuilles, lavées avec la solution tampon reste intacte. Seuls la sulcotrione et ses produits de dégradation présents à la surface des feuilles sont récupérés.

J'ai effectué une analyse par chromatographie liquide afin de séparer les constituants du mélange. J'ai ensuite calculé le pourcentage de sulcotrione restant à la surface de la feuille traitée pour chaque point expérimental en utilisant comme référence, la quantité de sulcotrione présente à la surface des feuilles à l'instant initial.

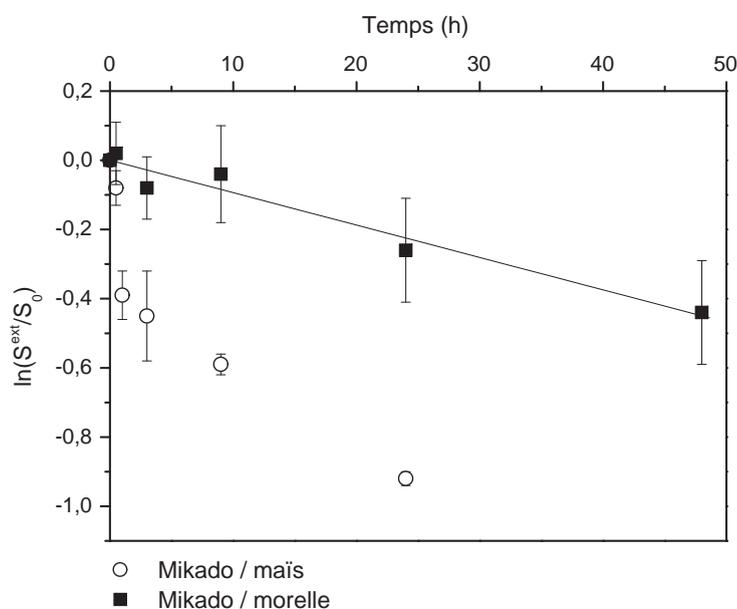
La figure III.40a page suivante présente le suivi du pourcentage de sulcotrione restant à la surface de la feuille traitée (S^{ext} sur la figure III.35 page 118) au cours de l'irradiation en chambre climatique. Après 24 heures, 60% de la sulcotrione a disparu de la surface de la feuille de maïs traitée et moins de 35% de la feuille de morelle traitée. Ces pertes peuvent être attribuées à la diffusion du principe actif dans la feuille ou à sa phototransformation à la surface de la feuille.

La figure III.40b page suivante montre que la cinétique de disparition est du pseudo-premier ordre sur la feuille de morelle noire seulement. La constante de dissipation a une valeur de $2,6 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1} \pm 40\%$ et la durée de demi-vie est de 3 jours pour une irradiation continue. Pour le maïs, la distribution des points expérimentaux ne nous a pas permis de mettre en évidence l'ordre de la réaction. Je n'ai donc pas pu calculer de constante de dissipation ni de durée de demi-vie. Cependant, à la surface du maïs, la disparition de la sulcotrione se fait en deux temps : elle est rapide pendant la première heure d'irradiation puis elle se poursuit plus lentement.

La nature de l'espèce végétale traitée influence donc la vitesse de dissipation de la sulcotrione à sa surface qui peut être due à deux phénomènes principaux : la phototransformation et la diffusion dans la cuticule (voir figure III.39).



(a) Pourcentage de sulcotrione formulée restant à la surface de la feuille traitée en fonction du temps d'irradiation



(b) Evolution du logarithme du rapport C_t/C_0 pour la sulcotrione dans Mikado en fonction du temps d'irradiation

Figure III.40: Cinétiques de disparition de la sulcotrione à la surface des feuilles traitées au cours de l'exposition dans la chambre climatique, $C_{sulcotrione}=400-500$ g/ha, $T=20^\circ\text{C}$, $RH=50\%$, $v_{vent}=1$ m/s, **lampe allumée**.

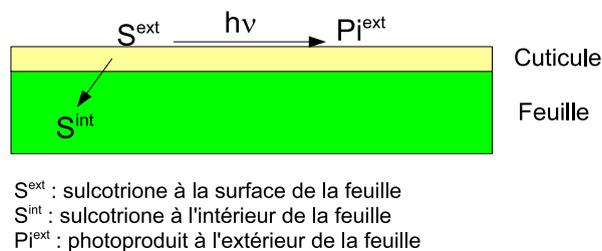


Figure III.39: Devenir de la sulcotrione à la surface de la feuille traitée

Diffusion

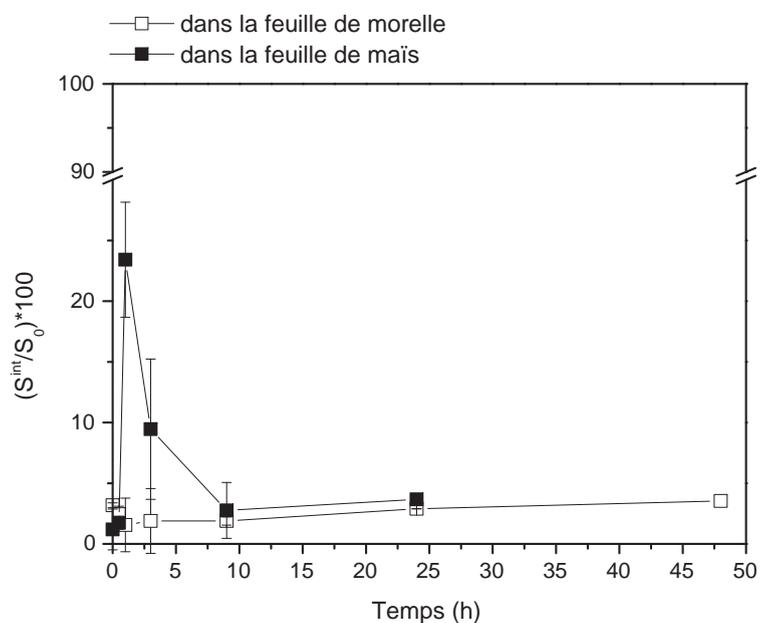
Dans un premier temps, nous allons considérer la diffusion de la sulcotrione dans la feuille traitée. Grâce à l'extraction des feuilles traitées et rincées nous avons pu suivre l'évolution de la quantité de sulcotrione à l'intérieur des feuilles.

La figure III.41a page suivante présente l'évolution de la quantité de sulcotrione à l'intérieur de la feuille traitée au cours de la manipulation à la lumière dans la chambre climatique. Les valeurs sont reportées en pourcentage de sulcotrione extraite des plantes, par rapport à la quantité initiale appliquée.

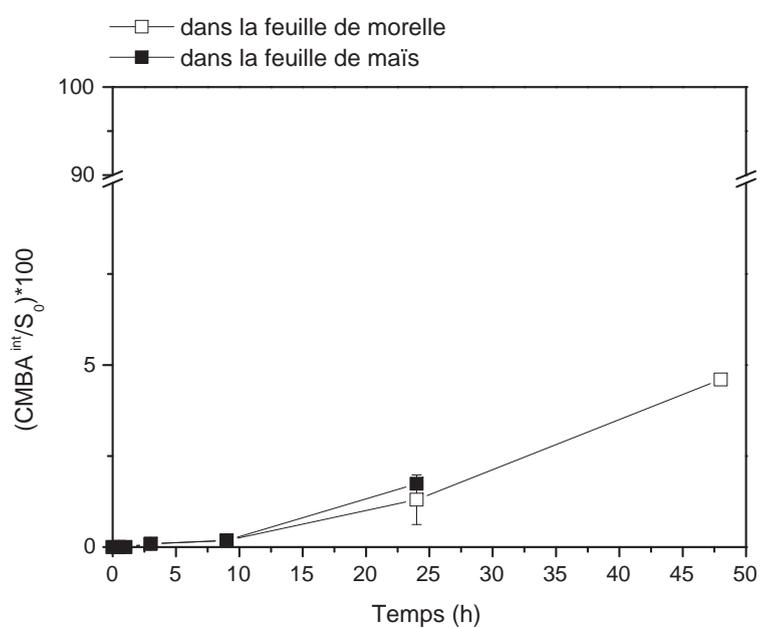
L'évolution de la quantité de sulcotrione à l'intérieur de la feuille de maïs est irrégulière. Elle atteint une valeur maximale de 25% après 1 heure, avant de diminuer jusqu'à 5%, 24 heures après le début de l'expérience. Dans la feuille de morelle, la quantité de sulcotrione détectée ne suit pas le même profil. Elle varie peu au cours du temps, passant de 2 à 4% entre 30 minutes et 48 heures.

Nous avons été surpris par ces résultats. La morelle étant sensible à la sulcotrione et ne la détoxifiant pas, nous nous attendions à retrouver plus de sulcotrione dans la morelle que dans le maïs. Nous avons dans un premier temps envisagé la possibilité d'une métabolisation de la sulcotrione dans la feuille de maïs. D'après la littérature, le maïs est en effet capable de détoxifier l'herbicide en CMBA. Il était donc nécessaire de déterminer l'évolution de la quantité de CMBA à l'intérieur des feuilles entre 1 heure et 10 heures.

La figure III.41b page suivante montre le suivi de la quantité de CMBA dans la feuille au cours de l'irradiation. Après 24 heures, la quantité de CMBA dans le maïs n'atteint que 2% de la quantité de sulcotrione initiale. La diminution de la quantité de sulcotrione dans le



(a) Suivi de la quantité de sulcotrione dans les feuilles traitées



(b) Suivi de la quantité de CMBA dans les feuilles traitées

Figure III.41: Suivi de la sulcotrione et du CMBA dans les feuilles traitées au cours de l'irradiation dans la chambre climatique, $C_{sulcotrione}=400-500$ g/ha, $T=20^\circ\text{C}$, $RH=50\%$, $v_{vent}=1$ m/s, **lampe allumée.**

maïs entre 1 heure et 10 heures (voir figure III.41a page suivante) n'est donc pas corrélée à une augmentation de la quantité de CMBA à l'intérieur de la feuille. **La sulcotrione n'est pas métabolisée de manière significative dans le maïs au cours des 24 heures de l'expérimentation.**

Nous avons vu précédemment que la sulcotrione n'était pas transloquée dans le maïs. La littérature nous donne un autre élément de réponse pour expliquer la variation de sulcotrione à l'intérieur des feuilles. Riederer *et al.* [18] a montré que la diffusion de *xénobiotiques* à travers la cuticule d'une plante est un processus lent. Or, la cuticule du maïs est plus épaisse que la cuticule de la morelle noire. Nous pensons que la sulcotrione détectée à l'intérieur de la feuille de maïs est en fait stockée dans la couche cuticulaire. La sulcotrione diffuserait dans la cuticule du maïs au début de l'expérience, ce qui augmenterait dans un premier temps la quantité de sulcotrione à l'intérieur. C'est ce que l'on observe sur la figure III.41a page suivante.

Ensuite, entre 1 heure et 10 heures, la quantité de sulcotrione dans la plante diminue. Au cours de l'irradiation, j'ai remarqué un ramollissement de la feuille qui rend la cuticule plus facilement extractible, même avec la solution tampon. Ceci expliquerait la diminution rapide de sulcotrione à l'intérieur des feuilles traitées entre 1 heure et 10 heures puisqu'elle se retrouverait dans le premier rinçage. Elle apparaîtrait alors comme de la sulcotrione sorbée à la surface de la feuille. Ce phénomène de ramollissement est attribuable la transpiration de la plante, ou à l'effet des agents de formulation.

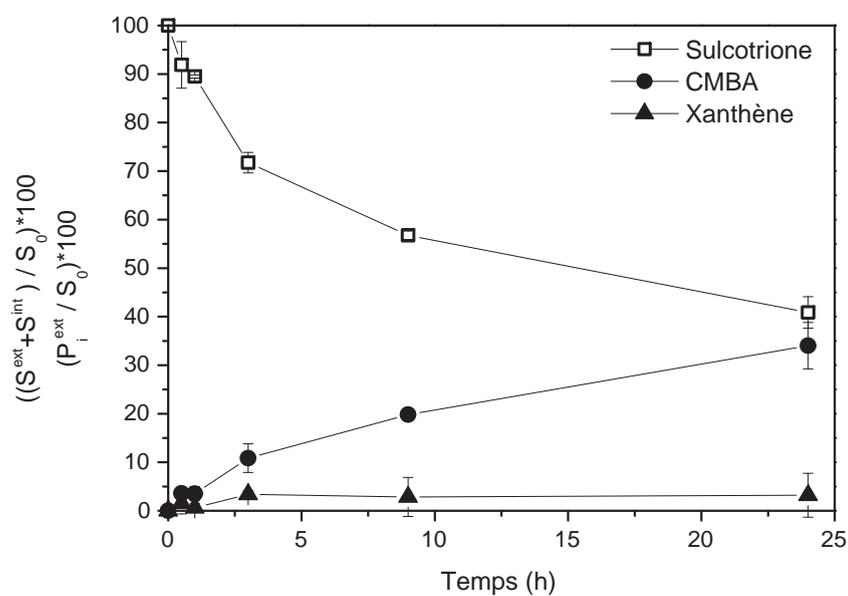
La diffusion de la sulcotrione dans la cuticule des feuilles est un phénomène de négligeable sur la morelle noire. En revanche, elle représente 20% des pertes de sulcotrione sur le maïs.

Phototransformation

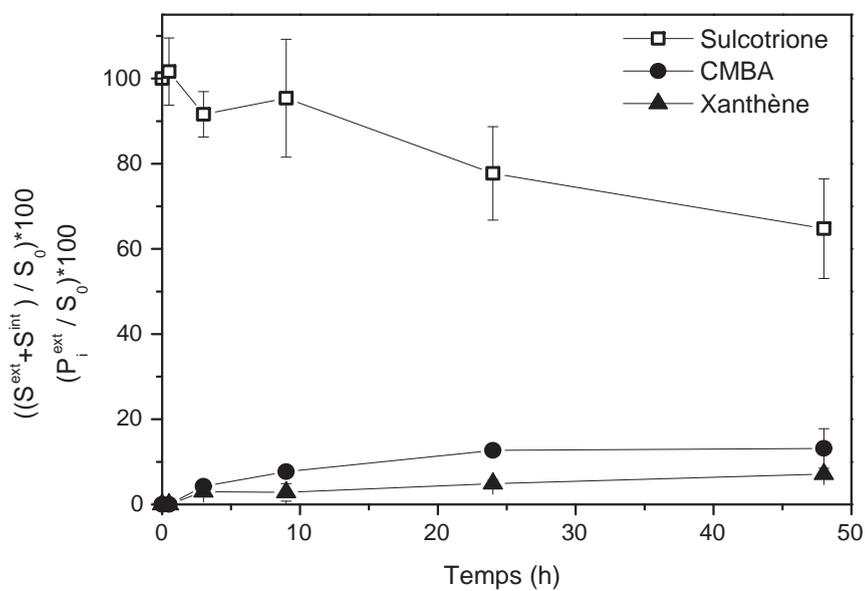
Nous avons vu précédemment que la volatilisation, la translocation et la métabolisation de la sulcotrione radiomarquée sont des phénomènes négligeables dans les conditions expérimentales. La dissipation de la sulcotrione à la surface des feuilles, est donc la combinaison de la diffusion dans la cuticule et de la phototransformation.

Afin d'évaluer la part de la phototransformation nous avons fait deux hypothèses. Premièrement, nous supposons que la phototransformation n'a lieu qu'à la surface de la cuticule. D'après Solovchenko et al. [95], la cuticule atténue en effet la pénétration des UV-B (280-315 nm) dans la plante grâce à différents composés présents dans la cire. Deuxièmement, nous supposons que les photoproduits ne diffusent pas de manière significative dans la cuticule au cours du temps. En effet, nous n'avons pas détecté de xanthène à l'intérieur de la plante même après 48 heures d'expérimentation.

Les figures III.42a et III.42b page suivante présentent le suivi de la phototransformation de la sulcotrione et de l'apparition du CMBA et du xanthène au cours de l'irradiation dans la chambre climatique. Les données sont présentées en pourcentage de sulcotrione appliquée. Pour le xanthène et le CMBA, nous nous sommes servis de la quantité détectée à la surface des feuilles (désignés par P_i^{ext} sur la figure III.35). Pour la sulcotrione, j'ai utilisé la quantité restante à la surface et à l'intérieur des feuilles traitées ($S^{\text{ext}} + S^{\text{int}}$ sur la figure III.35 page 118). Ceci m'a permis de m'affranchir de la diffusion de l'herbicide dans la cuticule de la plante. Ainsi, les courbes de la figure III.42 page suivante correspondent à la disparition de la sulcotrione par phototransformation uniquement. Environ 60% de la sulcotrione s'est photolysée en 24 heures sur les feuilles de maïs et 20% seulement sur les feuilles de morelle.



(a) Feuille de maïs



(b) Feuille de morelle

Figure III.42: Suivi de la phototransformation de la sulcotrione et de l'apparition du xanthène et du CMBA au cours de l'exposition dans la chambre climatique, $C_{\text{sulcotrione}}=400\text{-}500$ g/ha, $T=20^{\circ}\text{C}$, $\text{RH}=50\%$, $v_{\text{vent}}=1$ m/s, **lampe allumée**.

