

Université
de Toulouse

THÈSE

**En vue de l'obtention du
DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE**

Délivré par :
Institut National Polytechnique de Toulouse (INP Toulouse)

Discipline ou spécialité :
Sciences des Agroressources

Présentée et soutenue par :
Marc BOURGIN

le : mardi 11 janvier 2011

Titre :

Etude de la décomposition de produits phytosanitaires par l'ozone:
Application au traitement des semences déclassées

JURY

Pierre AIMAR, Directeur de Recherche, Laboratoire de Génie Chimique, Toulouse
Dominique WOLBERT, Professeur, ENSCR, Rennes
Joël ALBET, Maître de Conférences, INPT-ENSIACET, Toulouse
Frédéric VIOLLEAU, Enseignant-Chercheur, INPT-El Purpan, Toulouse
Patrick MONDIN, Directeur, Epi de Gascogne, Francescas

Ecole doctorale :
Sciences de la Matière (SDM)

Unité de recherche :
Laboratoire de Chimie Agro-Industrielle, Institut National Polytechnique de Toulouse

Directeur(s) de Thèse :
Joël ALBET
Frédéric VIOLLEAU

Rapporteurs :
Stéphane BOUCHONNET, Ingénieur de Recherche, Ecole Polytechnique, Palaiseau
Santiago ESPLUGAS, Professeur, Université de Barcelone

REMERCIEMENTS

Je vais profiter de ces quelques lignes pour remercier ceux qui ont participé à mes côtés à cette formidable "aventure doctorale".

Je tiens, tout d'abord, à remercier les directeurs des deux laboratoires que j'ai fréquentés, Mme Vassilia Théodorou-Bayle -Professeur à l'Ecole d'Ingénieurs de Purpan et Directrice du laboratoire d'Agrophysiologie-, Mlle Marie-Elisabeth Borredon et M. Carlos Vaca-Garcia, Professeurs à l'Institut National Polytechnique et directeurs successifs du Laboratoire de Chimie Agro-industrielle- pour m'avoir permis d'intégrer leurs équipes respectives.

Je tiens bien évidemment à remercier tout particulièrement Messieurs Joël Albet et Frédéric Violleau, respectivement Maître de Conférences à l'Institut National Polytechnique et Enseignant-Chercheur à l'Ecole d'Ingénieurs de Purpan, pour avoir encadré ce travail de thèse. Pendant ces trois années, j'ai pu bénéficier de leur expérience, leurs compétences et de leur bonne humeur permanente. J'ai énormément appris à leurs côtés et beaucoup apprécié notre collaboration.

J'ai eu la chance de pouvoir réaliser ce travail dans de très bonnes conditions, grâce notamment à la société Epi de Gascogne (Francescas, 47) qui en a assuré le financement et a mis à ma disposition tous les moyens nécessaires pour mener à bien ces travaux. A ce titre, je tiens tout particulièrement à remercier Messieurs Patrick Mondin et Gérard Jacquemot, pour l'intérêt qu'ils ont manifesté à mon travail en y contribuant régulièrement grâce aux nombreuses réunions de travail que nous avons eues ensemble.

Aux membres du Jury :

A Monsieur Stéphane Bouchonnet, Ingénieur de Recherche au Laboratoire des Mécanismes Réactionnels de l'Ecole Polytechnique, et Monsieur Santiago Esplugas, Professeur à l'Université de Barcelone, qui ont accepté d'évaluer et de juger ce manuscrit en qualité de Rapporteur. Je tiens à les remercier pour l'intérêt qu'ils ont accordé à la lecture de ce manuscrit et leur exprimer ma profonde gratitude.

A Monsieur Pierre Aimar, Directeur de Recherche au Laboratoire de Génie Chimique de Toulouse, je lui adresse mes remerciements pour avoir accepté de présider ce jury de thèse.

A Monsieur Dominique Wolbert, Professeur à l'Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Rennes d'avoir bien voulu évaluer cette thèse en qualité d'examineurs.

Je tiens également à remercier:

les stagiaires – Etienne Charpentier, Magali Bize, Sébastien Durand, Barbara Méric et Kamal Benakki- qui ont participé à ce sujet et m'ont aidé dans la réussite de ce projet.

Mireille Gaucher, pour sa gentillesse, son amitié, sa disponibilité, son aide au quotidien et ses conseils techniques précieux.

Les membres des différentes écoles –notamment Mesdames Monique Berger, Anne Calmon, Aline Dumont, Cécile Levasseur, Nathalie Mailhac, Françoise Silvestre et Hélène Tormo et Messieurs Fabien Alleman, Jean Daydé, Alban Jacques, Didier Kleiber et Olivier Surel- pour leur soutien moral tout au long de cette thèse.

Je n'oublie pas non plus ceux qui ont été mes compagnons: Mickaël, Sébastien et les "filles du labo" Céline, Cherryl, Christel et Maria pour leur amitié sincère et leur bonne humeur.

Ma sympathie et ma profonde amitié vont également à mes collègues thésards -Abder, Khalid, Jérôme, Marie-Pierre et Virginie- pour leur joie de vivre, leur humour et tous les bons moments passés ensemble.

Enfin, je tiens remercier mes proches pour m'avoir soutenu et encouragé au cours de ces années, particulièrement Bérangère pour sa patience et mes parents pour m'avoir permis de suivre ces longues années d'étude. Que ce travail soit le leur!

RESUME

Etude de la décomposition de produits phytosanitaires par l'ozone : Application au traitement des semences déclassées

Chaque année en France, les semenciers sont contraints de déclasser plus de 10 000 tonnes de semences. Ces semences sont actuellement incinérées dans des cimenteries au frais des semenciers et non valorisables dans des procédés de valorisation des agro-ressources, compte tenu de leur teneur non négligeable en pesticides. Par conséquent, il apparaît nécessaire de réduire, dans un premier temps, la quantité de produits phytosanitaires présents dans les enrobages avant de pouvoir valoriser ces semences déclassées.

L'objet de cette thèse consiste donc à développer un outil permettant de décomposer une grande partie des produits phytosanitaires présents sur les enrobages par ozonation.

Dans un premier temps, une méthode d'extraction par liquide pressurisé a été développée pour la quantification des produits phytosanitaires présents sur les enrobages avant et après ozonation. Cette méthode d'extraction a été validée et a permis de déterminer, par la suite, l'efficacité du traitement d'ozonation sur les semences enrobées.

Ensuite, afin d'évaluer l'efficacité d'un traitement à l'ozone, deux pesticides présents dans la solution d'enrobage Gaucho Blé[®] -l'imidaclopride et le bitertanol- ont été ozonés, en solution aqueuse dans un réacteur agité. Les deux produits ont été dégradés complètement en moins de 30 minutes et la loi cinétique de leurs réactions d'ozonation a montré que l'ordre partiel de la réaction a été de 1 pour l'ozone et pour le pesticide. Les produits de dégradation, formés au cours de l'ozonation, ont aussi été analysés par spectrométrie de masse ESI(+)-MS et la structure de la plupart des produits de dégradation a été déterminée. Un schéma des différentes voies de dégradation de l'imidaclopride et du bitertanol a pu être proposé.

Enfin, l'ozonation des pesticides a été étudiée sur les semences de blé tendre enrobées avec la solution de Gaucho Blé[®] dans un réacteur à lit fixe. L'humidification des grains avant ozonation, la concentration en ozone dans le gaz et la durée de traitement ont semblé être les facteurs importants pour accélérer la cinétique de dégradation des pesticides dans les enrobages. Les pesticides ont été dégradés (respectivement 99 et 90 % de dégradation pour l'imidaclopride et le bitertanol). La loi cinétique de la réaction d'ozonation de l'imidaclopride et du bitertanol a présenté des ordres partiels égaux à 1 pour l'ozone et pour le pesticide. Ce procédé a ensuite été appliqué à d'autres types de semences enrobées et s'est avéré efficace sur tous les principes actifs étudiés. Enfin, les semences enrobées ont été ozonées dans un réacteur prototype (réacteur à plateau vibrant) dans lequel tous les pesticides étudiés ont été dégradés mais à des taux de dégradation plus faibles qu'en réacteur à lit fixe.

Mots clés : Ozone, Pesticides, Semences enrobées, Extraction, Cinétique, ESI(+)-MS.

ABSTRACT

Study of the decomposition of pesticides by ozone: Application for the treatment of downgraded loaded seeds

Every year in France, seed producers must downgrade more than 10,000 tons of seeds. These seeds are currently incinerated in cement factories at seed producers' expenses and non available for the processes of valorization of renewable resources, due to their significant pesticide content. Consequently, in the first step, the quantity of pesticides present in the seed loading must be reduced before a subsequent valorization of the downgraded seeds.

The purpose of this PhD work is thus to develop a process for the decomposition of a large amount of the pesticides present in the seed loading.

First, an extraction procedure by pressurized liquid was developed for the quantitation of phytopharmaceuticals present on the loading before and after the ozonation. This extraction method was validated and enabled to determine, subsequently, the efficiency of the ozonation process on the loaded seeds.

In the second time, in order to evaluate the efficiency of an ozonation treatment, both pesticides present in the Gaucho Blé[®] seed loading solution – imidacloprid and bitertanol – were ozonated, in aqueous solutions in a stirred reactor. Both compounds were completely decomposed in 30 minutes and the kinetic law for the ozonation of both compounds displayed a partial order of 1 for ozone and 1 for the pesticide. Degradation products, formed during the ozonation, were analyzed by mass spectrometry ESI(+)-MS and the structure of most of the compounds was characterized. Degradation pathways for imidacloprid and bitertanol were thus proposed.

Finally, the ozonation of pesticides were applied to soft wheat seeds loaded with Gaucho Blé[®] loading solution, in a fixed bed reactor. The humidification of seeds before ozonation, the concentration of ozone in the inlet gas and the ozonation time were the predominant factors to accelerate the kinetic of degradation of pesticides in the seed loadings. The pesticides were successfully decomposed (respectively 99 and 90 % for the degradation of imidacloprid and bitertanol). The kinetic laws for the ozonation reactions of imidacloprid and bitertanol were determined and the partial orders of the reaction were 1 for both ozone and the pesticide. This process was then applied to the treatment of other loaded seeds and showed good degradation rates for all the studied pesticides. Subsequently, the loaded seeds were ozonated in a prototype reactor equipped with a dynamic plate in which all the pesticides were decomposed but with lower degradation rates than in a fixed bed reactor.

Key words: Ozone, Pesticides, Loaded seeds, Extraction, Kinetic, ESI(+)-MS.

SOMMAIRE

Introduction générale.....	1
Chapitre I: Synthèse bibliographique	9
I.1. Les solutions d'enrobage et les semences enrobées.....	11
I.1.1. L'imidaclopride	11
I.1.2. Le bitertanol	14
I.1.3. L'anthraquinone	16
I.1.4. Les additifs	17
I.1.5. L'extraction et quantification de pesticides sur céréales	19
I.2. L'ozone	20
I.2.1. Généralités.....	20
I.2.2. Génération d'ozone.....	21
I.2.3. Propriétés physico-chimiques de l'ozone	25
I.2.4. Réactivité chimique de l'ozone par action directe.....	29
I.2.5. Applications de l'ozone pour le traitement des grains.....	39
I.3. Etude du modèle de transfert de matière.....	48
I.3.1. Absorption physique sans réaction chimique.....	48
I.3.2. Absorption physique avec réaction chimique irréversible	56
I.4. Conclusion	60
Chapitre II: Partie expérimentale.....	63
II.1. Analyses des pesticides	65
II.1.1. Quantification des pesticides sur semences	65
II.1.2. Etude des solutions ozonées	68
II.1.3. Identification des produits de dégradation par ozonation	71
II.2. Ozonation de pesticides	71
II.2.1. Description du montage	71

II.2.2.	Le générateur d'ozone.....	72
II.2.3.	Les réacteurs d'ozonation	73
II.2.4.	Destruction de l'ozone résiduel	79
Chapitre III: Extraction de pesticides sur semences enrobées		81
III.1.	Introduction.....	83
III.2.	Comparaison des performances de deux systèmes HPLC.....	83
III.3.	Etude des conditions d'extraction de pesticides	86
III.3.1.	Sélection du solvant d'extraction.....	87
III.3.2.	Effet de la température sur une extraction par liquide pressurisé	89
III.4.	Validation des méthodes d'extraction	91
III.5.	Application des deux méthodes proposées sur des échantillons de semences enrobées	92
III.5.1.	Extraction par ultrasonication des semences enrobées	92
III.5.2.	Extraction par liquide pressurisé des semences enrobées	94
III.6.	Conclusion	95
Chapitre IV: Etude de l'ozonation de pesticides en solution en réacteur agité.....		97
IV.1.	Etude du transfert et de la décomposition de l'ozone	99
IV.1.1.	Décomposition de l'ozone dans le solvant d'ozonation	99
IV.1.2.	Etude du transfert de l'ozone dans la phase aqueuse.....	100
IV.2.	Etude de la cinétique d'ozonation des pesticides.....	104
IV.2.1.	Effet des composés présents dans la solution d'enrobage Gaucho Blé® sur la dégradation des pesticides	104
IV.2.2.	Effet de l'ajout d'un piègeur de radicaux.....	111
IV.2.3.	Effet de la concentration en ozone dans le gaz entrant sur la dégradation des pesticides	113
IV.2.4.	Identification des régimes réactionnels	117
IV.3.	Identification des produits de dégradation.....	119

IV.3.1.	Produits de dégradation de l'imidaclopride	120
IV.3.2.	Produits de dégradation du bitertanol.....	140
IV.4.	Conclusion	147
Chapitre V: Etude de l'ozonation de pesticides sur semences enrobées.....		151
V.1.	Influence des paramètres d'ozonation.....	153
V.1.1.	Effet de l'humidification sur la dégradation des pesticides	153
V.1.2.	Effet du débit de gaz sur la dégradation des pesticides.....	155
V.1.3.	Effet de la concentration en ozone dans le gaz et étude de la cinétique d'ozonation des pesticides	157
V.2.	Optimisation de la réaction d'ozonation sur les taux de dégradation des pesticides.....	162
V.2.1.	Détermination des domaines expérimentaux de 3 facteurs (durée, concentration en ozone dans le gaz, débit).....	163
V.2.2.	Mise en place du plan d'expériences.....	164
V.2.3.	Analyse des variances	169
V.2.4.	Illustration de l'effet des facteurs sur les réponses	173
V.3.	Application du traitement à d'autres semences enrobées	176
V.4.	Essais d'ozonation sur un réacteur à plateau vibrant	179
V.5.	Conclusion	181
Conclusion générale		185
Table des illustrations		193
Références bibliographiques		203

Liste des abréviations

a	:	aire spécifique d'échange gaz-liquide par unité de volume de liquide (m^2/m^3)
A	:	aire interfaciale d'échange (m^2)
AFFSA	:	agence française de sécurité sanitaire des aliments
b	:	longueur du trajet optique (cm)
C_1	:	concentration molaire en ozone dissous (mol.L^{-1})
CI_{50}	:	concentration inhibitrice à 50 %
CL_{50}	:	concentration létale à 50%
CNTP	:	condition normale de température et de pression
D	:	coefficient de diffusion ($\text{cm}^2.\text{s}^{-1}$)
ddl	:	degré de liberté
E	:	facteur d'accélération du transfert de matière à l'interface gaz-liquide
EPA	:	agence de protection de l'environnement
ESI	:	electrospray
f	:	coefficient de proportionnalité
FDA	:	fédération américaine des produits alimentaires et médicamenteux
GC	:	chromatographie en phase gazeuse
GRAS	:	généralement reconnu comme sain
Ha	:	nombre de Hatta
He	:	constante de Henry (atm)
HILIC	:	chromatographie liquide à interaction hydrophile
HPLC	:	chromatographie liquide haute performance
IC	:	chromatographie à échange d'ions
IUPAC	:	union internationale de chimie pure et appliquée
k_G	:	coefficient de transfert de matière gaz-liquide côté gaz ($\text{m}.\text{s}^{-1}$)
K_G	:	coefficient global de transfert de matière gaz-liquide côté gaz ($\text{m}.\text{s}^{-1}$)
k_L	:	coefficient de transfert de matière gaz-liquide côté liquide ($\text{m}.\text{s}^{-1}$)
K_L	:	coefficient global de transfert de matière gaz-liquide côté liquide ($\text{m}.\text{s}^{-1}$)
$k_{L,a}$:	paramètre global de transfert de matière gaz-liquide côté liquide (s^{-1})
LDD	:	limite de détection
LDQ	:	limite de quantification

M	:	masse molaire (g.mol^{-1})
MS	:	spectrométrie de masse
m/z	:	rapport masse-sur-charge
N	:	vitesse de rotation du réacteur (tr.s^{-1})
n_{O_3}	:	quantité d'ozone (mol)
N_{O_3}	:	vitesse de transfert de l'ozone gaz-liquide (g.s^{-1})
$[\text{O}_3]_{\text{g}(l)}$:	concentration en ozone dans la phase gazeuse (liquide) (g.m^{-3})
$[\text{O}_3]_{\text{g}(l)}^{\text{S}}$:	concentration en ozone dans la phase gazeuse (liquide) au bord du film (g.m^{-3})
$[\text{O}_3]_{\text{gi}(li)}$:	concentration en ozone à l'interface côté phase gazeuse (côté phase liquide) (g.m^{-3})
$[\text{O}_3]_{\text{g}(l)}^*$:	concentration en ozone dans la phase gazeuse (liquide) qui serait à l'équilibre avec $[\text{O}_3]_{\text{g}(l)}$ (g.m^{-3})
OMS	:	organisation mondiale de la santé
P_G	:	puissance du réacteur (W)
P_{O_3}	:	pression partielle en ozone dans la phase gazeuse (bar)
pH	:	potentiel hydrogène
ppm	:	partie par million
Q_{ge}	:	débit volumique du gaz (L.s^{-1})
R	:	constante des gaz parfaits ($\text{J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$)
Rec.	:	taux de recouvrement
r_i	:	résidu
RSD	:	écarts-types relatifs
T	:	température (K)
TBA	:	tert-butanol
u_G	:	vitesse superficielle du gaz (m.h^{-1})
UV	:	ultraviolet
V_L	:	unité de volume de liquide (L)
$V_{\text{éch}}$:	volume de l'échantillon prélevé (mL)
V_{tot}	:	volume total de la solution analysée (mL)