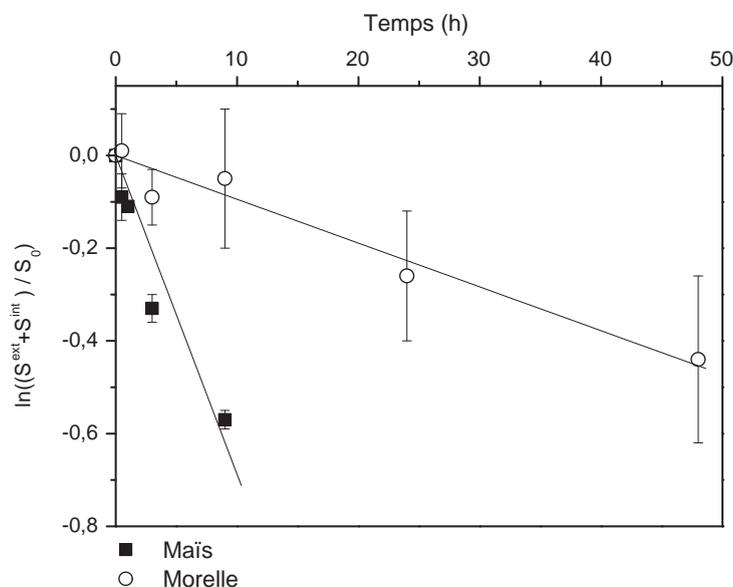


Figure III.43: Mise en évidence de l'ordre 1 apparent pour la réaction de phototransformation de la sulcotrione sur les plantes au cours de l'exposition dans la chambre climatique, $C_{sulcotrione}=400-500$ g/ha, $T=20^{\circ}\text{C}$, $\text{RH}=50\%$, $v_{vent}=1$ m/s, **lampe allumée**

La courbe III.43 montre que la cinétique de photolyse de la sulcotrione sur les feuilles de morelle est d'ordre 1 apparent jusqu'à 48 heures. La constante calculée a une valeur de $2,6 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1} \pm 40\%$. La durée de demi-vie est de 3 jours pour une exposition continue et $k_{dissipation}=k_{dissphototransformation}$ pour la morelle noire. Pour le maïs, la cinétique est d'ordre 1 apparent sur les premiers points expérimentaux, jusqu'à 10 heures d'irradiation. La constante calculée a une valeur de $1,9 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1} \pm 50\%$, ce qui correspond à une durée de demi-vie de 19 heures.

Si l'on compare ces résultats avec ceux obtenus sur les cires, on remarque que : $k_{maïs}=2 \times k_{paraffine}$, alors que sur le vivant : $k_{maïs}=10 \times k_{morelle}$. L'ordre de réactivité est donc le même sur les cires et sur les feuilles, en revanche, on n'explique pas le facteur 10 sur les feuilles.

Les processus de dissipation mis en évidence par cette étude sur les plantes sont résumés à la figure III.44 page suivante. La phototransformation est le principal phénomène qui intervient dans la dissipation de la sulcotrione à la surface des feuilles de morelle. Sur les feuilles de maïs, les phénomènes de phototransformation et de diffusion dans la couche cuticulaire sont en compétition. La phototransformation représente malgré tout plus de 80% des pertes de sulcotrione à la surface des feuilles traitées. L'importance des processus photochimiques intervenant à la sur-

face des feuilles traitées est corroborée par la présence de xanthène, photoproduit sélectif de la sulcotrione.

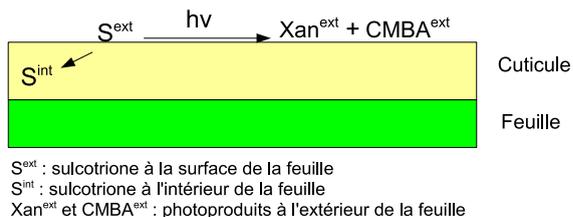


Figure III.44: Mécanismes de dissipation de la sulcotrione sur les feuilles traitées

5 Discussion

L'étude de la sulcotrione pure et dans Mikado a été menée à différentes échelles. J'ai effectué des études sur des films de cire en Suntest, sur des plantes entières dans une chambre climatique et une étude au champ a été réalisée par une personne du laboratoire. Les constantes de phototransformation obtenues sont présentées dans le tableau III.4 page suivante.

Grâce aux études au laboratoire sur les films de cire, nous avons montré que les additifs de Mikado accélèrent la photolyse de la sulcotrione. Sur les films de cire de maïs, la durée de demi-vie est multipliée par 2 passant de 1 heure à 30 minutes. La phototransformation de la sulcotrione pure et dans Mikado est donc rapide à la surface des cires. Quant à l'influence de la composition de la cire, nous avons montré que les cinétiques sur les deux types de cire étudiées étaient significativement différentes puisque la phototransformation sur la cire de maïs est deux fois plus rapide que sur la cire de paraffine.

L'étape suivante a consisté à étudier le devenir de Mikado dopé en sulcotrione radiomarquée à la surface de plantes entières de maïs et de morelle noire. Grâce au radiomarquage nous avons effectué un bilan global sur les deux espèces végétales et mis en évidence plusieurs phénomènes :

- une petite partie de la sulcotrione est perdue par translocation dans la morelle noire ;
- jusqu'à 20% de la sulcotrione appliquée diffuse dans la cuticule du maïs ;
- la principale voie de dissipation de la sulcotrione sur les plantes entières reste la phototransformation, qui compte pour plus de 80% des pertes ;
- la vitesse de photolyse de la sulcotrione est dix fois plus importante sur le maïs que sur la morelle noire.

Les conditions expérimentales pour les études sur les films de cire et sur les plantes entières étaient très différentes, nous ne pouvons donc pas comparer directement les valeurs obtenues dans les deux cas. Toutefois, on remarque que la différence de réactivité observée entre les cires de maïs et de paraffine est respectée sur les feuilles de maïs et de morelle. Si cette différence de réactivité est respectée en milieu naturel, ce résultat est plutôt encourageant quant à l'efficacité du traitement au champ. La sulcotrione pulvérisée à la surface des feuilles de morelle, cible du traitement herbicide, serait photodissipée moins rapidement que sur les feuilles de maïs.

Enfin, une étude au champ réalisée par Ter Halle et al. [87] avait montré la rapidité de la phototransformation de la sulcotrione après la pulvérisation dans les conditions agricoles sur le maïs. Malgré la différence de concentration entre la manipulation en chambre climatique et l'expérimentation au champ, les constantes de dissipation sont du même ordre de grandeur.

D'un point de vue qualitatif, nous avons pu suivre la formation de deux photoproduits

majoritaires à la surface des films et sur les plantes. J'ai montré que la formation du xanthène dépend de la chimie du support. La sélectivité est plus importante sur la cire de maïs que sur les films de paraffine. Pour ces études la quantité de CMBA détectée était faible. En revanche, sur les plantes traitées avec Mikado dopé à la sulcotrione radiomarquée, la sélectivité était inversée : la quantité de xanthène est très faible alors que la quantité de CMBA est beaucoup plus importante. Nous pensons que la distribution spectrale de la lampe, notamment dans le domaine des ultraviolets, pourrait avoir une influence sur la formation des photoproduits. Ce point reste à élucider pour les études à venir.

Support	Substrat	k_{app} (s^{-1})	k/k_{ref}	$t_{\frac{1}{2}}$
Suntest				
Cire de maïs	Sulcotrione (400 g/ha)	$1,7 \times 10^{-4}$	k_{ref}	1 h
Cire de maïs	Mikado (400 g/ha)	$4,1 \times 10^{-4}$	2,4	30 min
Cire de paraffine	Mikado (400 g/ha)	$1,6 \times 10^{-4}$	0,9	1 h
Chambre climatique				
Morelle (plante)	Mikado dopé (400 g/ha)	$2,6 \times 10^{-6}$	0,02	3 j
Maïs (plante)	Mikado dopé (400 g/ha)	$1,9 \times 10^{-5}$	0,1	19 h
Champ de maïs				
Maïs (plante)	Mikado (225 g/ha)	$2,6 \times 10^{-5}$ [87]	0,2	8 h

Tableau III.4: Tableau récapitulatif des constantes apparentes de phototransformation de la sulcotrione pure et formulée sur les supports étudiés à 550 W/m^2

6 Conclusion de l'étude des herbicides tricétoniques

Les deux tricétones étudiées ne sont pas appliquées aux mêmes doses dans l'agriculture. Le tableau III.5 regroupe les constantes de phototransformation de la mésotrione et de la sulcotrione aux concentrations de 110 g/ha et 400 g/ha. Les conclusions exposées ici sont donc valables pour la comparaison des tricétones à leur dose agricole respective.

Malgré leur structure chimique très proche, la vitesse de photolyse de la sulcotrione est dix fois plus importante que celle de la mésotrione. Leur durée de demi-vie sont de 1 heure et 14 heures respectivement à la surface de la cire de maïs. Il semble que le groupement nitro de la mésotrione, substitué par un chlore sur la sulcotrione, diminue la photosensibilité de la mésotrione. D'autre part, les mécanismes de photolyse donnent naissance à des photoproduits différents. La sulcotrione subit principalement une photocyclisation intramoléculaire conduisant à la formation du xanthène avec une sélectivité importante. La mésotrione se transforme par photohydrolyse et photoréduction. La photocyclisation n'est dans ce cas qu'un processus mineur.

Aux concentrations agricoles, les additifs des formulations commerciales accélèrent la phototransformation de la sulcotrione et de la mésotrione. De plus, la vitesse de photolyse de Mikado à la surface de la cire de maïs est supérieure à celle de Callisto.

Support	Substrat	k_{app} (s^{-1})	k/k_{ref}	$t_{\frac{1}{2}}$
Suntest				
Cire de maïs	Mésotrione (110 g/ha)	$1,3 \times 10^{-5}$	k_{ref}	14 h
Cire de maïs	Sulcotrione (400 g/ha)	$1,7 \times 10^{-4}$	13	1 h
Cire de maïs	Callisto (110 g/ha)	$8,1 \times 10^{-5}$	6,2	2 h 20 min
Cire de maïs	Mikado (400 g/ha)	$4,1 \times 10^{-4}$	31	30 min
Cire de paraffine	Mikado (400 g/ha)	$1,6 \times 10^{-4}$	12	1 h
Conditions extérieure				
Maïs (plante)	Callisto (110 g/ha)	$2,3 \times 10^{-6}$	0,2	33 h
Chambre climatique				
Maïs (plante)	Mikado (400 g/ha)	$1,9 \times 10^{-5}$	1,5	19 h
Morelle (plante)	Mikado (400 g/ha)	$2,6 \times 10^{-6}$	0,2	3 j

Tableau III.5: Tableau récapitulatif des constantes apparentes de phototransformation des tricétones pures et formulées sur les supports étudiés

Les études sur les plantes n'ont pas été effectuées dans les mêmes conditions climatiques

pour les deux tricétones formulées. Pour la photodissipation de Mikado en chambre climatique et celle de Callisto en extérieur, les durées de demi-vie calculées sont de 10 heures pour Mikado sur le maïs et 33 heures pour Callisto sur le maïs pour une irradiation continue. D'après les résultats de ces études sur plantes, la phototransformation des phytosanitaires à la surface des feuilles est un phénomène de dissipation important dans l'environnement.

L'ordre de réactivité sur les plantes correspond à l'ordre de réactivité observé pour les films de cire puisque nous avons vu que Mikado se phototransformait plus rapidement que Callisto. Les études au laboratoire sur les films de cire fournissent donc une première approche pour les études du devenir des pesticides formulés sur les plantes.

Chapitre IV

Dissipation des insecticides pyréthrinoïdes

1 Introduction bibliographique

Les *pyréthrines* synthétiques ont été développées à partir de molécules naturelles extraites des fleurs de chrysanthèmes, qui ont elles-mêmes été utilisées pendant plusieurs centaines d'années pour leurs propriétés insecticides [96]. Les pyréthrines sont des neurotoxiques puissants qui agissent sur le système nerveux central provoquant la paralysie et la mort de l'insecte cible [97].

L'inconvénient des premiers principes actifs isolés était leur instabilité à la lumière, ce qui a restreint dans un premier temps leur utilisation en agriculture. Leur application principale était alors la protection des réserves de céréales [96]. Des recherches ont permis de remplacer les centres photolabiles de ces pyréthrines par d'autres unités chimiques améliorant ainsi leur photostabilité tout en conservant l'activité insecticide. Le fenvalérate, le premier de cette famille à être photostable, est né en 1976. La cyperméthrine et la deltaméthrine ont suivi, en 1977. Suite aux restrictions de l'EPA concernant l'utilisation des insecticides organophosphorés [98] en 1999, l'utilisation des pyréthrines s'est développée. Elles sont aujourd'hui encore d'utilisation courante en agriculture, chez les particuliers pour contrôler les envahisseurs et dans le domaine de la santé publique pour lutter contre les maladies causées par des hôtes intermédiaires [98].

1.1 Caractéristiques des pyréthrines étudiées

Les molécules de la famille des pyréthrines présentent trois centres chiraux. Elles sont commercialisées et utilisées sous forme de l'isomère le plus actif ou comme un mélange d'isomères contenant de 2 à 8 stéréoisomères [96]. Nous avons centré notre travail sur deux pyréthrines très lipophiles [99] : la cyperméthrine et la deltaméthrine dont les structures chimiques sont présentées à la figure IV.1. Elles sont commercialisées sous de nombreux noms correspondant à des formulations différentes. Cyplan et Decis Protech, les mélanges étudiés de la cyperméthrine et de la deltaméthrine se présentent respectivement sous forme d'un *concentré émulsionnable* et d'une *émulsion concentrée* [100].

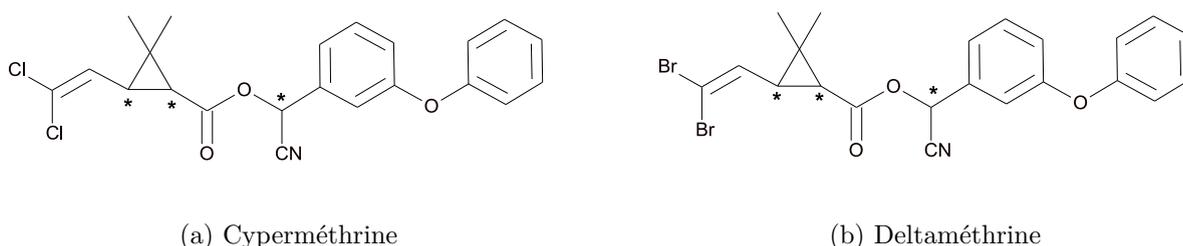


Figure IV.1: Structure chimique des pyréthrines étudiées

Ces deux insecticides sont utilisés indifféremment dans l'agriculture pour lutter contre la pyrale du maïs (*Ostrinia nubilalis*) dont la chenille consomme tiges, feuilles et épis, provoquant des pertes de rendement allant jusqu'à 40% [101]. De plus, la perforation des organes de la plante par les larves de la pyrale favorise le développement de champignons parasites comme les fusarioses augmentant encore les pertes. Les pyréthrines sont des insecticides *de contact* : une fois que la larve est à l'intérieur de la tige du maïs, le traitement devient inefficace. Le stade de traitement du maïs par les pyréthrines dépend donc du développement de l'insecte cible : la pulvérisation doit impérativement être effectuée lors du stade baladeur de la larve, c'est à dire lorsque la chenille se nourrit à la surface des feuilles. Ce stade dure de 3 à 7 jours. Pour optimiser le traitement insecticide, les applications sont renouvelées tous les mois si l'insecte continue de proliférer. En général, la pulvérisation intervient à un stade de développement avancé du maïs et les plantes sont déjà grandes (voir figure IV.2 page suivante).

1.2 Devenir des pyréthrines dans l'environnement

Les pyréthrines sont très persistantes dans l'environnement en raison de leur stabilité moléculaire et du type de formulation utilisé, qui augmente encore leur résistance à la dissipation [102]. De plus, en raison de leur forte lipophilicité, les pyréthrines de synthèse sont généra-



Figure IV.2: Traitement du maïs par les pyréthrines

lement associées aux particules solides ou aux composés organiques dans l'environnement [103]. Cette association les rend réfractaires aux processus de dégradation. Leur dissipation provient principalement de processus physiques comme les phénomènes de dérives au cours de la pulvérisation ou d'entraînement par la pluie après l'application [97].

Sur les sols

La vitesse de dissipation des pyréthrines sur les sols est influencée par la composition et le taux de matière organique des sols. Les durées de demi-vie varient de 30 à 100 jours en moyenne [97]. Pour la deltaméthrine, sa persistance est comprise dans une fourchette de 10 à 25 jours. Elle est inférieure sur des sols soumis aux climats tropicaux [104].

Pour la cyperméthrine, je n'ai pas trouvé de données spécifiques concernant son devenir sur les sols.

Dans les eaux de surface et les sédiments

Peu d'études du devenir des pyréthrines dans les eaux de surface ont été réalisées en raison de leur faible solubilité (de 0,002 mg/l pour la deltaméthrine à 0,004 mg/l pour la cyperméthrine). Ces molécules hydrophobes s'adsorbent fortement sur les particules en suspension ou les sédiments [97] et leur biodisponibilité s'en trouve réduite.