V_{O_3}	:	volume molaire de l'ozone à la température d'ébullition de l'ozone ($\text{cm}^3 \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$)
x	:	fraction molaire d'ozone dans la phase liquide
Y_i	:	réponse mesurée expérimentalement
\hat{Y}_i	:	réponse calculée selon le modèle
\bar{Y}_i	:	réponse moyenne
δ_G	:	épaisseur du film côté phase gazeuse (m)
δ_L	:	épaisseur du film côté phase liquide (m)
ΔA	:	différence d'absorbance entre l'échantillon et le blanc
ΔP	:	surpression (mbar)
Φ	:	facteur d'association
μ	:	viscosité du liquide (centipoise)
ρ	:	masse volumique ($\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$)

Introduction générale

Introduction

Le marché de la semence et celui de l'alimentation sont directement liés. Par conséquent, la production de semences revêt une grande importance pour l'économie d'un pays.

Avec près de 350 000 hectares de surface cultivées, la France dispose d'un poids important dans le secteur semencier, à la fois en Europe (premier pays producteur de semences au sein de l'Union européenne) mais aussi dans le monde puisqu'il se situe au deuxième rang des exportateurs de semences.

En France, la production de semences s'organise généralement autour de 3 acteurs :

- ✓ Les agriculteurs multiplicateurs,
- ✓ Les semenciers,
- ✓ Les acheteurs.

Les semenciers, généralement des sociétés ou des coopératives, sont les intermédiaires entre les agriculteurs multiplicateurs et les consommateurs. En effet, leur rôle consiste à établir un contrat avec les agriculteurs multiplicateurs qui devront produire en une génération une grande quantité de graines à partir des semences mères d'une même variété. Le semencier est ensuite chargé de trier les graines, contrôler leur qualité (pureté, faculté germinative, qualité sanitaire) et les conditionner avant de les commercialiser vers les agriculteurs ou les particuliers.

Entre le moment où les semences sont récoltées et le moment où elles sont semées, il peut s'écouler plusieurs mois durant lesquels les semences sont généralement stockées dans des silos à grain ou des sacs. Au cours de leurs stockages, les semences sont susceptibles d'être attaquées par différents organismes (insectes, champignons, bactéries, rongeurs, etc.) qui peuvent affecter considérablement la qualité des lots de semences. Les semences sont généralement traitées par pulvérisation des produits phytosanitaires (insecticides et fongicides) sur les semences agitées dans un réacteur discontinu. Plusieurs solutions d'enrobage peuvent être appliquées sur une même semence afin de combiner les effets de chacune des solutions pour une protection optimale.

L'efficacité du traitement des semences ne se limite pas seulement à la protection des semences au cours du stockage mais se poursuit lors des premières étapes du développement

de la plantule. En effet, après semis, les produits sont diffusés dans la terre tout autour de la graine. Dès l'apparition des racines, la matière active est absorbée et amenée jusqu'aux feuilles, conférant ainsi aux jeunes plants une protection contre les maladies fongiques et les insectes ravageurs. La quantité de produits phytosanitaires appliqués sur les semences suffit à protéger efficacement la jeune plante et permet de limiter, par la suite, les traitements de type pulvérisation.

Après conditionnement, les semences doivent subir une certification avant de pouvoir être commercialisées. La certification est accordée aux semences lorsque celles-ci présentent une faculté de germination adéquate et une qualité sanitaire conforme aux réglementations en vigueur. Les lots de semences certifiées sont alors introduits dans les circuits de commercialisation. Toutefois, dans le cas des semences traitées, une partie des semences produites (allant de 1 à 3 %) restent invendues ou n'obtiennent pas la certification, généralement à cause d'un pouvoir germinatif trop faible. En effet, ces semences traitées ne peuvent être considérées comme des semences puisque le matériel végétal a été transformé par ajout de molécules exogènes. Ces semences sont alors qualifiées de semences déclassées et sont considérés comme des déchets.

Compte tenu des teneurs non négligeables en produits phytosanitaires sur les semences déclassées, l'élimination de ces dernières est soumise à des réglementations très strictes. A l'heure actuelle, la seule solution utilisée en France pour leur destruction est l'incinération dans des cimenteries agréées. Cependant, cette solution représente pour les semenciers un coût non négligeable d'environ 100 € par tonne de semences à incinérer. Il est donc dans leur intérêt de trouver une voie de valorisation moins coûteuse pour leurs semences déclassées, d'autant plus que de nombreux projets de valorisation d'agro-ressources sont à la recherche de matières premières. Le marché français des semences déclassées représente près de 12 000 tonnes par an. L'ozone, de par ses propriétés oxydantes, apparaît comme une solution envisageable et pertinente dans le but d'éliminer les produits phytosanitaires sur les semences déclassées.

Objectifs des travaux réalisés

Dans la perspective de mettre au point un procédé de dégradation de produits phytosanitaires sur les semences déclassées, la société Epi de Gascogne s'est rapproché du

Laboratoire de Chimie Agro-industrielle de l'Ecole Nationale Supérieure des Ingénieurs en Arts Chimiques Et Technologiques et le Laboratoire d'Agro-Physiologie de l'Ecole d'Ingénieurs de Purpan pour bénéficier de leurs compétences mutuelles en ozonation et en extraction de composés d'intérêt sur matrice végétale et lancer un programme de recherche sous la forme d'une thèse CIFRE.

L'objectif de cette thèse est de définir pour la première fois une méthode d'extraction et de quantification de produits phytosanitaires sur les semences enrobées. Dans un second temps, l'objectif est de valider la dégradation des produits phytosanitaires par ozonation dans une matrice simple, une solution aqueuse, de déterminer les principaux paramètres cinétiques de la réaction et d'identifier une partie des produits de dégradation. Enfin, cette étude de la dégradation des produits phytosanitaires a été effectuée sur la matrice d'intérêt, la semence enrobée. L'influence de différents paramètres a notamment été évaluée dans le but de développer un outil de traitement des semences déclassées à l'échelle industrielle.

Organisation du mémoire

Le premier chapitre est consacré à une synthèse bibliographique concernant, tout d'abord, certains pesticides – l'imidaclopride et le bitertanol - et constituants présents dans une solution d'enrobage couramment utilisée, le Gaucho Blé[®]. L'extraction des pesticides sur matrices végétales sera également abordée. Ensuite, la molécule d'ozone sera étudiée afin de présenter ses caractéristiques physico-chimiques et surtout de mieux appréhender la réactivité de cette molécule. Enfin, une partie plus orientée sur le transfert de matière de l'ozone et la détermination des paramètres de transfert de l'ozone.

Le deuxième chapitre concerne la partie expérimentale et décrit les installations, les protocoles opératoires et les techniques analytiques.

Le troisième chapitre est consacré au développement d'une méthode d'extraction de pesticides sur semences enrobées pour la quantification des produits phytosanitaires présents avant et après ozonation. L'efficacité de deux méthodes d'extraction (par ultrasons et par liquide pressurisé) sera comparée et l'influence de la nature du solvant et de la température sur les taux d'extraction sera déterminée.

Le chapitre IV traite de la dégradation de l'imidaclopride et du bitertanol en solution aqueuse. Une étude préalable de la décomposition et du transfert de l'ozone permettront de calculer certains paramètres de transfert et de les comparer avec d'autres modèles déjà établis. Par la suite, la cinétique de la réaction d'ozonation de l'imidaclopride et du bitertanol sera étudiée et une loi cinétique sera établie afin de déterminer le régime fonctionnel de chaque réaction. Enfin, les produits de dégradation des pesticides seront identifiés par ESI(+)-MS et un schéma de dégradation sera proposé.

Dans le dernier chapitre, la dégradation des pesticides sur semences de blé tendre enrobées avec du Gaucho Blé[®] en réacteur à lit fixe sera étudiée. L'intérêt d'humidifier les semences avant ozonation ainsi que l'influence de certains facteurs (débit et concentration en ozone dans le gaz) sera évaluée. La loi cinétique de la réaction de dégradation des pesticides sera également présentée. Ensuite, un plan d'expériences sera réalisé afin de caractériser l'effet de certains paramètres sur les taux de dégradation et de déterminer des conditions optimales pour la dégradation de pesticides. D'autres types de semences seront ozonés afin de vérifier si le procédé peut être appliqué à toutes les semences enrobées. Enfin, des essais seront effectués sur un réacteur de technologie et de capacité différente afin d'étudier la possibilité de transposer ce procédé à une échelle plus grande.

Chapitre I: **Synthèse bibliographique**

I.1. LES SOLUTIONS D'ENROBAGE ET LES SEMENCES ENROBEES

Le traitement de semences par enrobage constitue une des solutions les plus efficaces et les plus respectueuses pour l'environnement pour la protection des cultures. Afin d'étudier les différents composés d'une solution d'enrobage, la solution de Gaucho Blé[®], couramment utilisée pour les enrobages de semences en 2007, sera détaillée par la suite. A l'heure actuelle, les solutions d'enrobage utilisées sont des formulations aqueuses pouvant contenir plusieurs produits phytosanitaires afin de mieux protéger la semence. Le traitement Gaucho Blé[®] possède plusieurs principes actifs (leurs concentrations dans la solution d'enrobage sont indiquées entre parenthèses) : un insecticide -l'imidaclopride (175 mg.mL⁻¹)-, un fongicide – le bitertanol (37,5 mg.mL⁻¹)- et un répulsif pour oiseaux –l'antraquinone (125 mg.mL⁻¹). D'autres molécules, appelés additifs, sont également ajoutées afin d'apporter aux solutions d'autres propriétés. La dose de solution recommandée à appliquer pour un traitement efficace est de 4 litres par tonnes de semences. Les différents constituants de la solution de Gaucho Blé[®] et leurs propriétés vont être immédiatement décrits.

I.1.1. L'imidaclopride

L'imidaclopride (Figure I-1) est un produit phytosanitaire de la famille des néonicotinoïdes ou chloronicotiniles, tout comme le thiaméthoxam, l'acétamipride ou le thiaclopride. Ces molécules sont des analogues synthétiques de la nicotine dont l'effet insecticide est reconnu.

En effet, le dérivé nicotinique agit en interférant sur la transmission de stimuli dans le système nerveux central de l'insecte, spécifiquement au niveau des récepteurs acétylcholine nicotinerigues qui sont beaucoup plus abondants chez les insectes que chez les animaux à sang chaud, ce qui rend ces insecticides sélectivement beaucoup plus toxiques pour les organismes cibles. Le composé néonicotinoïde agit de manière à bloquer les récepteurs acétylcholine de l'insecte, ce qui entraîne l'accumulation de l'acétylcholine, un neurotransmetteur important et conduit à la paralysie de l'insecte puis éventuellement à sa mort. Le composé peut être actif par contact ou par ingestion [Kidd et James, 1994].

Grâce à leurs activités systémiques, les néonicotinoïdes sont généralement appliqués en traitement des semences et/ou des sols et sont actuellement utilisés pour le contrôle d'un large spectre d'insectes suceurs tels que les pucerons [Ester *et al.*, 2003 ; Gray *et al.*, 1996], les cicadelles [Nault *et al.*, 2004 ; Pons et Albajes, 2002], les thrips [Ester *et al.*, 1997], les aleurodes [Byrne *et al.*], ... Les néonicotinoïdes protègent une grande variété de cultures telles que les céréales [Ahmed *et al.*, 2001 ; Gray *et al.*, 1996 ; Simms *et al.*, 2006], le maïs [Kuhar *et al.*, 2002 ; Pons et Albajes, 2002], le tournesol [Schmuck *et al.*, 2001], les pommes de terre [Boiteau *et al.*, 1997], les légumes [Ester *et al.*, 1997], le coton [El-Hamady *et al.*, 2008], ...

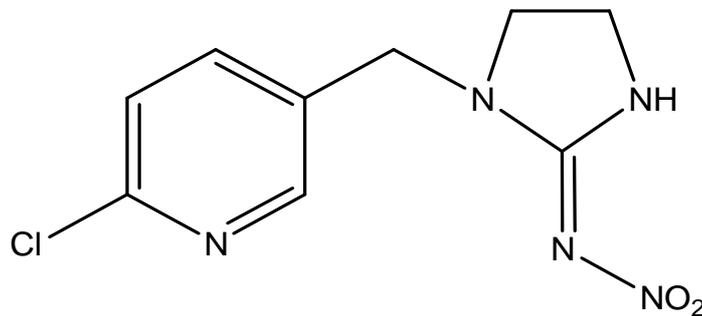


Figure I-1: Formule chimique de l'imidaclopride

L'imidaclopride est parfois reconnu comme un produit phytotoxique si son utilisation ne respecte pas les recommandations du fabricant mais son utilisation est compatible avec celle de fongicide lorsqu'il est utilisé pour le traitement de semences [Pike *et al.*, 1983].

Dans les conditions normales, l'imidaclopride est un cristal incolore et présente une solubilité relativement importante dans l'eau (610 mg.L⁻¹) par rapport aux autres pesticides présents dans les enrobages (Tableau I-1). Le composé est également très persistant en solution aqueuse à pH compris entre 4 et 9. Pour un pH supérieur à 9, l'imidaclopride est rapidement hydrolysé sous l'action des ions hydroxydes [Guzsvany *et al.*, 2006 ; Zheng et Liu, 1999].

Tableau I-1: Principales caractéristiques physico-chimiques et toxicologiques de l'imidaclopride

Nom	Imidaclopride
Nom selon la nomenclature IUPAC	1-(6-chloro-3-pyridylmethyl)-N-nitroimidazolidin-2-ylideneamine)
Formule brute	C ₉ H ₁₀ ClN ₅ O ₂
Masse molaire	255,66 g.mol ⁻¹
Etat à 25°C et pression atmosphérique	Cristal incolore avec légère odeur
Solubilité à 20°C	Eau : 610 mg.L ⁻¹ Dichloromethane : 67 000 mg.L ⁻¹ Isopropanol: 2 300 mg.L ⁻¹ Toluène: 690 mg.L ⁻¹
Hydrolyse à pH=7	Très stable (355 jours)
Pression de Vapeur Saturante	4.10 ⁻⁷ mPa à 25°C
Température de fusion	144°C
Dose journalière acceptable (Rat)	0,05 mg.kg ⁻¹ de poids corporel
Ecotoxicologie	CL ₅₀ à 96 h sur Poisson : 211 mg.L ⁻¹ CI ₅₀ à 48 h sur Daphnie : 85 mg.L ⁻¹ CL ₅₀ à 72 h sur Algues : > 10 mg.L ⁻¹

Compte tenu des différentes valeurs de toxicité et d'écotoxicologie de l'imidaclopride, ce composé est considéré par l'OMS et l'Agence de Protection de l'Environnement des Etats-Unis (US EPA) comme modérément toxique et fait l'avis d'un simple avertissement lors de son utilisation.

I.1.2. Le bitertanol

Le bitertanol est un fongicide de la famille des triazoles du fait de la présence dans sa structure d'un cycle aromatique à 5 atomes avec 2 doubles liaisons et 3 atomes d'azote (Figure I-2).

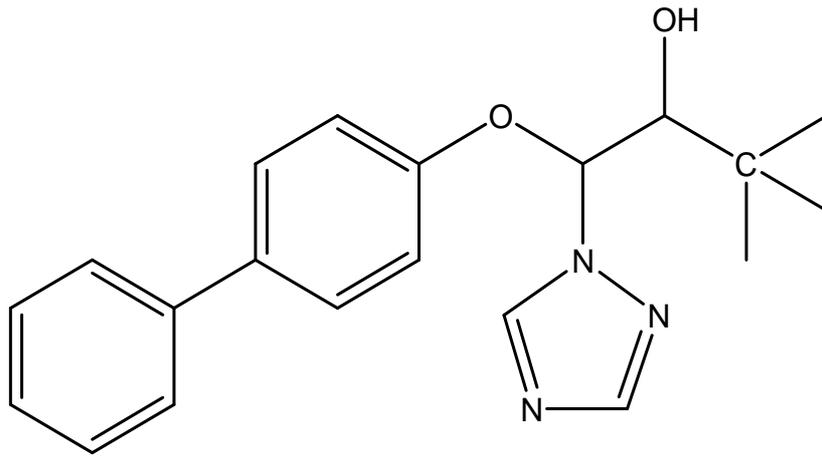


Figure I-2: Formule chimique du bitertanol.

L'activité antifongique du bitertanol et des triazoles en général s'explique par le fait que ces molécules inhibent la stérol 14 α -déméthylase chez le champignon et bloquent ainsi la biosynthèse d'ergostérol, stérol essentiel dans la membrane des champignons [Georgopapadakou, 1998 ; Joseph-Horne et Hollomon, 1997], comme décrit par la suite.