Dans l'air

Guth *et al.* [8] ont mis en évidence, grâce à l'étude de nombreux pesticides, une corrélation importante entre la volatilisation des principes actifs à la surface des feuilles et leur pression de vapeur saturante. La volatilisation des molécules ayant des pressions de vapeur inférieures à 1×10^{-4} Pa est faible. Les pressions de vapeur saturante des deux pyréthrines étudiées sont supérieures à cette valeur : $3,1 \times 10^{-4}$ Pa pour la cyperméthrine et $1,5 \times 10^{-3}$ Pa pour la deltaméthrine. La volatilisation de ces molécules à la surface des feuilles est donc un processus à considérer dans les études de dissipation dans l'environnement.

Sur les surfaces solides

Selon Fernandez-Alvarez *et al.* [99], la phototransformation en lumière solaire des pyréthrines sorbées sur du PDMS permettait de les classer par ordre de photostabilité : la cyperméthrine est plus stable à la lumière que la deltaméthrine. Cette différence de photoréactivité s'explique par la nature des substituants : les pyréthrines bromo-substituées sont plus photolabiles que les chloro-substituées comme la cyperméthrine (voir figure IV.1 page 136).

La dissipation des pyréthrines de synthèse à la surface des végétaux après pulvérisation a été étudiée par plusieurs auteurs. Deux principaux mécanismes sont en compétition : la diffusion du principe actif lipophile dans la cuticule [31] et sa phototransformation. La dissipation du fenpropathrin sur les feuilles de mandarine orange est principalement due à sa diffusion dans la cuticule [31]. La phototransformation est un mécanisme important pour la cyperméthrine et la deltaméthrine sur les feuilles. La réaction conduit au clivage de la fonction ester et à l'isomérisation cis/trans de la double liaison [105, 65] qui passent par un état excité triplet [106]. Ce processus a été observé notamment par Cole *et al.* [107] sur les feuilles de coton et de haricots. La décarboxylation photoinduite semble aussi être un mécanisme majeur de phototransformation des pyréthrines sur les surfaces végétales [108, 109, 110].

Les insecticides pyréthrinoïdes ont donc fait l'objet d'études plus complètes que les herbicides tricétoniques en raison de l'ancienneté des molécules. Cependant, aucune étude comparative de l'effet des additifs sur la phototransformation des pyréthrines n'a été effectuée. De plus, la part des différents phénomènes de dissipation à la surface des feuilles est difficilement quantifiable et dépend des molécules étudiées.

2 Introduction au travail expérimental

Les pyréthrines sont des molécules très hydrophobes, donc très peu solubles dans l'eau. Contrairement aux tricétones étudiées, elles ne possèdent pas de protons labiles. Il a fallu adapter la technique de resolubilisation des molécules à la surface des films pour les analyses après l'irradiation. Pour cela, nous avons utilisé un mélange d'acétonitrile et d'eau. Or, les films de cire peuvent être partiellement solubilisés par les solvants organiques. Dans un premier temps, j'ai donc effectué les études de photolyse des pyréthrines pures et formulées sur le verre. Nous avons complété cette approche par l'étude d'un additif supplémentaire, communément ajouté avant le traitement au champ. Dans un second temps, je présenterai une première approche pour l'étude de la phototransformation de ces molécules sur la cire de maïs. Enfin, nous avons eu l'opportunité de faire traiter un champ de maïs par la cyperméthrine et la deltaméthrine dans les conditions réelles d'utilisation.

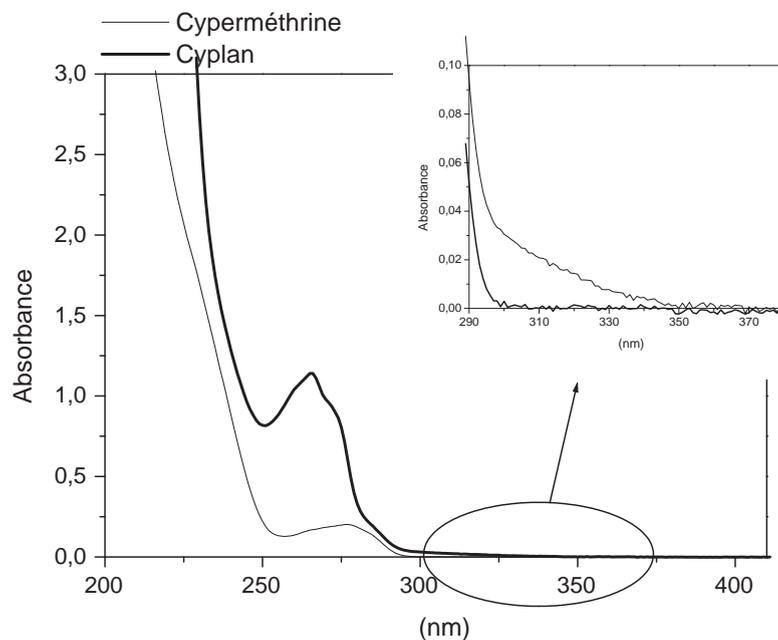
Qu'il s'agisse des manipulations avec les pyréthrines pures ou les formulations commerciales, sur le verre ou sur la cire de maïs, les concentrations recommandées pour le traitement agricole ont été respectées. La cyperméthrine et le Cyplan ont été appliqués à une dose 75 g de matière active par hectare. Pour la deltaméthrine et le Decis, la dose appliquée était de 20 g/ha. La puissance du Suntest a été fixée à 550 W/m².

3 Caractéristiques spectrales

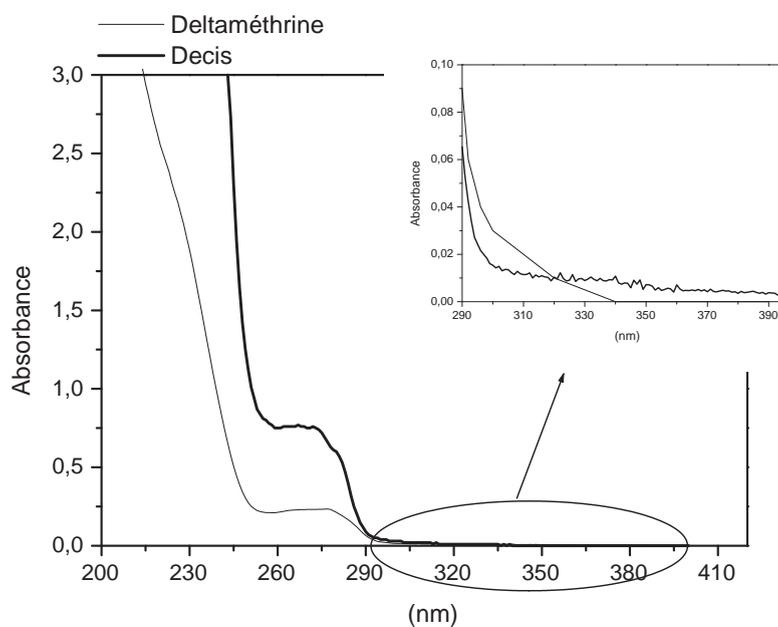
3.1 Cyperméthrine et Cyplan

La figure IV.3a page suivante présente les spectres d'absorption de la cyperméthrine et du Cyplan en solution dans un mélange équivolumique d'eau et d'acétonitrile. La solution de cyperméthrine présente un maximum d'absorption autour de 276 nm. Son coefficient d'extinction molaire à cette longueur d'onde est de $2000 \pm 50 \text{ M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$. Pour avoir une bonne sensibilité lors des analyses par chromatographie liquide, la longueur d'onde de détection a été fixée à 225 nm pour les analyses par chromatographie liquide. Le coefficient d'extinction molaire à cette longueur d'onde est alors de $20700 \pm 500 \text{ M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$.

La cyperméthrine n'absorbe pas la lumière au-delà de 300 nm alors que la solution de Cyplan absorbe jusqu'à 350 nm. Le mélange commercial contient donc des formulants qui absorbent la lumière dans la portion actinique du spectre solaire, entre 290 et 310 nm.



(a) Spectres d'absorption de la cyperméthrine et du Cyplan



(b) Spectres d'absorption de la deltaméthrine et du Decis

Figure IV.3: Spectres d'absorption des pyréthrines pures et formulées en solution dans un mélange eau / acétonitrile, $C_{\text{pyréthrine}}=1 \times 10^{-4}$ M

3.2 Deltaméthrine et Decis

La figure IV.3b page précédente présente les spectres d'absorption de la deltaméthrine et du Decis en solution dans un mélange équivolumique d'eau et d'acétonitrile. Les deux solutions présentent un maximum d'absorption à 270 nm. Le coefficient d'extinction molaire de la deltaméthrine à cette longueur d'onde est de $2300 \pm 50 \text{ M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$. Comme dans le cas de la cyperméthrine, la longueur d'onde de détection a été fixée à 225 nm. La valeur du coefficient d'extinction molaire à cette longueur d'onde est de $22500 \pm 500 \text{ M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$.

Ces spectres d'absorption montrent que la deltaméthrine et le Decis absorbent faiblement la lumière dans le domaine du spectre solaire, c'est-à-dire au-delà de 290 nm.

4 Phototransformation des pyréthrines sur le verre

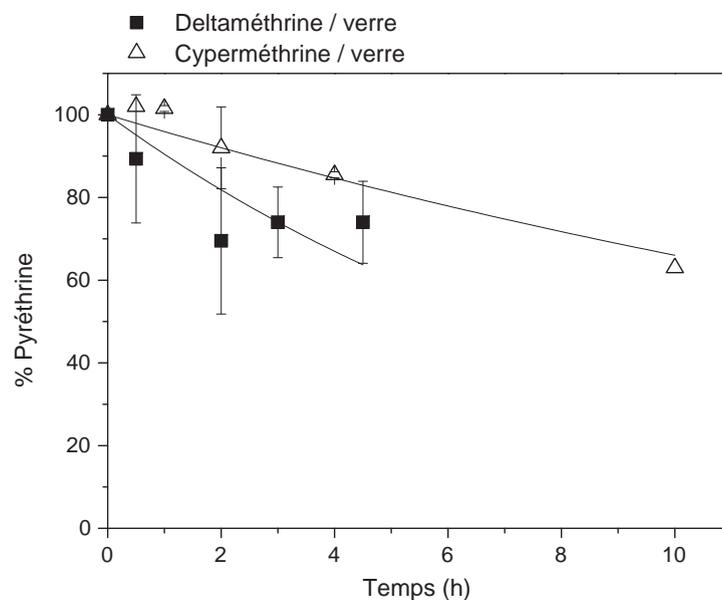
Nous avons, dans un premier temps, comparé la photoréactivité des deux pyréthrines pures à la surface du verre. Les cristallisoirs ont été soigneusement nettoyés à l'éthanol, puis à l'eau distillée avant l'application des pyréthrines, pour éviter tout phénomène de pollution des échantillons.

4.1 Pyréthrines pures

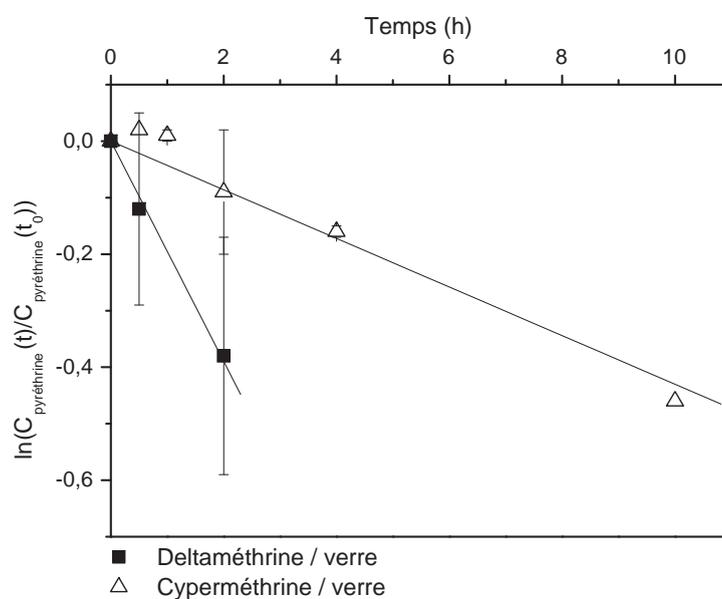
La figure IV.4a page suivante présente le suivi du pourcentage de pyréthrine restant à la surface du verre au cours de l'irradiation en Suntest à 550 W/m^2 . Après 2 heures d'irradiation, 8% de la cyperméthrine et plus de 20% de la deltaméthrine ont été phototransformés.

La cyperméthrine et la deltaméthrine ont un comportement photochimique différent. Pendant les deux premières heures, la disparition de la deltaméthrine est plus rapide que celle de la cyperméthrine. Au-delà, la photolyse de la deltaméthrine semble inhibée alors que pour la cyperméthrine, elle se poursuit de façon régulière pendant les dix heures de l'expérimentation.

La figure IV.4b page suivante montre que la photolyse de la cyperméthrine suit une loi cinétique du pseudo-premier ordre et la droite de régression linéaire a été tracée sur les dix heures de l'expérimentation. En revanche, la phototransformation de la deltaméthrine pure ne suit une loi de pseudo premier ordre que sur les premiers points expérimentaux.



(a) Pourcentage de pyréthrine restant dans le cristalliseur en fonction du temps



(b) Evolution du logarithme du rapport C_t/C_0 pour les pyréthrines en fonction du temps

Figure IV.4: Suivi de la disparition des pyréthrines pures à la surface du verre au cours de l'irradiation en Suntest à 550 W/m^2 , $C_{\text{deltaméthrine}}=20 \text{ g/ha}$, $C_{\text{cyperméthrine}}=75 \text{ g/ha}$.

Les constantes de vitesse et les durées de demi-vie ont les valeurs suivantes :

- pour la deltaméthrine : $k_{app}=5,4 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1} \pm 47\%$ et $t_{1/2}= 3$ heures et 30 minutes ;
- pour la cyperméthrine : $k_{app}=1,2 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1} \pm 30\%$ et $t_{1/2}= 16$ heures pour une exposition continue.

L'inhibition de la réaction de photolyse observée dans le cas de la deltaméthrine pourrait être due à deux phénomènes :

1. un phénomène d'origine physique : l'agrégation des cristaux de deltaméthrine qui empêcherait la photolyse des molécules non exposées à la lumière ;
2. un phénomène d'origine chimique : l'apparition de photoproduits spécifiques de la deltaméthrine, qui ralentirait la transformation de cette dernière. Nous avons tenté d'identifier les éventuelles photoproduits de ces deux pyréthrines. Les concentrations utilisées étant très faibles, il ne nous a pas été possible de détecter les photoproduits par la chromatographie liquide à détection UV-visible. Les essais par spectrométrie de masse ont été infructueux car ces molécules ne se fragmentent pas dans les conditions analytiques appliquées sur l'appareil que nous avons à disposition.

4.2 Formulations commerciales

Nous avons ensuite évalué la vitesse de photolyse des pyréthrines dans leur formulation commerciale respective. Pour évaluer l'effet des additifs, nous avons superposé ces cinétiques aux courbes que nous avons tracées pour la disparition des molécules pures sur le verre.

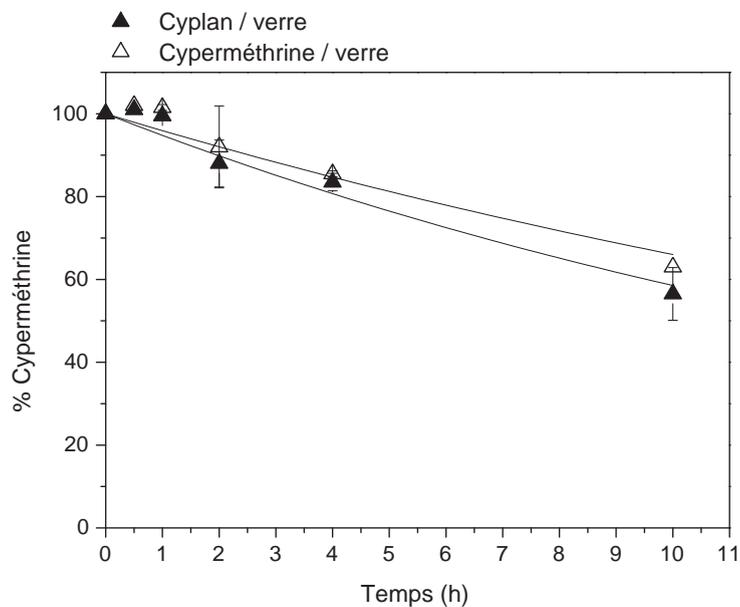
A. Cyplan

La figure IV.5a page suivante présente la superposition des courbes de disparition de la cyperméthrine pure (présentée à la page 142) et dans le Cyplan sur le verre lors de l'irradiation en Suntest à 550 W/m^2 . Après dix heures, 35% de la cyperméthrine et 45% du Cyplan se sont phototransformés.