Chez toutes les espèces, le squalène, précurseur linéaire de stérols, est converti par voie enzymatique en stérols basiques par différentes réactions successives, notamment des cyclisations. Par la suite, l'enzyme stérol 14 α -déméthylase déméthyle par voie oxydante les stérols basiques. Chez les champignons, la réaction de cette enzyme conduit à un important précurseur de l'ergostérol. Le manque d'ergostérol par action des triazoles est alors préjudiciable pour les champignons.

Le bitertanol est actuellement utilisé pour la protection des céréales à paille contre la fusariose, la tavelure, la gale poudreuse, ...

Tableau I-2: Principales caractéristiques physico-chimiques et toxicologiques du bitertanol.

Nom	Bitertanol
Nom selon la nomenclature IUPAC	β -([1,1'-biphenyl]-4-yloxy)- α -(1,1-dimethylethyl)-1 <i>H</i> -1,2,4-triazole-1-ethanol
Formule brute	C ₂₀ H ₂₃ N ₃ O ₂
Masse molaire	337,42 g.mol ⁻¹
Etat à 25°C et P°	Poudre blanche
Solubilité	Eau : 3,8 mg.L ⁻¹ Dichlorométhane : 250 000 mg.L ⁻¹ Acétone: 200 000 mg.L ⁻¹ n-Octanol: 53 000 mg.L ⁻¹ Xylène: 18 000 mg.L ⁻¹
Hydrolyse à pH=7	Très stable
Pression de Vapeur Saturante	1,36.10 ⁻⁶ mPa à 25°C
Température de fusion	138,6°C
Dose journalière acceptable (Rat)	0,05 mg.kg ⁻¹ de poids corporel
Ecotoxicologie	CL ₅₀ à 96 h sur Poisson : 2,2 mg.L ⁻¹ CI ₅₀ à 48 h sur Daphnie : 7,5 mg.L ⁻¹ CL ₅₀ à 72 h sur Algue : 0,31 mg.L ⁻¹

Dans les conditions normales, le bitertanol se présente sous la forme d'une poudre blanche. Sa solubilité est très faible dans l'eau (Tableau I-2); en revanche, il est très soluble dans la plupart des solvants organiques.

Compte tenu des différentes valeurs de toxicité et d'écotoxicologie du bitertanol, ce composé est considéré par l'OMS et l'US EPA comme légèrement toxique mais il doit être manipulé avec précaution.

I.1.3. L'antraquinone

L'antraquinone est une molécule de la famille des hydrocarbures aromatiques polycycliques (Figure I-3).

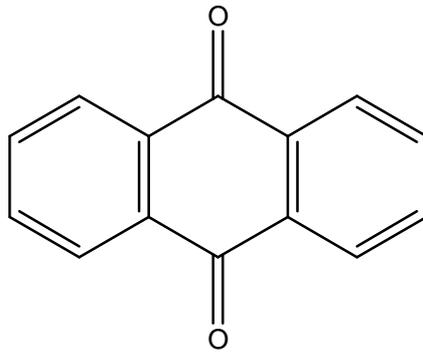


Figure I-3 : Formule chimique de l'antraquinone.

En 2007, ce produit était appliqué afin de réduire l'appétence des oiseaux envers les semences. Ce produit est insoluble dans l'eau et généralement peu soluble dans les solvants organiques (Tableau I-3).

Tableau I-3 : Principales caractéristiques physico-chimiques et toxicologiques de l'anthraquinone.

Nom	Anthraquinone
Nom selon la nomenclature IUPAC	anthraquinone
Formule brute	$C_{14}H_8O_2$
Masse molaire	208,23 g.mol ⁻¹
Famille chimique	Quinone
Etat à 25°C et P°	Solide jaune, gris ou gris-vert
Solubilité	Eau : 0,084 mg.L ⁻¹ (insoluble) CHCl ₃ : 9030 mg.L ⁻¹
Hydrolyse à pH=7	Très stable
Pression de Vapeur Saturante	5,0 x 10 ⁻³ mPa à 25°C
Température de fusion	286°C
Dose journalière acceptable (Rat)	0,0075 mg.kg ⁻¹ de poids corporel
Ecotoxicologie	CL ₅₀ à 96 h sur Poisson : 72 mg.L ⁻¹ CI ₅₀ à 48 h sur Daphnie : 10 mg.L ⁻¹ CL ₅₀ à 72 h sur Algue : 10 mg.L ⁻¹

I.1.4. Les additifs

Un colorant est généralement ajouté à la solution d'enrobage afin de repérer plus facilement les semences traitées. Pour le traitement de semences de céréales, le colorant est généralement de couleur rouge. Le colorant utilisé dans la solution d'enrobage Gaucho Blé[®] est le Pigment Red 112 ou C.I. 12370 (Figure I-4).

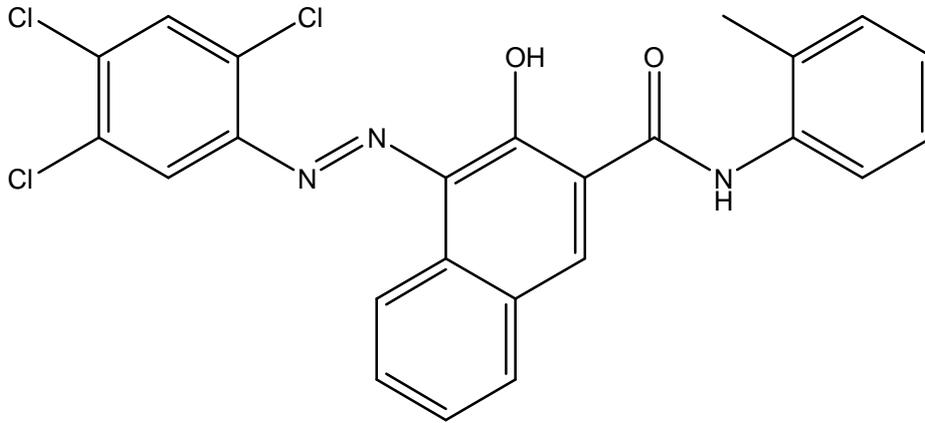


Figure I-4 : Colorant utilisé dans les solutions d'enrobage.

Compte tenu de la faible solubilité de certains pesticides dans l'eau, un co-solvant peut être ajouté en faible quantité (entre 1 et 5% en masse) dans les formulations aqueuses. Généralement, le propylène glycol –aussi appelé propane-1,2-diol- est utilisé en tant que co-solvant.

Un additif polymérique est également présent dans les enrobages afin d'assurer une couche protectrice. Le polyoxyéthylène oleyl ether (Figure I-5) est couramment utilisé en tant qu'agent polymérique.

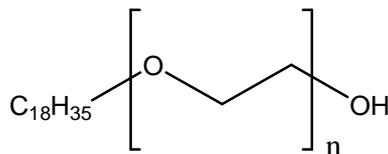


Figure I-5 : Formule chimique de l'agent polymérique polyoxyéthylène oleyl ether.

Les différents éléments de la solution d'enrobage étant connus, il faut donc maintenant s'intéresser aux différentes méthodes pour l'extraction sur céréales de ces composés, notamment des pesticides.

1.1.5. L'extraction et quantification de pesticides sur céréales

Il existe déjà de nombreuses méthodes de détermination de résidus de pesticides sur différentes matrices végétales: légumes, fruits et céréales après extraction à l'acétonitrile, l'acétate d'éthyle ou l'acétone [Fernandez-Alba *et al.*, 1996 ; Juan-Garcia *et al.*, 2005 ; Obana *et al.*, 2002 ; Rial-Otero *et al.*, 2003]. Les extraits sont parfois purifiés par extraction liquide-liquide [Hiemstra et de Kok, 2007 ; Sannino et Bandini, 2005] et/ou par extraction sur phase solide [Juan-Garcia *et al.*, 2005 ; Rial-Otero *et al.*, 2003]. Bien que de nombreuses recherches, présentes dans la littérature, évoquent l'extraction et l'analyse de résidus de pesticides sur grains, seules deux publications traitent de l'analyse de pesticides sur semences enrobées [Huijbregts *et al.*, 1995 ; Schlatter et Beste, 2005]. Dans leurs travaux, Schlatter et Beste extraient les pesticides présents sur une seule graine par une extraction assistée par ultrasons avec un mélange eau-acétonitrile (1:1, v/v) afin d'évaluer la distribution en pesticides grain-par-grain. En revanche, il n'existe aucun travail concernant l'analyse de pesticides sur un échantillon plus important de semences.

Récemment, l'extraction par liquide pressurisé est apparue comme une méthode très avantageuse pour l'extraction de pesticides, en particulier par la possibilité d'automatiser les extractions. Le principe est d'utiliser un solvant à très haute pression (supérieure à 100 bars) afin de l'utiliser à des températures supérieures à son point d'ébullition à pression atmosphérique et, par conséquent, améliorer son pouvoir extractant. Cette méthode a notamment fait ses preuves pour l'extraction de résidus de pesticides sur céréales [Pang *et al.*, 2004 ; Pihlstrom *et al.*, 2002].

L'analyse des extraits est généralement réalisée par chromatographie liquide haute performance (HPLC) plutôt que par chromatographie gazeuse. En effet, le caractère thermolabile, peu volatile et/ou peu polaire de certains composés fait que l'analyse par HPLC est généralement la plus appropriée pour l'analyse de pesticides. L'apparition de systèmes analytiques plus performants, notamment les micro-colonnes (longueur inférieure à 5 cm) à très faible granulométrie (de l'ordre de 1.5 μm) a permis d'améliorer la productivité [Koal *et al.*, 2003].

Une fois que les conditions d'extraction de pesticides auront été mises en place, le procédé d'ozonation pourra être étudié. Par conséquent, dans le paragraphe suivant, l'ozone sera présenté, notamment les différentes méthodes de production de cette molécule, ses applications et enfin son comportement au cours d'un traitement en solution.

1.2. L'OZONE

1.2.1. Généralités

Bien que sa découverte ait été annoncée il y a près de 160 ans, l'ozone a fait l'objet de nombreuses constatations bien avant cette époque. En effet, dès l'Antiquité, Homère décrivait l'odeur "soufrée" qui accompagnait les éclairs dans le ciel.

Plus tard, en 1785, le physicien hollandais van Marum [Rideal, 1920] a observé, lors de ses expériences sur une puissante machine électrique, une odeur caractéristique dans l'air lors du passage d'arcs électriques. En 1801, Cruickshank a constaté la même odeur dans le gaz formé à l'anode lors de l'électrolyse de l'eau.

En 1840, Schönbein a été le premier à annoncer la découverte de l'ozone [Schönbein, 1840]. Schönbein a mis en évidence, lors de ses expériences d'électrolyse, la formation d'une odeur étrange similaire à celle observée après un éclair. Il a alors conclu à la formation d'une nouvelle substance responsable de cette odeur et lui donna le nom d'ozone, dérivé du grec "ozein", signifiant "sentir". Plus tard, Schönbein a utilisé un papier indicateur d'ozone à base d'iodure de potassium (réduit en iode libre par ozonation) pour démontrer que l'ozone est produit naturellement dans l'atmosphère ambiante.

En 1848, Hunt a avancé l'hypothèse que l'ozone est une molécule formée de 3 atomes d'oxygène [Hunt, 1848], tandis que Andrews et Tait [Andrews et Tait, 1860] ont montré que l'oxygène, une fois converti en ozone, diminuait en volume puis reprend son volume initial quand l'ozone est reconverti en oxygène sous l'action de la chaleur.

A partir de 1857, la technologie de production d'ozone a considérablement progressé principalement grâce au développement de tubes à décharge électrique par von Siemens [von

Siemens, 1857]. Le générateur d'ozone mis au point par von Siemens consistait essentiellement en deux tubes de verre recouverts sur une face par une feuille d'étain. L'air, utilisé comme gaz d'alimentation, parcourait l'espace annulaire tandis que les surfaces métalliques sur les tubes en verre étaient connectées aux pôles d'une machine électrique. Dans une telle configuration, jusqu'à 8% de l'oxygène étaient convertis en ozone. Depuis cette date, les matériaux ont considérablement évolué et les technologies de génération d'ozone se sont diversifiées. Par ailleurs, les applications de l'ozone se sont développées et seront présentées par la suite.

I.2.2. Génération d'ozone

Tous les procédés qui permettent de dissocier l'oxygène moléculaire en oxygène atomique sont des réactions potentiellement génératrices d'ozone. Les sources d'énergie qui rendent cette dissociation possible sont basées sur les énergies des électrons ou des photons.

A l'échelle industrielle ou à l'échelle du laboratoire, l'ozone est produit principalement de trois méthodes différentes:

- ✓ Par décharge électrique
- ✓ Par radiation UV
- ✓ Par voie électrochimique

Ces trois méthodes seront décrites par la suite.

I.2.2.1 GÉNÉRATION PAR DÉCHARGE CORONA

Parmi les 3 voies de production d'ozone existantes, la méthode par décharge électrique Corona est de loin la méthode la plus couramment utilisée, notamment à l'échelle industrielle.

Le principe de cette méthode est similaire à celui mis en œuvre par von Siemens en 1857.

Ainsi, un courant contenant de l'oxygène (air purifié ou oxygène pur) traverse un espace compris entre la couche diélectrique (généralement en céramique ou en verre) sur l'électrode

haute tension et l'électrode en acier inoxydable relié à la terre (Figure I-6). Les générateurs d'ozone commerciaux utilisent deux géométries de cellules Corona: le tube concentrique ou les cellules plates. Un courant alternatif de faible intensité et haute tension est appliqué entre les deux électrodes, ce qui va entraîner la formation d'une décharge Corona entre ces deux électrodes et le gaz compris dans l'espace de décharge va alors s'ioniser partiellement.

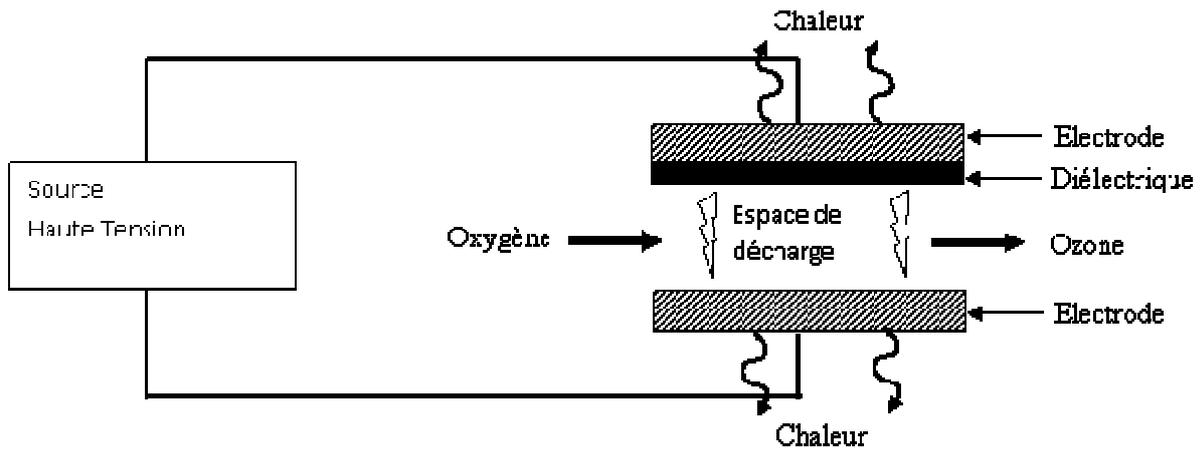
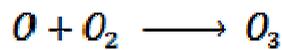


Figure I-6 : Schéma d'un générateur d'ozone par décharge électrique Corona

Dans le cas d'un générateur d'ozone par décharge Corona, le dioxygène circulant entre les deux électrodes est dissocié en atomes sous l'action d'électrons libres sur la décharge Corona ([Bensen, 1959]).

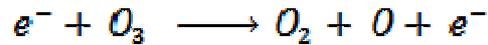


Ensuite, les atomes d'oxygène produits collisionnent avec les molécules de dioxygène pour former l'ozone:



Néanmoins, au même moment, l'oxygène atomique et les électrons libres réagissent avec l'ozone pour former de nouveau de l'oxygène.





De plus, la décharge Corona produit de la chaleur ce qui entraîne également la décomposition de l'ozone en oxygène. Afin d'éviter ce phénomène, les générateurs d'ozone utilisant les décharges électriques sont équipés d'un système de refroidissement. Le refroidissement est généralement assuré par la circulation, au niveau des électrodes, d'un fluide – généralement de l'eau ou de l'air. Celui-ci absorbe donc une grande partie de la chaleur produite lors de la décharge. Ainsi, la température au niveau de l'espace de décharge est maintenue entre une température suffisante pour une production d'ozone et une température où l'ozone se décompose lentement. Cela correspond à la température ambiante.

Le rendement de production d'ozone dépend de nombreux facteurs, notamment la teneur en oxygène et la température du gaz entrant, les contaminants dans le gaz entrant (notamment l'humidité), la puissance de la décharge Corona, la température du système réfrigérant, son débit ainsi que son efficacité d'échange thermique.

A l'heure actuelle, certains générateurs comme ceux présentés sur la Figure I-7 permettent de produire jusqu'à 26 kg d'ozone par heure.



Figure I-7: Photographie représentant deux générateurs d'ozone utilisés pour le traitement des eaux.

I.2.2.2 AUTRES METHODES DE GENERATION DE L'OZONE

En plus de la méthode de la décharge corona, ils existent d'autres méthodes pour produire de l'ozone telles que les voies photochimique et électrolytique.