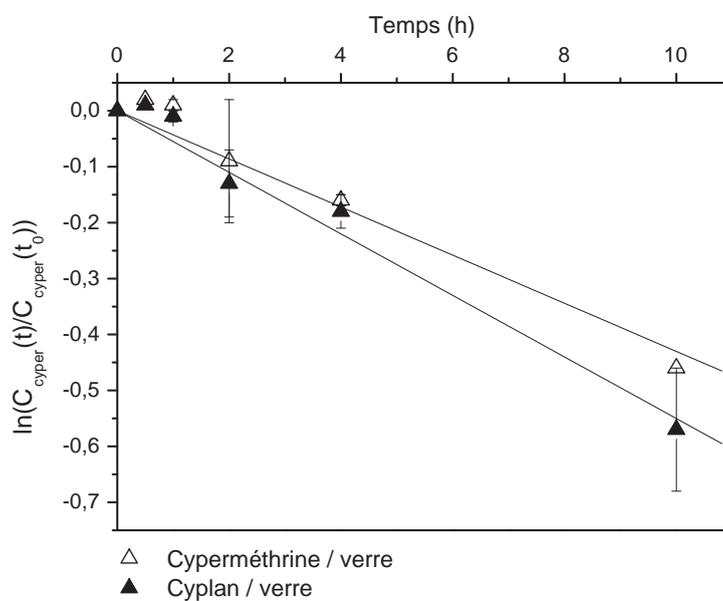
La figure IV.5b page suivante montre que la photolyse de la cyperméthrine et du Cyplan suit une loi cinétique du pseudo-premier ordre. Les constantes de vitesse et les durées de demi-vie ont les valeurs suivantes :

- pour la cyperméthrine pure : $k_{app}=1,2 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1} \pm 30\%$ et $t_{1/2}=16 \text{ h}$;
- pour la cyperméthrine dans le Cyplan : $k_{app}=1,5 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1} \pm 20\%$ et $t_{1/2}=13 \text{ h}$.

Un test d'hypothèse effectué sur ces deux constantes a permis de conclure qu'elles sont significativement différentes au seuil de 5%.



(a) Pourcentage de cyperméthrine restant dans le cristalliseur en fonction du temps



(b) Evolution du logarithme du rapport C_t/C_0 pour la cyperméthrine en fonction du temps

Figure IV.5: Suivi de la disparition de la cyperméthrine pure et dans le Cyplan à la surface du verre au cours de l'irradiation en Suntest à 550 W/m^2 , $C_{\text{cyperméthrine}}=75 \text{ g/ha}$.

La disparition du cyperméthrine formulée sur le verre est plus rapide que celle de la cyperméthrine pure : les additifs de la formulation commerciale accélèrent faiblement la phototransformation de la cyperméthrine.

Nous savons que le Cyplan est un *concentré émulsionnable* : il contient donc des tensio-actifs. Cependant, comme dans le cas du Callisto ou du Mikado, nous ne connaissons pas la composition exacte de la formulation. Il nous est donc difficile d'expliquer l'accélération de la phototransformation de la cyperméthrine dans le Cyplan. Les additifs de la formulation peuvent avoir plusieurs effets :

- un effet accélérateur induit par l'étalement de la formulation, qui favoriserait l'interaction lumière-pesticide ;
- un effet photoinducteur ou un effet d'écran dus à un additif qui absorberait la lumière (voir spectre d'absorption page 140) ;
- un effet inhibiteur du à une molécule présente dans la formulation commerciale et qui ralentirait la photochimie du principe actif.

La cinétique de disparition du Cyplan est la résultante des ces quatre effets. Il semblerait donc que l'étalement et l'effet photoinducteur soient prépondérants devant une éventuelle inhibition ou un possible effet d'écran.

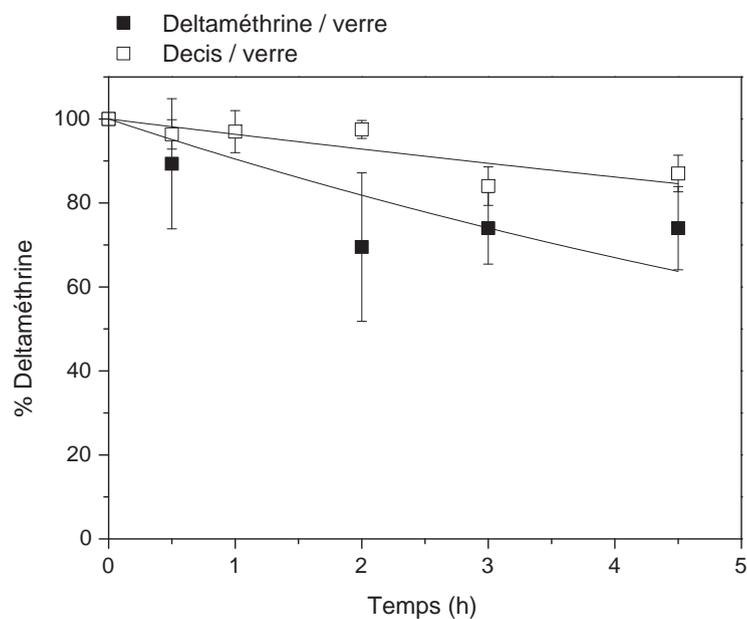
B. Decis

La figure IV.6a page suivante montre l'évolution de la quantité de deltaméthrine au cours de l'irradiation du composé pur et formulé en Suntest à 550 W/m². Deux heures après le début de l'expérience, 30% de la deltaméthrine pure et 3% seulement de la deltaméthrine dans Decis se sont photolysés.

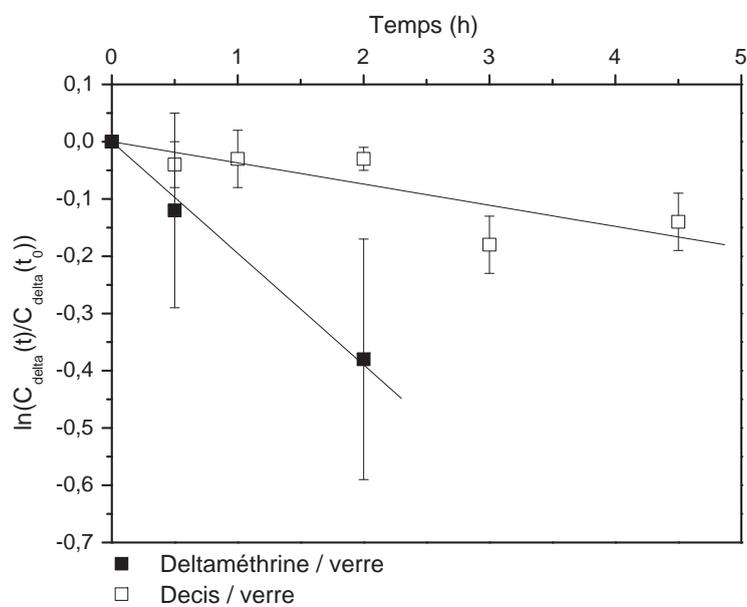
La figure IV.6b page suivante montre que la photolyse du Decis suit une loi cinétique du pseudo-premier ordre jusqu'à deux heures d'irradiation, comme pour la deltaméthrine pure. Les constantes de phototransformation et les durées de demi-vie calculées ont les valeurs suivantes :

- pour la deltaméthrine pure : $k_{app}=5,4 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1} \pm 50\%$ et $t_{1/2}= 3$ heures et 30 minutes (voir page 143) ;
- pour la deltaméthrine dans Decis : $k_{app}=1,0 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1} \pm 55\%$ et $t_{1/2}= 19$ heures.

Au vu de ces résultats, nous pouvons conclure que la deltaméthrine de phototransforme plus vite pure que dans Decis. Or, d'après les spectres d'absorption de la deltaméthrine et du Decis en solution (figure IV.3 page 140), la formulation absorbe un peu plus la lumière que le composé pur entre 290 et 310 nm. Cependant, son absorption reste faible ce qui rend peu probable une inhibition par effet d'écran. L'inhibition observée est plus vraisem-



(a) Pourcentage de deltaméthrine restant dans le cristalliseur en fonction du temps



(b) Evolution du logarithme du rapport C_t/C_0 pour la deltaméthrine en fonction du temps

Figure IV.6: Suivi de la disparition de la deltaméthrine pure et dans Decis à la surface du verre au cours de l'irradiation en Suntest à 550 W/m^2 , $C_{\text{deltaméthrine}}=20 \text{ g/ha}$.

blement due à un additif présent dans la formulation commerciale, qui interagirait avec la photochimie de l'insecticide. L'étude de la photolyse de la deltaméthrine pure nous a d'ailleurs montré que sa transformation était facilement inhibable.

4.3 Additif anti-lessivage

Plusieurs traitements par les pyréthrines peuvent avoir lieu une même année, néanmoins, un intervalle d'un mois doit être respecté entre deux pulvérisations ; intervalle pendant lequel l'insecticide doit perdurer à la surface des feuilles de maïs. Or il est soumis, comme toute molécule pulvérisée sur les plantes, aux différents phénomènes de dissipation que nous avons décrits dans l'étude bibliographique. Pour améliorer l'efficacité du traitement et augmenter le temps de résidence de l'insecticide sur les feuilles, les professionnels ajoutent parfois extemporanément des additifs dans les solutions à pulvériser. Le Sticman que nous avons étudié est composé de latex synthétique. Il a plusieurs fonctions : il évite les phénomènes de rebond lors de l'application, augmente la rétention des grosses gouttelettes, améliore l'étalement de la solution pulvérisée et protège la bouillie du lessivage par la pluie. Cette dernière fonction est assurée par la polymérisation du latex à la surface du dépôt de principe actif, formant un film protecteur insoluble [28].

A. Caractéristiques spectrales

Dans un premier temps, j'ai mesuré l'absorption de la lumière par un film de Sticman déposé à la surface d'une plaque de quartz (figure IV.7 page suivante).

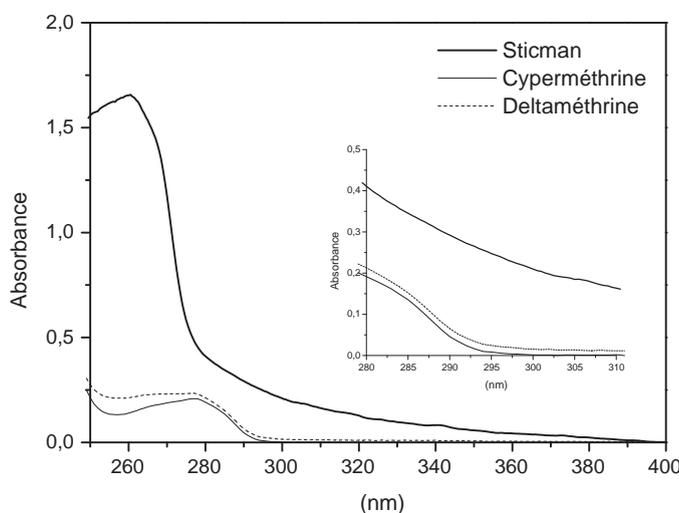


Figure IV.7: Spectres d'absorption d'un film de Sticman et des solutions de cyperméthrine et de deltaméthrine pure, $C_{\text{pyréthrines}}=1,0 \times 10^{-4}$ M, solvant : acétonitrile (50%) / eau (50%)

La figure IV.7 montre le spectre d'absorption du film de Sticman superposé aux spectres d'absorption de la deltaméthrine et de la cyperméthrine en solution (présentés à la page 140).

Les deux pyréthrines absorbent faiblement la lumière solaire entre 290 et 320 nm. Le film de latex, quant à lui, absorbe jusqu'à 400 nm, atténuant donc l'intensité des longueurs d'onde efficaces pour la photolyse des pyréthrines. Son effet sur la phototransformation de la deltaméthrine pure et dans Decis sera étudiée dans le paragraphe suivant.

B. Influence du Sticman sur la photolyse de la deltaméthrine pure

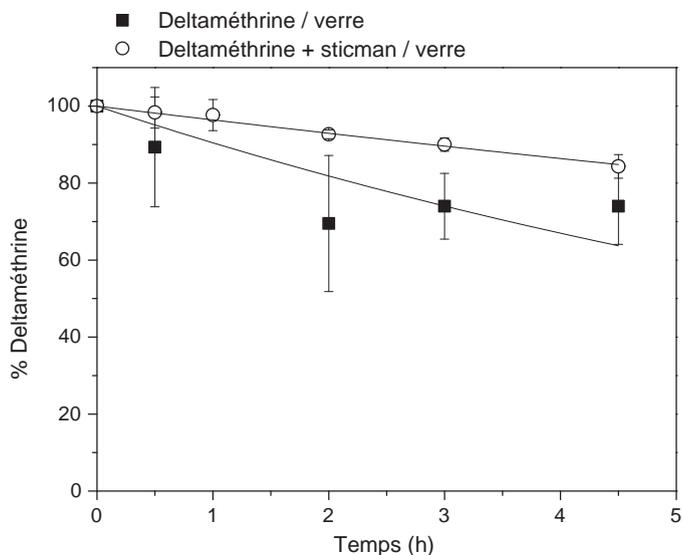
Une quantité de Sticman de 0,1% en volume a été ajoutée à la solution de deltaméthrine pure pour la préparation des échantillons. Cette quantité correspond à la dose préconisée pour les traitements agricoles. La photolyse a été étudiée dans le Suntest et l'intensité a été fixée à 550 W/m^2 .

La figure IV.8a page 150 présente la superposition des courbes de disparition par photolyse sur le verre, de la deltaméthrine pure et en mélange avec le Sticman. Dans l'agriculture, la molécule active n'est jamais appliquée pure. Cette expérience n'est donc pas représentative des conditions réelles. Cependant, elle nous a permis d'évaluer l'effet du Sticman seul sur la

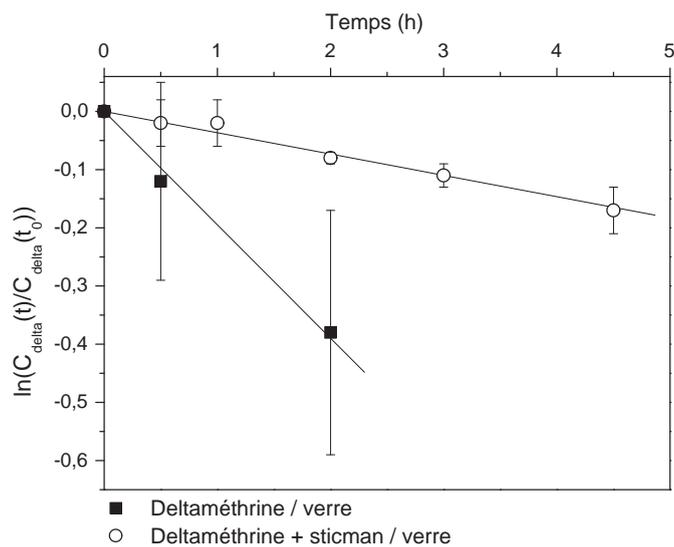
phototransformation de la deltaméthrine, en s'affranchissant de l'effet des additifs présents dans le Decis. La courbe correspondant à la deltaméthrine est celle qui a été présentée à la page 141. Après deux heures en Suntest, 30% de la deltaméthrine pure et seulement 10% de la deltaméthrine en mélange avec l'additif se sont phototransformés.

La figure IV.8b page suivante montre que la photolyse de la deltaméthrine en mélange avec l'additif suit une loi cinétique du pseudo premier ordre sur toute la durée de l'expérimentation. Nous avons vu que l'ajustement linéaire n'était possible que sur les deux premières heures dans le cas de la deltaméthrine. Les constantes de vitesse et les durées de demi-vie ont pour valeurs :

- pour la deltaméthrine mélangée au Sticman : $k_{app}=1,0 \times 10^{-5} s^{-1} \pm 30\%$ et $t_{1/2}= 19$ heures ;
- pour la deltaméthrine pure : $k_{app}=5,4 \times 10^{-5} s^{-1} \pm 47\%$ et $t_{1/2}= 3$ heures et 30 minutes.



(a) Pourcentage de deltaméthrine restant dans le cristalliseur en fonction du temps



(b) Evolution du logarithme du rapport C_t/C_0 pour la deltaméthrine en présence de Sticman en fonction du temps

Figure IV.8: Suivi de la disparition de la deltaméthrine pure et dans le mélange deltaméthrine + Sticman à la surface du verre au cours de l'irradiation en Suntest à 550 W/m^2 , $C_{\text{deltaméthrine}}=20 \text{ g/ha}$.

C. Influence du Sticman sur la phototransformation du Decis

Afin de compléter l'étude et de proposer une interprétation de l'effet du Sticman, j'ai étudié la photolyse de la deltaméthrine dans le mélange Decis-Sticman.