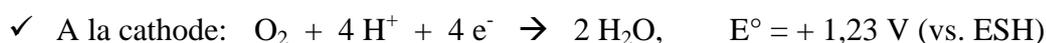
En effet, bien que les rayons α , β et X soient potentiellement susceptibles de produire de l'ozone à partir de dioxygène [Dohan et Masschelein, 1987], ce sont plus généralement les rayons ultraviolets qui sont utilisés pour la photogénération d'ozone. Le mécanisme de production d'ozone par voie photochimique est similaire à ce qui se déroule dans la stratosphère, c'est-à-dire que les atomes d'oxygène, formés suite à la photodissociation de l'oxygène moléculaire par un rayonnement UV de faible longueur d'onde ($\lambda \leq 240$ nm), réagissent avec des molécules d'oxygène pour former de l'ozone.

Lenard a été le premier à mettre en évidence la production d'ozone à partir d'oxygène exposé à un rayonnement UV à 140-190 nm [Lenard, 1900]. Goldstein a confirmé que les longueurs d'onde actives pour la génération d'ozone sont inférieures à 200 nm [Goldstein, 1903]. Dès lors, les lampes de mercure basse pression, grâce à la raie de résonance du mercure à 185 nm, ont été employées pour la photogénération de l'ozone.

Bien que cette méthode soit couramment utilisée pour la génération d'ozone, la principale limite vient du faible rendement des lampes de mercure basse pression à produire un rayonnement à 185 nm (entre 0,6 et 1,5 %).

Par voie électrochimique, l'ozone est produit à l'anode par oxydation anodique de l'eau. Dans le même temps, à la cathode, l'oxygène moléculaire est réduit en eau.

Le procédé électrolytique est donc composé des demi-réactions suivantes:



La tension théorique pour la production de l'ozone est de 0,28 V. Néanmoins, à cette tension, il ne se produit aucune réaction. Cela s'explique en partie par le fait que la réduction de l'oxygène en eau est cinétiquement lente.

Désormais que les différentes méthodes de production de l'ozone ont été développées, les propriétés physico-chimiques de cette molécule vont être décrites afin de confirmer l'intérêt d'utiliser cette molécule pour la dégradation des pesticides sur semences enrobées.

I.2.3. Propriétés physico-chimiques de l'ozone

I.2.3.1 PROPRIETES PHYSIQUES

L'ozone est un composé naturellement présent dans l'atmosphère terrestre, notamment au niveau de la stratosphère (15-50 km) en faible proportion (1-10 ppm). Il est formé par l'action des rayons solaires sur les molécules de dioxygène et joue un rôle protecteur contre les radiations ultra-violettes de longueurs d'onde comprises entre 200 et 300 nm avec un maximum d'absorption à 254 nm (Figure I-8).

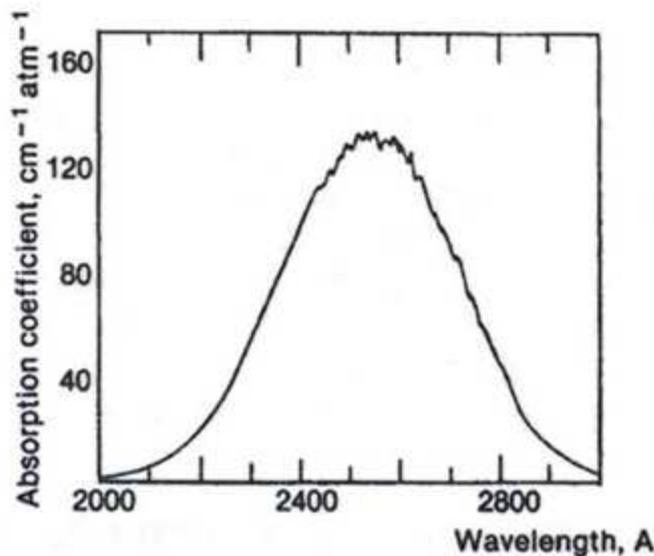


Figure I-8: Spectre d'absorption de l'ozone entre 200 et 300 nm [Calvert et Pitts, 1966].

A température ordinaire, l'ozone est un gaz instable bleu pale qui devient bleu indigo quand il se condense et bleu foncé-violet à l'état solide. L'ozone possède une odeur

caractéristique décelable à des teneurs de l'ordre de 0,01-0,02 ppm. Les principales données physiques et thermodynamiques sont présentées dans le Tableau I-4 [Manley et Niegowsky, 1967 ; Nebel, 1981].

Tableau I-4 : Principales constantes physiques et thermodynamiques de l'ozone.

Masse molaire	48,0 g.mol ⁻¹
Température de fusion	-192,5 °C
Température d'ébullition (P _{atm})	-111,9 °C
Température critique	-12,1 °C
Pression critique	55,3 bar
Enthalpie libre de formation	34,15 kcal.mol ⁻¹
Densité par rapport à l'air	1,657

Le Tableau I-5 permet de comparer le potentiel d'oxydation de l'ozone avec d'autres espèces oxydantes. L'ozone apparaît bien comme une des espèces les plus oxydantes avec un potentiel d'oxydation relatif de 2,07 V.

Tableau I-5: Potentiel d'oxydation relatif par rapport au potentiel de l'électrode standard à hydrogène [Bigda, 1995 ; Hunsberger, 1977].

Espèce	Potentiel d'oxydation (V)
Fluor	3,06
Radical hydroxyle	2,80
Atome d'oxygène	2,42
OZONE	2,07
Peroxyde d'hydrogène	1,77
Radical perhydroxyle	1,70
Acide hypochloreux	1,49
Chlore	1,36
Dioxyde de chlore	1,27
Dioxygène	1,23

I.2.3.2 SOLUBILITE DE L'OZONE

L'ozone est soluble dans de nombreux solvants formant une solution stable ou métastable. Dans les conditions standards de température et de pression, l'ozone est environ 13 fois plus soluble dans l'eau que l'oxygène mais forme une solution métastable. La stabilité de l'ozone dans l'eau dépend de la pureté de l'eau, de la température, du pH et de la pression partielle en ozone dans la phase gazeuse. C'est pour ces raisons que les valeurs de solubilité de l'ozone publiées dans la littérature varient. Par ailleurs, la plupart de ces valeurs est obtenue à partir d'ozone dilué puis les valeurs pour l'ozone à 100 % sont extrapolées. Les valeurs de solubilité de l'ozone pur dans l'eau entre 0 et 60 °C [Thorp, 1955] sont résumés dans le Tableau I-6 et montrent que l'ozone est d'autant plus soluble que la température est basse.

Tableau I-6 : Solubilité de l'ozone dans l'eau.

Température, °C	Solubilité O ₃ , g.m ⁻³
0	1090
10	780
20	570
30	400
40	270
50	190
60	140

La solubilité de l'ozone dans l'eau est donc fonction de la température mais aussi de la pression partielle en ozone.

L'ozone est également soluble dans un certain nombre de solvants organiques tels que l'acétone, l'acétonitrile ou le tétrachlorure de carbone.

I.2.3.3 STRUCTURE DE L'OZONE

L'ozone est une molécule triangulaire avec un angle au sommet de 116°45' établi par spectroscopie rotationnelle [Trambarulo *et al.*, 1953]. Les calculs sur la liaison interatomique ont conduit à une longueur de liaison de 0,126 nm [Eberhardt, 1946]. La structure de la molécule d'ozone a été décrite par Bailey [Bailey, 1978] et peut être décrite comme un hybride de résonance des formes canoniques représentées ci-dessous:

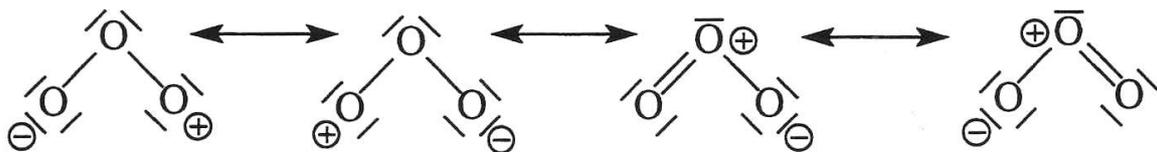


Figure I-9: Formes mésomères de l'ozone [Bailey, 1978]

Ainsi, de par sa structure, l'ozone est considéré comme un agent 1,3-dipolaire [Huisgen, 1963], un agent électrophile [Meinwald, 1955] ou un agent nucléophile.

I.2.4. Réactivité chimique de l'ozone par action directe

Les différents types d'attaque de l'ozone sur les molécules organiques vont être décrits par la suite.