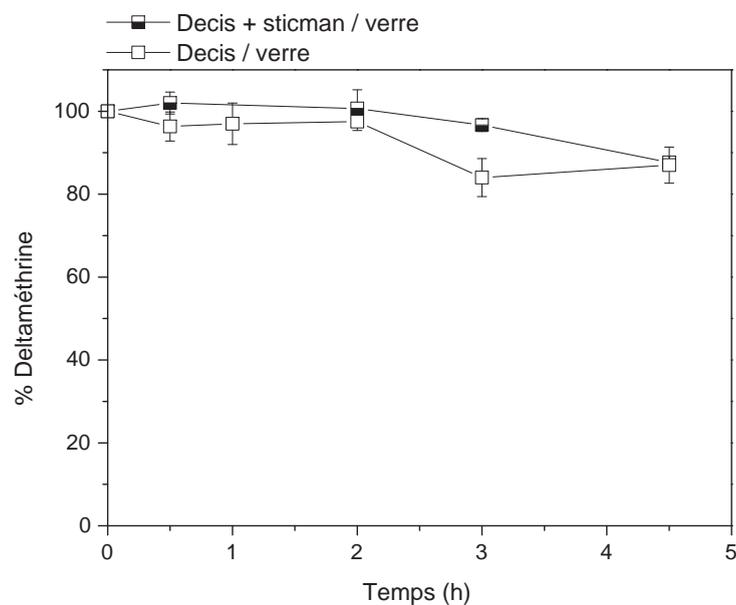


Figure IV.9: Suivi de la disparition de la deltaméthrine dans le Decis ou dans le mélange Décis + Sticman à la surface du verre au cours de l'irradiation en Suntest à 550 W/m^2 , $C_{\text{deltaméthrine}}=20 \text{ g/ha}$.

La figure IV.9 montre le suivi de la quantité de deltaméthrine à la surface du verre au cours de l'irradiation en Suntest à 550 W/m^2 . Deux heures après le début de la manipulation, moins de 3% du Decis ont été photolysés avec et sans Sticman. Au cours des cinq heures de l'expérimentation, le profil de disparition est identique avec et sans additif.

Enfin, l'ajout du Sticman diminue la vitesse de phototransformation de la molécule pure. Nous n'avons pas suffisamment d'informations sur la photochimie des molécules pour interpréter les résultats de façon certaine. Nous pouvons cependant émettre plusieurs hypothèses. L'additif anti-lessivage pourrait avoir un effet chimique inhibiteur sur la phototransformation des insecticides. D'autre part, la formation d'un film insoluble à la surface des feuilles traitées pourrait également faire écran à la lumière et ralentir la photolyse ; d'autant plus que le film de latex

absorbe efficacement les longueurs d'onde inférieures à 400 nm. Enfin, la réflexion et la diffusion de la lumière par le latex atténueraient encore la quantité de lumière capable d'interagir avec la pyréthrine.

L'ajout de Sticman n'a aucun effet sur la vitesse de photolyse de Decis à la surface du verre. Or, la formulation Decis a déjà un effet photoprotecteur sur la deltaméthrine; l'ajout de Sticman n'influence donc pas sa phototransformation.

5 Phototransformation des pyréthrines sur les films de cire de maïs

La dissipation de la cyperméthrine a été étudiée sur les films de cire de maïs avec le protocole que nous avons mis au point pour les études sur le verre. Des échantillons conservés à l'obscurité, nous ont montré que la cyperméthrine diffuse de manière significative dans la cire de maïs. Ce résultat semble indiquer que les pyréthrines pénètrent dans la cuticule de la plante après le traitement. Si tel est le cas, elles resteraient néanmoins efficaces car l'insecte cible mange les feuilles traitées et ingèrerait ainsi les pyréthrines stockées dans la cuticule.

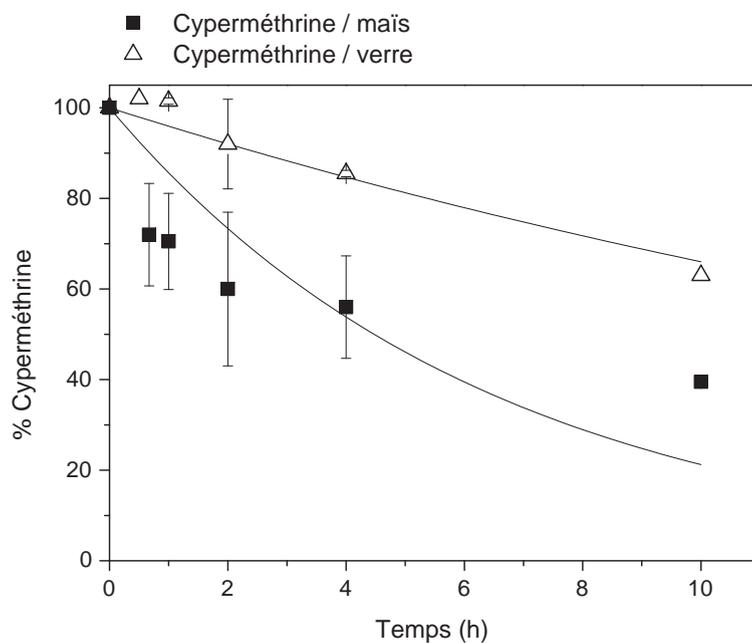
La pénétration des pyréthrines dans la cire peut s'expliquer, en partie, par leur hydrophobicité importante favorisant leur adsorption à la surface de la cire puis leur diffusion dans la cuticule hydrophobe. L'étude de la dissipation des pyréthrines sur les plantes est donc un phénomène complexe. La disparition de la cyperméthrine pure, dans le Cyplan et dans un mélange extemporané Cyplan- Sticman a été suivie à la surface de la cire de maïs.

5.1 Comparaison avec les études sur le verre

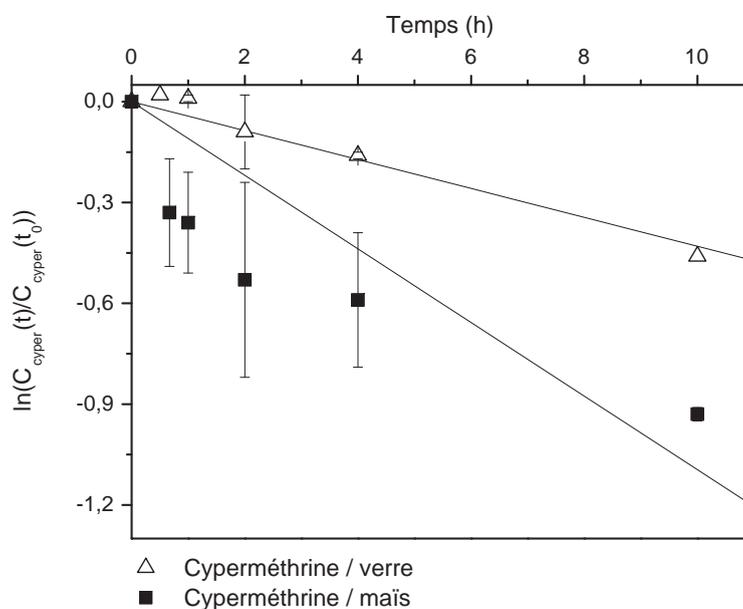
A. Cyperméthrine pure

Dans un premier temps, nous avons comparé les cinétiques obtenues précédemment sur le verre avec le suivi de la disparition de la cyperméthrine sur le film de cire de maïs.

La figure IV.10a page suivante montre l'évolution de la quantité de cyperméthrine pure restant au cours de l'irradiation en Suntest à 550 W/m^2 , à la surface du verre et à la surface de la cire de maïs. Après dix heures d'irradiation, il reste 60% de la quantité de cyperméthrine initiale à la surface du verre, et 40% à la surface de la cire de maïs.



(a) Pourcentage de cyperméthrine restant dans le cristalliseur en fonction du temps



(b) Evolution du logarithme du rapport C_t/C_0 pour la cyperméthrine en fonction du temps

Figure IV.10: Cinétique de disparition de la cyperméthrine pure à la surface du verre et à la surface de la cire de maïs, $C_{\text{cyperméthrine}}=75 \text{ g/ha}$, Suntest 550 W/m^2

La figure IV.10b page précédente montre que le tracé des cinétiques de pseudo-premier ordre pour les deux séries de données. Les constantes de phototransformation calculées et les durées de demi-vie ont les valeurs suivantes :

- pour la cyperméthrine sur le verre : $k_{\text{photolyse}}=1,2 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1} \pm 30\%$ et $t_{1/2}= 16$ heures pour une irradiation continue (voir page 143);
- pour la cyperméthrine sur la cire de maïs : $k_{\text{dissipation}}=3,0 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1} \pm 50\%$ et $t_{1/2}= 6$ heures et 20 minutes.

La vitesse de dissipation de la cyperméthrine à la surface de la cire de maïs est donc plus importante qu'à la surface du verre, sur lequel seule la phototransformation intervient. **La cyperméthrine diffuse de manière significative dans le film de cire, au cours des dix heures d'irradiation en Suntest.**

En exploitant les données sur le verre et sur la cire, nous avons calculé, par soustraction, la quantité de cyperméthrine qui diffuse dans le film : elle représente 30% de la quantité initiale après une heure. De plus, elle est constante au cours des dix heures de l'expérimentation. **Ce résultat signifie que la dissipation de la cyperméthrine à la surface de la cire de maïs se fait en deux temps et qu'au cours de la première heure d'exposition, la diffusion dans le film représente la totalité de la dissipation.**

Pour valider cette hypothèse, nous avons tracé deux régressions linéaires sur les points expérimentaux : la première en considérant les valeurs jusqu'à une heure d'irradiation (k_{2A}) et la seconde entre deux et dix heures (k_{2B}). Ces régressions sont superposées à celle qui avait été tracée lors de l'étude sur le verre (figure IV.11 page suivante).

Les constantes de dissipation calculées ont les valeurs suivantes :

- $k_{2A}=1,1 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1} \pm 50\%$;
- $k_{2B}=1,4 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1} \pm 50\%$;
- $k_1=1,2 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1} \pm 40\%$ (voir page 143).

J'ai effectué un test statistique sur les constantes k_1 et k_{2B} , montrant qu'elles ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%.

Les valeurs des constantes calculées confirment que dans un premier temps, la dissipation de la cyperméthrine sur la cire de maïs est due à sa diffusion dans la cire. Dans un second temps, la phototransformation prend le relais et l'on voit que les constantes sur le verre et sur le film de cire de maïs sont alors similaires.

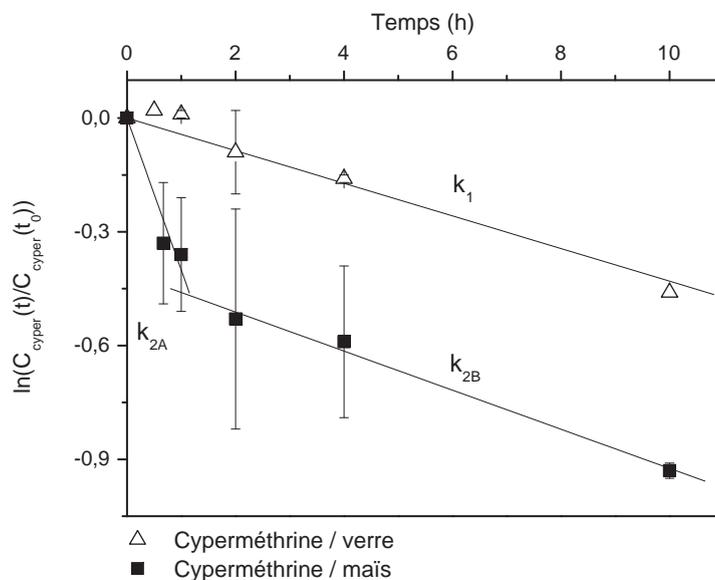


Figure IV.11: Suivi de la disparition de la cyperméthrine pure à la surface de la cire de maïs : mise en évidence de la diffusion dans le film par comparaison avec la photolyse sur le verre, $C_{\text{cyperméthrine}}=75$ g/ha, puissance du Suntest : 550 W/m²

B. Cyplan

La cinétique de phototransformation de la cyperméthrine dans le Cyplan sur le verre, que nous avons tracée précédemment, a été ici superposée à la courbe de dissipation de la cyperméthrine dans le Cyplan sur le film de cire de maïs.

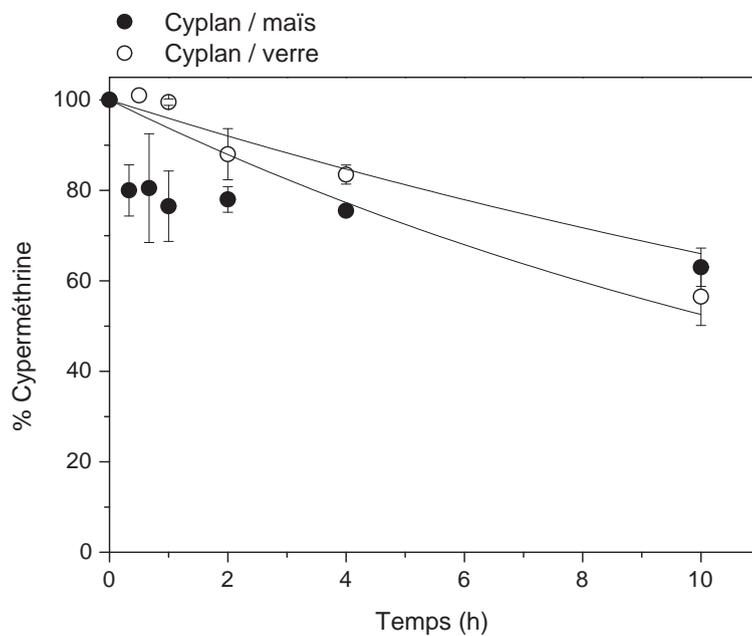
La figure IV.12a page 157 montre l'évolution de la quantité de cyperméthrine dans le Cyplan au cours de l'irradiation en Suntest à 550 W/m². Après dix heures d'irradiation, il reste 60% de la quantité de cyperméthrine initiale à la surface du verre, et 65% à la surface de la cire de maïs.

La figure IV.12b page 157 montre le tracé de la régression linéaire pour les deux séries de données. Comme pour la cyperméthrine pure, la phototransformation de la cyperméthrine dans le Cyplan à la surface de la cire se fait en deux étapes. J'ai calculé une constante de pseudo-premier ordre pour chacune des deux. Les valeurs calculées sont listées ci-dessous :

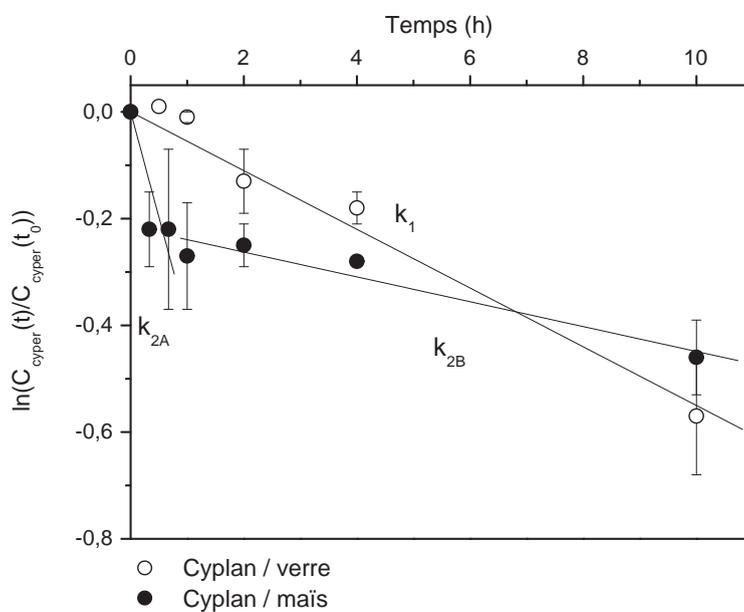
- pour la cyperméthrine dans le Cyplan sur le verre : $k_1=1,5 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1} \pm 20\%$ (voir page 143) ;

- pour la cyperméthrine dans le Cyplan sur la cire de maïs :
 - $k_{2A}=1,1 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1} \pm 60\%$;
 - $k_{2B}=6,6 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1} \pm 60\%$.

Cette fois-ci, contrairement au cas de la cyperméthrine pure, le test statistique montre que les constantes k_1 et k_{2B} sont significativement différentes au seuil de 5%. Il est donc difficile d'attribuer les deux constantes à des phénomènes précis. **Toutefois, il semble qu'une fois encore, la diffusion dans la cire soit un phénomène important au début de la manipulation.**



(a) Pourcentage de cyperméthrine restant dans le cristalliseur en fonction du temps



(b) Evolution du logarithme du rapport C_t/C_0 pour la cyperméthrine en fonction du temps

Figure IV.12: Cinétique de disparition de la cyperméthrine dans le Cyplan à la surface du verre et à la surface de la cire de maïs, $C_{\text{cyperméthrine}}=75 \text{ g/ha}$, puissance du Suntest : 550 W/m^2

5.2 Influence du Sticman

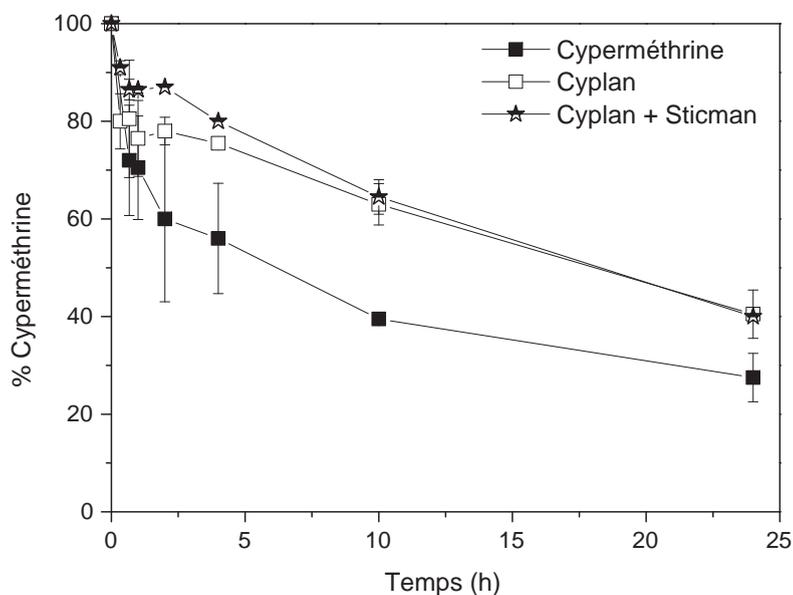
Pour compléter ces premières études sur les films de cire, l'influence de l'additif Sticman sur la dissipation du Cyplan a été évaluée et les courbes de disparition sont présentées à la figure IV.13 page suivante. Pour cela, j'ai repris les courbes de disparition de la cyperméthrine et du Cyplan sur la cire de maïs, présentées précédemment. J'ai ajouté la cinétique de disparition de la cyperméthrine dans le mélange Cyplan-Sticman. La disparition a été suivie pendant vingt-quatre heures (figure IV.13a page suivante). La figure IV.13b page suivante présente cette disparition pendant les cinq premières heures d'irradiation.

La superposition des trois courbes montre que **la dissipation de la cyperméthrine pure est plus rapide que dans le Cyplan et dans le mélange Cyplan-Sticman. De plus, sur les 5 premières heures, l'ajout de Sticman semble ralentir encore la disparition de la cyperméthrine.**

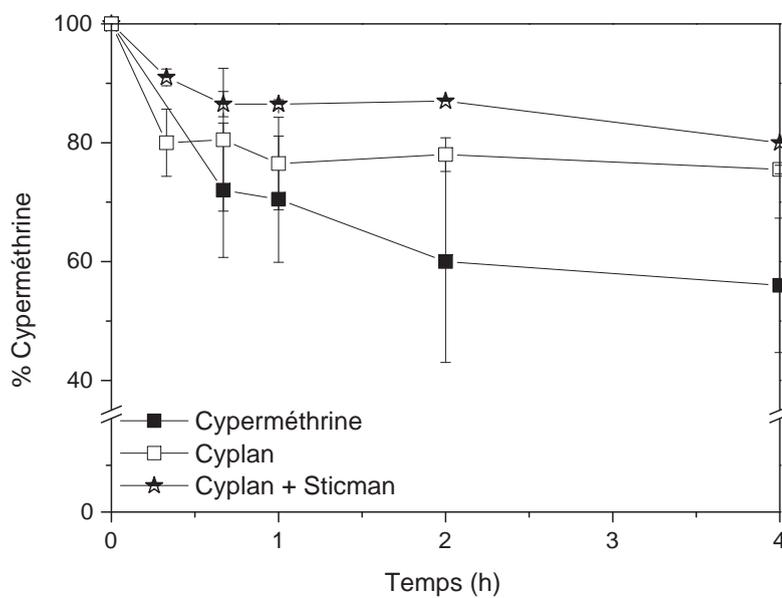
Sur le verre, la photolyse du Cyplan était plus rapide que celle de la cyperméthrine pure (voir page 145). Sur le film de cire de maïs l'ordre est inversé. Or, nous avons vu précédemment, que la dissipation à la surface de la cire résulte de la compétition de deux phénomènes : la diffusion de la molécule dans le film et sa phototransformation à la surface. **La diffusion dans les films de cire est donc un processus significatif qui compense l'effet accélérateur des additifs de la formulation. Ce résultat montre, une fois encore, l'importance de considérer les formulations commerciales pour les études de dissipation à la surface des films de cire.**

5.3 Conclusion de l'étude sur la cire de maïs

Les études de phototransformation des principes actifs sur le verre représentent une première approche de la dissipation sur les feuilles. Cependant, le verre n'est pas représentatif de la surface des plantes, puisqu'il ne permet pas la diffusion des molécules dans la masse. D'autre part, même si les études sur les cires permettent de prendre en compte la diffusion, les tests sur les tricétones nous ont montré qu'elle ne suffisent pas à prédire le devenir des molécules à la surface des plantes dans les cultures.



(a) Disparition de la cyperméthrine pendant 24 heures



(b) Zoom sur les 5 premières heures d'irradiation

Figure IV.13: Cinétique de disparition de la cyperméthrine pure, dans le Cyplan et dans le mélange Cyplan-Sticman ($C_{\text{cyperméthrine}}=75 \text{ g/ha}$) sur la cire de maïs en Suntest à 550 W/m^2

6 Phototransformation des pyréthrines au champ

Lors de ce travail de thèse nous avons eu l'opportunité de faire traiter un champ de maïs par les insecticides étudiés. Deux parcelles ont été pulvérisées ; l'une avec le mélange Cyplan-Sticman et la seconde avec le mélange Decis-Sticman. Les doses recommandées ont été respectées. Nous avons effectué des prélèvements pendant un mois. Pour chaque prélèvement, nous avons choisi quatre plantes différentes sur les deux parcelles traitées. La septième et la huitième feuille de ces maïs ont été coupées, mesurées, enveloppées dans de l'aluminium puis congelées à -80°C .

Nous avons tenté de mettre au point une méthode d'extraction des pyréthrines sur les feuilles de maïs. Plusieurs solvants ont été testés : le cyclohexane, l'acétone et l'acétonitrile. Aucun de ces solvants n'a conduit à des résultats d'extraction reproductibles. Entre 30 et 70% des pyréthrines seulement étaient extraites par ces procédés. Nous avons, dans un second temps, ajouté une étape de purification par extraction solide liquide, afin de séparer les résidus foliaires des pyréthrines hydrophobes. Ces essais ont été infructueux. Je n'ai pas eu le temps de poursuivre les tests d'extraction et les échantillons prélevés au champ sont toujours stockés à -80°C en attendant d'être analysés.

7 Discussion

Le tableau IV.1 page suivante regroupe les constantes de dissipation des pyréthrines étudiées sur le verre et sur la cire de maïs, lorsque les cinétiques de disparition suivent un loi du pseudo-premier ordre. La juxtaposition des résultats obtenus permet de tirer des conclusions générales.

Sur le verre

Concernant la photolyse des principes actifs purs, Fernandez-Alvarez *et al.* [99] avait montré que la phototransformation de la deltaméthrine sorbée sur le PDMS était plus rapide que celle de la deltaméthrine. Nous avons montré qu'il en était de même sur le verre. Les deux atomes de chlore de la cyperméthrine, substitués par des atomes de brome rendent la deltaméthrine plus photosensible.

L'effet des additifs de la formulation sur la photolyse de ces deux pyréthrines à la surface du verre est différent. Dans le cas de la cyperméthrine, la vitesse augmente en présence d'additifs. Au contraire, dans le cas de la deltaméthrine, elle diminue. Ce résultat montre que la diversité des formulations et des principes actifs rend les études au cas par cas indispensable, même au

sein d'une famille chimique de pesticides.

Alors que la phototransformation de la deltaméthrine pure est plus rapide que celle de la cyperméthrine pure, l'ordre est inversé dans les formulations. L'effet photosensibilisant, lié aux substituants bromés de la deltaméthrine est donc compensé par l'effet photoinhibiteur des additifs du Decis.

Par ailleurs, l'additif anti-lessivage Sticman, ajouté aux formulations avant la pulvérisation a un effet photoprotecteur supplémentaire, vraisemblablement en formant un film insoluble protecteur à la surface des formulations pulvérisés.

Support	Substrat	k_{app} (s^{-1})	k/k_{ref}	$t_{\frac{1}{2}}$
Verre	Cyperméthrine (75 g/ha)	$1,2 \times 10^{-5}$	k_{ref}	16 h
Verre	Cyplan (75 g/ha)	$1,5 \times 10^{-5}$	1,3	13 h
Verre	Deltaméthrine (20 g/ha)	$5,4 \times 10^{-5}$	4,5	3 h 30
Verre	Decis (20 g/ha)	$1,0 \times 10^{-5}$	0,8	19 h
Verre	Deltaméthrine + Sticman (20 g/ha)	$1,0 \times 10^{-5}$	0,8	19 h
Cire de maïs	Cyperméthrine (75 g/ha)	$k_{diffusion}=1,1 \times 10^{-4}$	9,2	2 h
Cire de maïs	Cyperméthrine (75 g/ha)	$k_{photo}=1,4 \times 10^{-5}$	1,2	14 h
Cire de maïs	Cyplan (20 g/ha)	$k_{diffusion}=1,1 \times 10^{-4}$	9,2	2 h
Cire de maïs	Cyplan (20 g/ha)	$k_{photo}=6,6 \times 10^{-6}$	0,5	> 1 j

Tableau IV.1: Tableau récapitulatif des constantes apparentes de phototransformation et de diffusion des pyréthrines pures et formulées sur le verre et sur la cire de maïs en Suntest à 550 W/m^2

Sur la cire de maïs

A la surface de la cire de maïs, deux phénomènes sont en compétition : la pénétration dans la cire et la photolyse. La première chose à noter est la valeur importance des constantes de diffusion de la cyperméthrine pure et formulée dans le film de cire de maïs ($k_{diffusion}$ dans le tableau IV.1). Si l'on compare ces valeurs aux constantes de photolyse, on remarque que la diffusion est dix fois plus rapide que la phototransformation. Cependant, ce phénomène n'est prépondérant qu'au début de la manipulation. Par la suite, la phototransformation devient le processus majoritaire.

Il est aussi important de noter que les constantes de diffusion de la cyperméthrine pure ou

dans le Cyplan sont identiques : les additifs de la formulation commerciale n'ont donc aucun effet sur la diffusion du principe actif dans la cuticule.

Alors que sur le verre, la cyperméthrine formulée se phototransforme plus rapidement que pure, cet ordre de réactivité est inversé sur la cire. Or nous avons vu que ce phénomène ne peut pas être expliqué par la diffusion. Il semblerait que la présence de formulants ralentisse la photolyse de la cyperméthrine sur la cire.

CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES

Le traitement phytosanitaire des cultures par pulvérisation engendre des pollutions diffuses et la contamination des différents compartiments de l'environnement. Le devenir des pesticides fait l'objet d'études approfondies dans les eaux de surface, les sols et plus récemment dans l'air. En revanche, les surfaces foliaires qui représentent le premier milieu récepteur des pesticides pulvérisés, restent peu étudiées. Pourtant, après la pulvérisation, les molécules sont dispersées à la surface des feuilles où elles peuvent faire l'objet de plusieurs phénomènes de dissipation. Il s'agit de la volatilisation, du lessivage par la pluie ou la rosée, de la diffusion dans la plante, et enfin de la phototransformation. Le but de ce travail a été d'étudier l'importance de ces réactions de phototransformation à la surface des feuilles. Les études ont porté sur des herbicides tricétoniques et des insecticides pyréthrinoïdes ainsi que sur leurs formulations commerciales : Callisto pour la mésotrione, Mikado pour la sulcotrione, Cyplan pour la cyperméthrine et Decis Protech pour la deltaméthrine. Toutes ces préparations sont couramment utilisées en traitement des cultures de maïs. C'est pour cette raison que nous avons centré notre travail sur deux plantes : le maïs et une de ses *adventices*, la morelle noire.

Notre travail s'est déroulé en plusieurs étapes et notre souci a été d'étudier des systèmes de complexité croissante dans le but de se rapprocher au plus près des conditions agricoles. Nous avons tout d'abord utilisé des films de cire pour représenter les surfaces foliaires. Ces supports *abiotiques* nous ont permis de nous affranchir de la réponse biologique du végétal. Les études sur les cires ont portées sur les molécules pures et sur leurs formulations commerciales. Dans un second temps, il nous a semblé important de travailler sur le vivant. Des feuilles coupées, des plantes en pot en chambre climatique puis à l'extérieur, et enfin des cultures de maïs ont été utilisées. Les études sur le vivant ont nécessairement été réalisées avec les formulations commerciales.

La part de la phototransformation dans la dissipation des tricétones à la surface des différents supports a été évaluée en comparant les résultats obtenus sous irradiation et à l'obscurité. Cette méthode de travail nous a en particulier permis de différencier les phénomènes photochimiques d'une part et la diffusion du principe actif dans la cuticule et sa volatilisation d'autre part. Pour aller plus loin dans la différenciation de ces phénomènes, nous avons procédé à l'irradiation d'une molécule radiomarquée.

Les films de cire utilisés pour les premiers tests ont été choisis pour représenter la cuticule des feuilles. L'influence de différents paramètres a été testée : la composition de la cire, les additifs de la formulation et la concentration en pesticide. Les tests de photolyse ont été effectués grâce à un simulateur Suntest. Pour les études concernant les tricétones, nous n'avons observé ni volatilisation, ni diffusion dans la cire. La totalité de la sulcotrione et de la mésotrione dissipée a été phototransformée. La photolyse est donc le seul phénomène de dissipation de ces molécules à la surface des films de cire. De plus, nous avons montré que cette photolyse était plus rapide

sur les films de cire qu'en solution aqueuse, jusqu'à 100 fois dans le cas de la mésotrione. En revanche, l'effet de la composition de la cire sur la vitesse de phototransformation de la mésotrione et de la sulcotrione est faible, même si, dans les deux cas, la photolyse est favorisée sur les films de cire de maïs. Les additifs des formulations commerciales Callisto et Mikado ont un effet accélérateur très important sur la photolyse du principe actif. Par exemple, la mésotrione se photolyse 15 fois plus vite dans Callisto que pure. La vitesse de photolyse de la mésotrione dans Callisto dépend aussi de sa concentration par unité de surface. Les tests ont été réalisés pour des concentrations correspondant aux doses agricoles recommandées pour l'application en post-levée sur le maïs. Au-delà d'une certaine valeur, plus la concentration par unité de surface augmente, plus la vitesse de photolyse de la mésotrione dans Callisto est importante.

L'identification de la structure des photoproduits de la mésotrione sur les cires ont été caractérisés par spectrométrie de masse ; elle a permis de mettre en évidence plusieurs processus photochimiques. A la surface des cires, la mésotrione se phototransforme par réduction, substitution nucléophile intramoléculaire et hydrolyse. Le mécanisme de photolyse décrit dans ce travail est différent de celui qui a été observé en solution aqueuse puisque, dans ce cas, seule des réactions de photohydrolyse interviennent. Cependant, en solution et sur cires, l'oxygène singulet joue un rôle dans la photolyse de la mésotrione. L'étude en solution effectuée par Ter Halle *et al.* avait montré l'accélération de la photolyse de la mésotrione en présence de Rose de bengale, qui photosensibilise la formation d'oxygène singulet. Dans ce travail, nous avons montré que, d'une part, la mésotrione reste sensible à l'oxygène singulet lorsqu'elle est sorbée sur les films de cire et que d'autre part, cette espèce réactive est capable de migrer à travers la cuticule. Ce dernier résultat montre que la chlorophylle et les métabolites présents dans la plante sont capables de photosensibiliser la formation d'oxygène singulet et pourraient donc induire la transformation de la mésotrione à la surface des feuilles. En ce qui concerne la sulcotrione, ses photoproduits qui avaient déjà été décrits dans la littérature ont pu être observés à la surface des films de cire.

Dans le cas des insecticides pyréthrinoïdes, deux phénomènes de dissipation sont en compétition : la phototransformation et la diffusion dans le film de cire. Les études sur le verre ont permis de s'affranchir de la diffusion des pyréthrines et de n'étudier que leur photolyse. Nous avons montré que les substituants bromés de la deltaméthrine la rendait plus photosensible que la cyperméthrine (chlorée). En revanche, cet effet accélérateur est compensé par l'effet protecteur de la formulation commerciale puisque Decis se phototransforme plus lentement que Cyplan. Pour expliquer le ralentissement de la photolyse de la deltaméthrine formulée, nous avons émis l'hypothèse de la présence, dans Decis, d'un additif inhibant la photolyse. Puis l'étude d'un mélange extemporané de Cyplan et de Sticman, additif anti-lessivage couramment utilisé en agriculture, a permis de mettre en évidence un effet physique de photoprotection :

la polymérisation du Sticman à la surface du Decis ralentit encore sa photolyse. De plus, la diffusion rapide de la cyperméthrine dans la cire de maïs est ralentie par le Sticman.

Pour les études sur le vivant les paramètres facilement contrôlés pour les films de cire, ont dû être adaptés. En effet, il devenait difficile de contrôler la quantité de pesticide appliquée ; le nombre de réplicats a dû être augmenté pour compenser l'erreur expérimentale. En raison de la différence de taille entre les feuilles et les plantes, les échantillons ont été soumis à différents systèmes d'irradiation. Les feuilles coupées ont été exposées dans le même simulateur Suntest alors que les plantes entières ont été irradiées dans une chambre climatique en laboratoire ou exposées au soleil. Sur les feuilles coupées de morelle noire, la photolyse de Callisto est, comme sur les cires, le seul phénomène de dissipation. De plus, les constantes de photolyse sur les cires et sur la feuille coupée sont du même ordre de grandeur, avec une durée de demi-vie d'une à deux heures pour une exposition continue en Suntest. Ces résultats montrent que les films de cire sont représentatifs de la surface foliaire et qu'ils peuvent être utilisés pour simplifier les études de phototransformation sur les végétaux. Lorsque l'on passe sur les plantes entières, d'autres phénomènes de dissipation entrent en jeu. Une étude avec Mikado contenant de la sulcotrione radiomarquée, sur des plantes de maïs et de morelle, a été réalisée dans une chambre climatique au laboratoire. L'utilisation d'une molécule marquée a permis son suivi à la surface et à l'intérieur de la plante. Nous avons montré que la diffusion de la sulcotrione dans la plante et sa volatilisation restent peu importantes. Plus de 80% de la dissipation est due à de la phototransformation, phénomène prépondérant malgré la faible intensité de la lampe par rapport à celle du Suntest. D'un point de vue qualitatif, on retrouve les deux photoproduits que nous avons identifiés sur les cires et le métabolite décrit dans la littérature. Ces résultats montrent qu'une fois encore, les cires permettent une première approche des mécanismes ayant lieu sur les surfaces foliaires. Enfin, nous avons exposé des plantes de maïs traitées avec Callisto, aux conditions climatiques extérieures. Cette fois, 25% de la disparition de la mésotrione formulée était attribuable à la phototransformation. Les phénomènes en compétition étaient : le lessivage par la rosée et la diffusion du principe actif dans la cuticule. Ces derniers résultats permettent de relativiser les études de Callisto sur les films de cire effectuées au laboratoire, pour lesquelles nous avons établi une durée de demi-vie de trois heures, alors qu'elle est de trente-trois heures dans les conditions extérieures.

Malgré tout, les études sur cire sont un bon compromis entre faisabilité et représentativité. Elles permettent de diagnostiquer la photosensibilité des matières actives sur les cultures, phénomène encore très peu étudié.

Ce travail préliminaire ouvre la voie à plusieurs pistes. Premièrement, une étude mécanistique sur les cires permettrait de mettre en évidence les intermédiaires réactifs mis en jeu lors

des processus de phototransformation en phase adsorbée. Ceci dans le but de comprendre, par exemple, l'effet des additifs et de la nature du support sur la photolyse des matières actives.

Deuxièmement, nous avons vu que pour des molécules lipophiles, comme les pyréthrinés, la diffusion dans la cire peut devenir un phénomène de dissipation important. Pour déterminer la part de la photolyse, il est donc primordial de mettre au point un protocole d'extraction des composés qui ont diffusés dans le film. On aurait alors un bilan quantitatif détaillé, qui décrirait : la quantité de pesticide phototransformé à la surface du film, la quantité qui a diffusé dans le film, et éventuellement la quantité de pesticide photolysé à l'intérieur du film. Cette étude de la diffusion dans la cire devra être complétée par une étude de diffusion dans la plante vivante pour valider la pertinence des études sur les films.

Troisièmement, ce travail nous a montré que les résultats obtenus au laboratoire, même sur les plantes entières, étaient difficilement extrapolables aux conditions climatiques extérieures. Pour ne pas surestimer l'importance des phénomènes mis en évidence par les études en Suntest, il faudrait trouver un moyen de prendre en compte l'alternance jour / nuit et d'estimer l'impact du lessivage. Ceci permettrait de calculer des valeurs de durées de demi-vie plus représentatives des conditions réelles.

BIBLIOGRAPHIE

Bibliographie

- [1] AUBERTOT J., BARBIER J., CARPENTIER A., GRIL J., GUICHARD L., LUCAS P., SAVARY S., SAVINI I., VOLTZ M., Pesticides, agriculture et environnement. Réduire l'utilisation des pesticides et en limiter les impacts environnementaux, *Rapport technique*, Rapport d'expertise scientifique collective, INRA et Cemagref, **2005**.
- [2] TROCHERIE F., *L'environnement en France. L'agriculture et la sylviculture*, Institut français de l'environnement, **2006**.
- [3] PITTE J.R., TUBIANA L., Vers des modes de production et de consommation durables, *Rapport technique*, Le Grenelle de l'Environnement, **2007**.
- [4] LINDERS J., MENSINK H., STEPHENSON G., WAUCHOPE D., RACKE K., Foliar interception and retention values after pesticide application. A proposal for standardized values for environmental risk assessment, *Rapport technique*, Commission on agrochemicals and the environment, **2000**.
- [5] BENTSON K., Fate of xenobiotics in foliar pesticide deposits. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* **1990**, 114, 125–161.
- [6] THACKER J., YOUNG R., The effects of six adjuvants on the rainfastness of chlorpyrifos formulated as an emulsifiable concentrate. *Pesticide Science* **1999**, 55, 198–200.
- [7] LEISTRA M., VAN DEN BERG F., Volatilization of parathion and chlorothalonil from a potato crop simulated by the PEARL model. *Environmental Science and Technology* **2007**, 41, 2243–2248.
- [8] GUTH J., REISCHMANN F., ALLEN R., ARNOLD D., HASSINK J., LEAKE C., SKIDMORE M., REEVES G., Volatilisation of crop protection chemicals from crop and soil surfaces under controlled conditions-prediction of volatile losses from physico-chemical properties. *Chemosphere* **2004**, 57, 871–887.
- [9] SCHÖNHERR J., Effects of monodisperse alcohol ethoxylates on mobility of 2,4-D in isolated plant cuticles. *Pesticide science* **1993**, 38, 155–164.

-
- [10] NIU J., CHEN J., MARTENS D., QUAN X., YANG F., KETTRUP A., SCHRAMM K.W., Photolysis of polycyclic aromatic hydrocarbons adsorbed on spruce needles under sunlight irradiation. *Environmental Pollution* **2003**, 123, 39.
- [11] BULL D., Fate and efficacy of acephate after application to plants and insects. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1979**, 27, 268–272.
- [12] NIU J., CHEN J., MARTENS D., HENKELMANN B., QUAN X., YANG F., SEIDLITZ H., K.-W. S., The role of UV-B on the degradation of PCDD/Fs and PAHs sorbed on surfaces of spruce (*Picea abies* (L.) Karst.) needles. *Science of the Total Environment* **2004**, 322, 231–241.
- [13] TAIZ L., ZEIGER E., *Plant physiology*, Redwood city: B. Cummings, **1991**.
- [14] KATAGI T., Photodegradation of pesticides on plant and soil surfaces. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* **2004**, 182, 1.
- [15] SZAFRANEK B., SYNAK E., Cuticular waxes from potato (*solanum tuberosum*) leaves. *Phytochemistry* **2006**, 67, 80–90.
- [16] BRINGE K., SCHUMACHER C.F., SCHMITZ-EIBERGER M., STEINER U., OERKE E.C., Ontogenic variation in chemical and physical characteristics of adaxial apple leaf surfaces. *Phytochemistry* **2006**, 67, 161–170.
- [17] SCHULER F., SCHMID P., SCHLATTER C., Photodegradation of polychlorinated dibenzop-dioxins and dibenzofurans in cuticular waxes of laurel cherry (*prunus laurocerasus*). *Chemosphere* **1998**, 36, 21–34.
- [18] SCHREIBER L., SCHÖNHERR J., Analysis of foliar uptake of pesticides in Barley leaves: role of epicuticular waxes and compartmentation. *Pesticide science* **1992**, 36, 213–221.
- [19] RIEDERER M., SCHNEIDER G., Comparative study of the composition of waxes extracted from isolated leaf cuticles and from whole leaves of citrus: evidence for selective extraction. *Physiologia plantarum* **1989**, 77, 373–384.
- [20] BAKER E.A., *The Plant Cuticles*, chapitre Chemistry and morphology of plant epicuticular waxes, 139–165, Cutler, D.F. and Alvin, K.L. and Price, C.E., **1982**.
- [21] BEATTIE G., MARCELL L., Effect of alterations in cuticular wax biosynthesis on the physicochemical properties and topography of maize leaf surfaces. *Plant, cell and environment* **2002**, 25, 1–16.
- [22] CAMERON K.D., TEECE M.A., BEVILACQUA E., SMART L.B., Diversity of cuticular wax among *Salix* species and *Populus* species hybrids. *Phytochemistry* **2002**, 60, 715.
- [23] SCHREIBER L., SCHÖNHERR J., Contact areas between waxy leaf surfaces and aqueous solutions: quantitative determination of specific leaf surface contact areas. *Journal of Experimental Botany* **1993**, 44, 1653–1662.

- [24] FORSTER A.W., ZABKIEWICZ J.A., RIEDERER M., Mechanisms of cuticular uptake of xenobiotics into living plants: 1. Influence of xenobiotic dose on the uptake of three model compounds applied in the absence and presence of surfactants into *Chenopodium album*, *Hedera helix* and *Stephanotis floribunda* leaves. *Pest Management Science* **2004**, 60, 1105–1113.
- [25] KNOWLES A., Adjuvants for agrochemicals. *The Royal Society of Chemistry* **2001**, 183.
- [26] DOLINOVA J., KLANOVA J., KLAN P., HOLOUBEK I., Photodegradation of organic pollutants on the spruce needle wax surface under laboratory conditions. *Chemosphere* **2004**, 57, 1399.
- [27] HAZEN J., Adjuvant-Terminology, classification, and chemistry. *Weed technology* **2000**, 14, 773.
- [28] AGRIDYNE, Sticman, Disponible sur Internet à l'adresse <http://www.agridyne.fr>.
- [29] ZABKIEWICZ J., Adjuvants and herbicidal efficacy - present status and future prospects. *Weed research* **2000**, 40, 139–149.
- [30] SCHOLZ K. R.F., Photolysis of imidacloprid (NTN 33893) on the leaf surface of tomato plants. *Pesticide science* **1999**, 55, 652.
- [31] TAKAHASHI N., MIKAMI N., YAMADA H., MIYAMOTO J., Photodegradation of the pyrethroid insecticide fenprothrin in water, soil and on plant foliage. *Pesticide Science* **1985**, 16, 119–131.
- [32] SCHWACK W., BOURGEOIS B., WALKER F., Photodegradation of the dicarboximide fungicide procymidone. *Chemosphere* **1995**, 31, 4033.
- [33] BREITHAAPT D.E., SCHWACK W., Photoinduced addition of the fungicide anilazine to cyclohexene and methyl oleate as model compounds of plant cuticle constituents. *Chemosphere* **2000**, 41, 1401.
- [34] SCHYNOWSKI F., SCHWACK W., Photochemistry of parathion on plant surfaces: relationship between photodecomposition and iodine number of the plant cuticle. *Chemosphere* **1996**, 33, 2255–2262.
- [35] SCHWACK W., WALKER F., BOURGEOIS B., Fungicides and photochemistry: photodegradation of the dicarboximide fungicide vinclozolin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1995**, 43, 3088–3092.
- [36] SCHWACK W., Photoinduced Additions of Pesticides to Biomolecules. 2. Model Reactions of DDT and Methoxychlor with Methyl Oleate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1988**, 36, 645–648.
- [37] NUTAHARA M., MURAI T., Accelerating effect of natural unsaturated fatty acids on photodecomposition of chinomethional (Morestan). *Nippon Noyaku Gakkaishi* **1984**, 9, 667–674.

- [38] FUKUSHIMA M., KATAGI T., Photodegradation of fenitrothion and parathion in tomato epicuticular waxes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2006**, 54, 474–479.
- [39] BHATTACHARJEEL A., DUREJA P., Light-induced transformation of tribenuron-methyl on glass, soil and plant surface. *Journal of Environmental Science and Health, Part B* **2002**, 37, 131–140.
- [40] LIANG T., LICHTENSTEIN E., Effects of soils and leaf surfaces on the photodecomposition of [14C] azinphosmethyl. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1976**, 24, 1205–1210.
- [41] PRIRISI F.M., ANGIIONI A., CABIZZA M., CABRAS P., MACCIONI E., Influence of epicuticular waxes on the photolysis of pirimicarb in the solid phase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1998**, 46, 762–765.
- [42] IVIE G.W., CASIDA J.E., Photosensitizers for the accelerated degradation of chlorinated cyclodienes and other insecticide chemicals exposed to sunlight on bean leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1971**, 19, 410–416.
- [43] TER HALLE A., DRNCOVA D., RICHARD C., Phototransformation of the herbicide sulcotrione on maize cuticular wax. *Environmental Science and Technology* **2006**, 40, 2989–2995.
- [44] CABRAS P., ANGIIONI A., GARAU V., MELIS M., PIRISI F., MINELLI E., Effect of epicuticular waxes of fruits on the photodegradation of Fenthion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1997**, 45, 3681.
- [45] PIRISI F.M., ANGIIONI A., CABIZZA M., CABRAS P., CAO C.F., Photolysis of pesticides: influence of epicuticular waxes from *Persica laevis* DC on the photodegradation in the solid phase of aminocarb, methiocarb and fenthion. *Pest Management Science* **2001**, 57, 522–526.
- [46] CHEN J., QUAN X., YANG F., PEIJNENBURG W.J., Quantitative structure-property relationships on photodegradation of PCDD/Fs in cuticular waxes of laurel cherry (*Prunus laurocerasus*). *The Science of the Total Environment* **2001**, 269, 163–170.
- [47] MCCRADY J.K., MAGGARD S.P., Uptake and photodegradation of 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin sorbed to grass foliage. *Environmental Science and Technology* **1993**, 27, 343.
- [48] ANGIIONI A., CABIZZA M., CABRAS M., MELIS M., TUBEROSO C., CABRAS P., Effect of the epicuticular waxes of fruits and vegetables on the photodegradation of rotenone. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2004**, 52, 3451–3455.
- [49] NIU J., CHEN J., HENKELMANN B., QUAN X., YANG F., KETTRUP A., K.-W. S., Photodegradation of PCDD/Fs adsorbed on spruce (*Picea abies* L. Karst.) needles under sunlight irradiation. *Chemosphere* **2003**, 50, 1217.

-
- [50] BUCHHOLZ A., BAUR P., SCHÖNHERR J., Differences among plant species in cuticular permeabilities and solute mobilities are not caused by differential size selectivities. *Planta* **1998**, 206, 322–328.
- [51] PETRACEK P.D., BUKOVAC M.J., Rheological properties of enzymatically isolated tomato fruit cuticle. *Plant Physiology* **1995**, 109, 675–679.
- [52] SCRANO L., BUFO S.A., PERUCCI P., MEALLIER P., MANSOUR M., Photolysis and hydrolysis of rimsulfuron. *Pesticide science* **1999**, 55, 955–961.
- [53] TANAKA F.S., WIEN R.G., MANSAGER E.R., Survey for surfactant effects on the photodegradation of herbicides in aqueous media. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1981**, 29, 227–230.
- [54] THOMAS S.M., HARRISON S.K., Surfactant-altered rates of chlorimuron and metsulfuron photolysis in sunlight. *Weed Science* **1990**, 38, 602–606.
- [55] ANGIONI A., DEDOLA F., MINELLI E., BARRA A., CABRAS P., CABONI P., Residues and half-life of pyrethrins on peaches after field treatment. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2005**, 53, 4059.
- [56] DES PRODUCTEURS DE MAÏS A.G., Traitements phytosanitaires, Disponible sur Internet à l'adresse <http://www.agpm.com/agri-durable/traitement-phytosanitaires.php>, **2008**.
- [57] INTERNATIONAL V., Fiche de données de sécurité - cire de carnauba, *Rapport technique*, VWR International, **2005**.
- [58] MARTIN J., JUNIPER B., *The cuticle of plants*, Edward Arnold, London, **1970**.
- [59] BIANCHI A., BIANCHI G., AVATO P., SALAMINI F., Biosynthetic pathways of epicuticular wax of maize as assessed by mutation, light, plant age and inhibitor studies. *Maydica* **1985**, 30, 179–198.
- [60] SEN A., Chemical composition and morphology of epicuticular waxes from leaves of *Solanum tuberosum*. *Z. Naturforsch* **1987**, 42, 1153.
- [61] HIRT R., SCHMITT R., SEARLE N., SULLIVAN A., Ultraviolet spectral energy distribution of natural sunlight and accelerated test light sources. *Journal of the Optical Society of America* **1960**, 50, 706–713.
- [62] ZEPP R.Z., CLINE D.M., Rate of direct photolysis in aquatic environment. *Environmental Science and Technology* **1977**, 11, 359–366.
- [63] DULIN D., MILL T., Development and evaluation of sunlight actinometers. *Environmental Science and Technology* **1982**, 16, 815–820.
- [64] MAKARY M., RISKALLAH M., HEGAZY M., BELAL M., Photolysis of phoxim on glass and on tomato leaves. *Bulletin of Environment Contamination and Toxicology* **1981**, 26, 413–419.

- [65] RUZO L.O., CASIDA J.E., Degradation of decamethrin on cotton plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1979**, 27, 572–575.
- [66] ROUCHAUD J., NEUS O., BULCKE R., COOLS K., EELEN H., Sulcotrione soil metabolism in summer corn crops. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* **1998**, 53, 4091–4095.
- [67] MITCHELL G., BARTLET D.W., FRASER T.E., HAWKES T.R., HOLT D.C., TOWNSON J.K., WICHERT R.A., Mesotrione: a new selective herbicide for use in maize. *Pest Management Science* **2001**, 57, 120–128.
- [68] GARCIA I., JOB D., MATRINGE M., Inhibition of p-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase by the diketone nitrile of isoxaflutole: a case of half-site reactivity. *Biochemistry* **2000**, 39, 7501–7507.
- [69] LEE D.L., KNUDSEN C.G., MICHAELY W.J., CHIN H.L., NGUYEN N.N., CARTER C.G., CROMARTIE T.H., LAKE B.H., SHRIBBS J.M., FRASER T., The structure-activity relationships of the triketone class of HPPD herbicides. *Pesticide Science* **1998**, 54, 377–384.
- [70] BÖGER P., Mode of action of herbicides affecting carotenogenesis. *Journal of Pesticide Science* **1996**, 21, 473–478.
- [71] KIM J., T.J. K., KWON O., CHO K., Mechanism of action of sulcotrione in mature plant tissues, 2, British Crop Protection Council, **2001** 557–562.
- [72] MASTICHIADIS C., CHRISTOFIDIS I., KOUPPARIS M.A., WILLETTS C., KAKABAKOS S.E., Solid-phase fluoroimmunoassay for the determination of mesotrione—a novel triketone herbicide—in water with direct measurement of the fluorescence onto the solid support. *The Analyst* **2003**, 128, 404–410.
- [73] DE L'AGRICULTURE ET DE LA PÊCHE M., Substance active : Mésotrione, Disponible sur Internet à l'adresse <http://e-phy.agriculture.gouv.fr/>, **2008**.
- [74] DE L'AGRICULTURE ET DE LA PÊCHE M., Substance active : Sulcotrione, Disponible sur Internet à l'adresse <http://e-phy.agriculture.gouv.fr/>, **2008**.
- [75] AGENCE DE RÉGLEMENTATION DE LA LUTTE ANTIPARASITAIRE C., Nicosulfuron, *Rapport technique*, Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire, Canada, **1996**.
- [76] CHABAANE H., VULLIET E., CALVAYRAC C., COSTE C.M., COOPER J.F., Behaviour of sulcotrione and mesotrione in two soils. *Pest Management Science* **2008**, 64, 86–93.
- [77] ROUCHAUD J., NEUS O., HELEN H., BULCKE R., Mobility and adsorption of the triketone herbicide mesotrione in the soil of corn crops. *Toxicological and Environmental Chemistry* **2001**, 79, 211–222.
- [78] WILSON J.S., FOY C.L., Influence of Various Soil Properties on the Adsorption and Desorption of ICIA-0051 in Five Soils. *Weed technology* **1992**, 6, 583–586.

- [79] DYSON J., BEULKE S., BROWN C., LANE M., Adsorption and degradation of the weak acid mesotrione in soil and environmental fate implications. *Journal of Environmental Quality* **2002**, 31, 613–618.
- [80] CHERRIER R., BOIVIN A., PERRIN-GANIER C., SCHIAVON M., Comparison of the leaching behaviour of two maize herbicides atrazine and sulcotrione. *Agronomy for Sustainable Development* **2005**, 25, 293–299.
- [81] ALFERNESS P., WIEBE L., Determination of mesotrione residues and metabolites in crops, soil and water by liquid chromatography with fluorescence detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2002**, 50, 3926–3934.
- [82] FREITAS L.G., GÖTZ C.W., RUFF M., SINGER H.P., MÜLLER S.R., Quantification of the new triketon herbicides, sulcotrione and mesotrione and other important herbicides and metabolites, at the ng/l level in surface waters using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* **2004**, 1028, 277–286.
- [83] DURAND S., AMATO P., SANCELME M., DELORT A.M., COMBOURIEU B., BESSE-HOGGAN P., First isolation and characterization of a bacterial strain that biotransforms the herbicide mesotrione. *Letters in applied microbiology* **2006**, 43, 222.
- [84] 91/414/EEC D., Proposed name mesotrione, Draft SC 10700, **1999**.
- [85] TER HALLE A., RICHARD C., Simulated solar light irradiation of mesotrione in natural waters. *Environmental Science and Technology* **2006**, 40, 3842.
- [86] BARRIUSO E., CALVET R., GAILLARDON P., DUBUS I., AUROUSSEAU P., BOCKSTALLER C., REAL B., MALTERRE F., *Estimation des risques environnementaux des pesticides*, Institut National de la Recherche Agronomique, **2004**.
- [87] TER HALLE A., PIQUET A., RICHARD C., An actual scenario that demonstrates sulcotrione photodegradation on maize leaves after spraying. *Environmental Chemistry* **2007**, 4, 256–259.
- [88] GLEDHILL A., JONES B., LAIRD W., Metabolism of 2-(4-methylsulphonyl-2-nitrobenzoyl)-1,3-cyclohexanedione (mesotrione) in rat and mouse. *Xenobiotica* **2001**, 31, 733–747.
- [89] ARLA, Mésotrione, Herbicide Callisto 480SCZA, *Rapport technique*, Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire, **2005**.
- [90] RUNG B., SCHWACK W., Aminoparathion: a highly reactive metabolite of parathion. 1. Reactions with polyphenols and polyphenol oxidase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2005**, 53, 9140–9145.
- [91] BOROWIAK-RESTERNA A., KLONOWSKA K., OLSZANOWSKI A., TOMASZEWSKA M., Photostability of hydrophobic amides of pyridinecarboxylic acid as copper extractants

- from chlorine media. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* **2007**, 185, 181–187.
- [92] EDREVA A., Generation and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts: a sub-molecular approach. *Agriculture, Ecosystems and Environment* **2005**, 106, 119–133.
- [93] FLORS C., NONELL S., Light and singlet oxygen in plant defense against pathogens: phototoxic phenalenone phytoalexins. *Accounts of chemical research* **2006**, 39, 293–300.
- [94] SCHWEITZER C., SCHMIDT R., Physical mechanisms of generation and deactivation of singlet oxygen. *Chemical reviews* **2003**, 103, 1685.
- [95] SOLOVCHENKO A., MERZLYAK M., Optical properties and contribution of cuticle to UV protection in plants: experiments with apple fruit. *Photochemical and photobiological Sciences* **2003**, 2, 861.
- [96] CHEN Z.M., WANG Y.H., Chromatographic methods for the determination of pyrethrin and pyrethroid pesticide residues in crops, food and environmental samples. *Journal of Chromatography A* **1996**, 754, 367–395.
- [97] OROS D.R., WERNER I., Pyrethroid Insecticides: An Analysis of Use Patterns, Distributions, Potential Toxicity and Fate in the Sacramento-San Joaquin Delta and Central Valley, *Rapport technique*, White Paper for the Interagency Ecological Program. SFEI Contribution 415. San Francisco Estuary Institute, Oakland, CA, **2005**.
- [98] KIM K.B., BARTLETT M.G., ANAND S.S., BRUCKNER J.V., KIM H.J., Rapid determination of the synthetic pyrethroid insecticide, deltamethrin, in rat plasma and tissues by HPLC. *Journal of Chromatography B* **2006**, 834, 141.
- [99] FERNANDEZ-ALVAREZ M., SANCHEZ-PRADO L., LORES M., LLOMPART M., GARCIA-JAREZ C., CELA R., Alternative sample preparation method for photochemical studies based on solid phase microextraction: synthetic pyrethroid photochemistry. *Journal of Chromatography A* **2007**, 1152, 156–167.
- [100] DE L'AGRICULTURE ET DE LA PÊCHE M., Accès alphabétique des Spécialités, Disponible sur Internet à l'adresse <http://e-phy.agriculture.gouv.fr/>, **2008**.
- [101] OCTAU S., La Pyrale du maïs : 2003 une année pour mieux comprendre, *Rapport technique*, Service Régional de la Protection des Végétaux des Pays de la Loire, **2004**.
- [102] GALERA M.M., GARCIA G.M.D., VALVERDE S.R., Determination of nine pyrethroid insecticides by high-performance liquid chromatography with post-column photoderivatization and detection based on acetonitrile chemiluminescence. *Journal of Chromatography A* **2006**, 1113, 191–197.
- [103] RUZO L.O., Involvement of oxygen in the photoreaction of cypermethrin and other halogenated pyrethroids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1983**, 31, 1113–1115, méthode d'analyse utilisée : GC-MS et RMN.

-
- [104] LAABS V., AMELUNG W., FENT G., ZECH W., KUBIAK R., Fate of ^{14}C -labeled soybean and corn pesticides in tropical soils of Brazil under laboratory conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2002**, 50, 4619–4627.
- [105] MAGUIRE R., Chemical and photochemical isomerization of deltamethrin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1990**, 38 (7), 1613.
- [106] RUZO L.O., KRISHNAMURTY V., CASIDA J.E., GOHRE K., Pyrethroids photochemistry: influence of the chloro(trifluoromethyl)vinyl substituent in cyhalothrin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1987**, 35, 879–883.
- [107] COLE L.M., CASIDA J.E., RUZO L.O., Comparative degradation of the pyrethroids tralomethrin, tralocythrin, deltamethrin and cypermethrin on cotton and bean foliage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1982**, 30, 916–920.
- [108] LEE P., SREARNS S., POWELL W., Metabolic fate of fenvalerate in wheat plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1988**, 36, 189–193.
- [109] CHATTOPADHYAYA S., DUREJA P., Photolysis of flucythrinate. *Pesticide Science* **1991**, 31, 163–173.
- [110] HOLMSTEAD R., FULLMER D., RUZO L., Pyrethroid photodecomposition: Pydrin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1978**, 26, 954–959.

GLOSSAIRE

Glossaire

abiotique

lié aux facteurs physico-chimiques du milieu.

adventice

terme désignant une mauvaise herbe dans une culture.

autotrophe

qui produit sa propre matière organique et peut ainsi se développer sur un milieu minéral.

biotique

lié à l'action d'êtres vivants.

concentré émulsionnable

solution de matière active dans un solvant organique, rendue émulsionnable par la présence de tensioactifs.

de contact

pesticide qui agit sur sa cible — plante, animal ou champignon — par contact.

Un herbicide non systémique ou de contact ne diffuse pas dans l'adventice cible. Il ne provoque de dommages qu'aux points d'impact et de pénétration.

Un insecticide de contact agit sur l'insecte cible par contact et ingestion.

dicotylédone

terme désignant l'ensemble des plantes qui appartiennent aux groupes se caractérisant par la présence de cotylédon. En botanique, le cotylédon désigne la feuille primordiale.

émulsion concentrée

émulsion aqueuse de matière active solide ou liquide, dissoute dans un solvant organique en présence de tensioactifs.

lixiviation

désorption d'un corps solide par solubilisation.

post-levée

le traitement en post-levée est effectué après la germination de la plante de culture.

pré-levée

le traitement en post-levée est effectué avant la germination de la plante de culture.

pyréthrine

groupe d'ingrédients actifs qu'on trouve dans la fleur de pyrèthre.

sélectif

toxique pour l'insecte ou l'adventice ciblés et inoffensif sur la plante de culture aux doses préconisées.

systemique

pesticide qui pénètre dans les tissus et diffuse dans tout l'organisme.

Un herbicide systémique diffuse dans la plante cible, par l'intermédiaire de la sève, de son point d'application à son site d'action à l'intérieur des cellules.

Un insecticide systémique est également véhiculé par la sève et se répand dans la plante à protéger. Ce type d'action rend l'insecticide efficace pour la lutte contre les insectes piqueurs ou phytophages.

tensioactif

composé chimique qui abaisse la tension superficielle d'un liquide et augmente ses propriétés mouillantes.

vermiculite

substance minérale composée de mica, possédant un fort pouvoir de rétention d'eau.

xénobiotique

substance étrangère à l'organisme vivant.

ANNEXES

Annexes

Annexe 1 : test d'hypothèse

Considérons β_1 et β_2 les pentes des régressions linéaires $\ln(\frac{C}{C_0}) = f(t)$ de deux réactions d'ordre 1. Deux hypothèses sont envisagées :

- hypothèse 0 : $\beta_1 = \beta_2$, appelée hypothèse nulle, qui correspond à l'égalité des deux pentes ;
- hypothèse 1 : $\beta_1 \neq \beta_2$, appelée hypothèse alternative, correspondant à une différence significative entre les deux pentes.

Pour effectuer les calculs relatifs à ce test, les valeurs de la régression sur les deux ensembles de données sont utilisés :

- N_1 et N_2 le nombre de valeurs de la première série et de la deuxième série respectivement ¹;
- Se_1 et Se_2 les écarts-types expérimentaux de l'erreur sur le calcul des pentes lors de la régression ;
- $Sx_1^2 = \sum_{i=1}^N (t_{1i}^2)$ pour la première série de données et $Sx_2^2 = \sum_{i=1}^N (t_{2i}^2)$ pour la seconde ;
- $Se_{12}^2 = \frac{(N_1-1)*Se_1^2 + (N_2-1)*Se_2^2}{N_1+N_2-2}$ correspond à l'écart type de l'erreur sur l'ensemble des données des régressions 1 et 2. Le nombre de degré de liberté est $N_1 + N_2 - 2$ car pour chacune des régressions le point de coordonnées (0;0) est fixé ;
- $S_{12}^2 = Se_{12}^2 * (\frac{1}{Sx_1^2} + \frac{1}{Sx_2^2})$ qui représente l'écart type de l'ensemble des mesures de la première et de la deuxième série.

A l'aide de ces paramètres, il est possible d'évaluer l'hypothèse d'égalité. Pour cela, le paramètre $T = \frac{|\beta_1 - \beta_2|}{s_{12}}$ représentant l'écart entre les coefficients directeurs, est comparé au facteur de Student pour un risque de 5%, et $N_1 + N_2 - 2$ degrés de liberté :

- Si T est inférieur au facteur de Student, l'hypothèse H_0 ne peut être rejetée pour le seuil de signification de 5% ;
- Si T est supérieur au facteur de Student, l'hypothèse H_0 est rejetée pour le seuil de

1. valeurs données par la régression linéaire dans Open Office Calc ou Microsoft Excel

signification de 5% ce qui signifie que les pentes sont significativement différentes pour ce seuil.

Enfin, la valeur p , correspondant à la probabilité que l'hypothèse H_0 soit vraie est accessible dans les tableaux. Cette valeur donne une information supplémentaire sur la différence entre les constantes des deux séries de mesures. Elle est inférieure à 5% dans le cas où l'hypothèse d'égalité est rejetée.

Annexe 2 : estimation de l'erreur sur la pente

L'encadrement de la valeur vraie de la pente (α) de la régression linéaire avec un niveau de confiance à 95% est donné par l'équation IV.1. La pente a est la valeur calculée par la régression linéaire et s_a est l'erreur sur la pente calculée par le logiciel.

$$\alpha = a \pm t_{N;0,025} \times s_a \quad (\text{IV.1})$$

Le pourcentage d'erreur présenté pour chaque calcul de k correspond au calcul présenté à l'équation IV.2.

$$\% = \frac{t_{N;0,025} \times s_a}{a} \times 100 \quad (\text{IV.2})$$

Résumé

Les pesticides appliqués par pulvérisation dans les cultures sont dispersés à la surface des plantes où il peuvent être transformés sous l'effet de la lumière solaire. Nous avons montré dans ce travail que les herbicides mésotrione et sulcotrione, et les insecticides cyperméthrine et deltaméthrine sorbés à la surface des cires cuticulaires, sont photosensibles. Cette propriété est modifiée par l'ajout d'additifs présents dans les formulations commerciales. Ces derniers peuvent accélérer ou ralentir la photolyse des principes actifs. Cependant, il ne semble pas y avoir de règle générale permettant de prévoir l'importance de la phototransformation pour chaque matière active. D'autre part, alors qu'en laboratoire la dissipation des pesticides étudiés est uniquement due à la phototransformation ; sur les plantes entières, d'autres phénomènes interviennent. La diffusion dans la cuticule et les pertes dues au lessivage par la pluie ou la rosée peuvent devenir prépondérantes devant la phototransformation.

Mots-clés : phototransformation, pesticide, sulcotrione, mésotrione, cyperméthrine, deltaméthrine, feuilles.

Abstract

When crops are sprayed with pesticides, the leaves are covered with fine droplets containing the active ingredient. Pesticides can then be broken down by sunlight. We showed in this work that mesotrione and sulcotrione herbicides as well as cypermethrine and deltamethrine insecticides are photolabile when sorbed on cuticular waxes. The pesticide photolysis rate can both increase or decrease, if additives from commercial formulations are added. However, we could not find a general rule that could predict the importance of the phototransformation for any pesticide. Moreover, while phototransformation was the only dissipation process during experiments in the laboratory, other dissipation processes, such as diffusion through the plant cuticle or wash off by rain or dew, can compete and even become predominant in field studies.

Key words : photolysis, pesticide, sulcotrione, mesotrione, cypermethrine, deltamethrine, leaves.