I.2.4.1 REACTION DE CYCLOADDITION

Le caractère dipolaire de l'ozone permet d'expliquer sa réactivité par cycloaddition [Bailey, 1978]. Cette réaction intervient généralement au niveau des liaisons insaturées selon le mécanisme de Criegee [Criegee, 1975] ou bien au niveau des liaisons carbone-hydrogène activées ou non. Une liaison est dite activée si l'état de transition au cours de l'ozonation est stabilisé par un groupe donneur d'électrons tel que la fonction hydroxyle, alkoxy ou amine.

I.2.4.1.1. Ozonation des composés éthyléniques

En tant que dipôle, l'ozone réagit facilement avec les liaisons éthyléniques suivant le mécanisme de cycloaddition 1,3-dipolaire présentée ci-dessous:

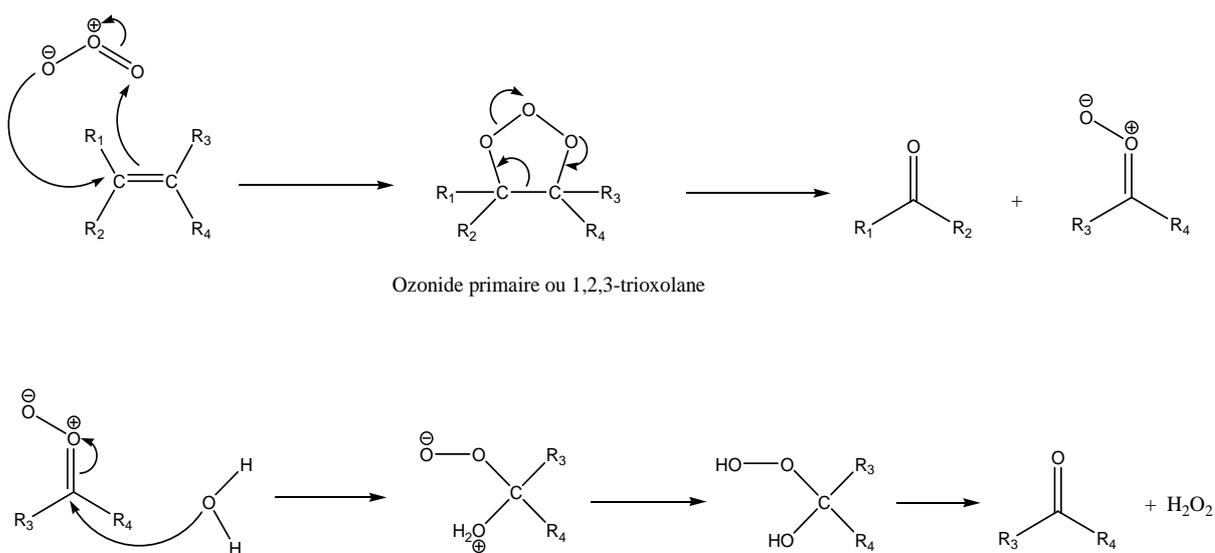


Figure I-10: Mécanisme de cycloaddition 1,3-dipolaire sur une liaison éthylénique en solution aqueuse

Ce mécanisme conduit à la formation d'un ozonide primaire instable dont la décomposition conduit à deux composés : un composé carbonyle et un oxyde de carbonyle, aussi appelé zwitterion de Criegee. Ce dernier réagit en milieu protique, par exemple en milieu aqueux, pour former un oxy-hydroperoxyde (hydroxy-hydroperoxyde en milieu aqueux) qui se décompose immédiatement pour donner un autre composé carbonyle ainsi que du peroxyde d'hydrogène. Dans un solvant non participant, l'ozonide primaire peut réagir pour donner différents composés : un 1,2,4-trioxolane, un peroxyde ou une cétone.

I.2.4.1.2. Ozonation sur les composés benzéniques

La réaction de cycloaddition 1,3-dipolaire peut aussi intervenir sur des composés benzéniques conduisant à une ouverture du noyau aromatique (Figure I-11) [Decoret *et al.*, 1984].

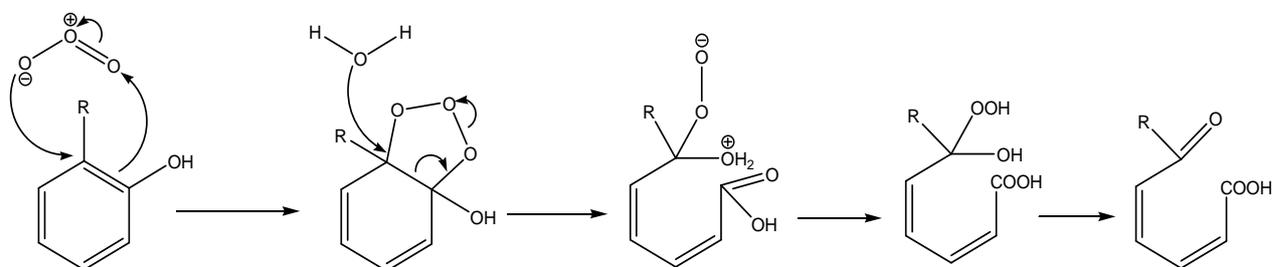


Figure I-11: Mécanisme de cycloaddition 1,3-dipolaire sur un composé benzénique

I.2.4.1.3. Ozonation sur la liaison carbone-hydrogène

Le caractère dipolaire de la molécule d'ozone peut aussi s'exprimer par un mécanisme d'insertion 1,3-dipolaire sur une liaison C-H [Bailey, 1982] (Figure I-12):

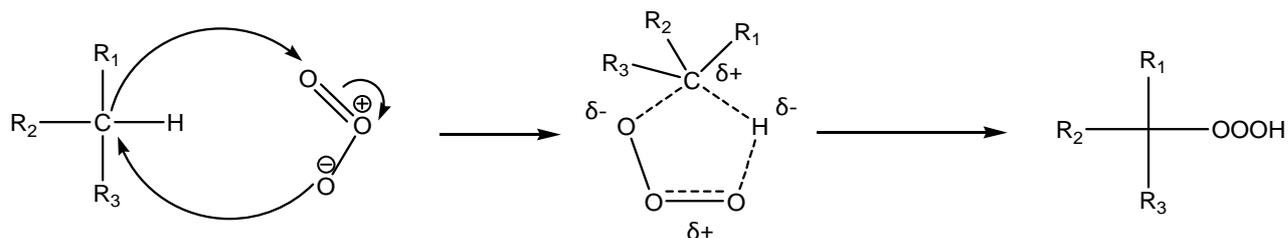


Figure I-12: Mécanisme général d'insertion 1,3-dipolaire de l'ozone dans une liaison C-H

L'état de transition, sous la forme trioxyde, se comporte comme un ion carbonium, à savoir qu'il est stabilisé lorsque les substituants R_1 , R_2 et R_3 ont un effet électrodonneur.

Dans le cas des alcools primaires, la réaction d'ozonation aboutit à la formation de l'analogue aldéhyde (par élimination d'oxygène moléculaire) ou de l'analogue acide carboxylique (par élimination de peroxyde d'hydrogène) (Figure I-13).

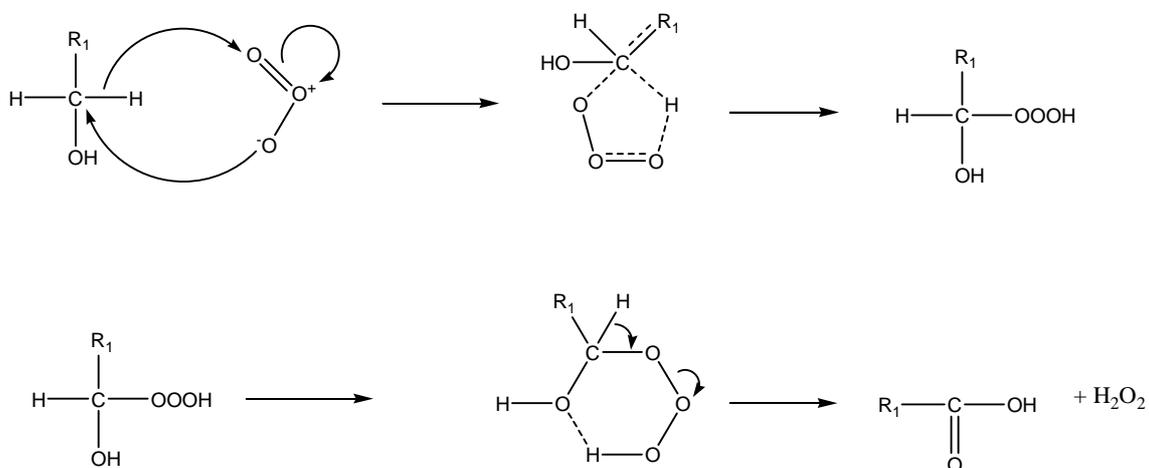


Figure I-13: Insertion 1,3-dipolaire: cas des alcools primaires

Whiting *et al.* [Whiting *et al.*, 1968] ont démontré que, dans le cas des alcools secondaires, la formation de cétones est prévalente (Figure I-14).

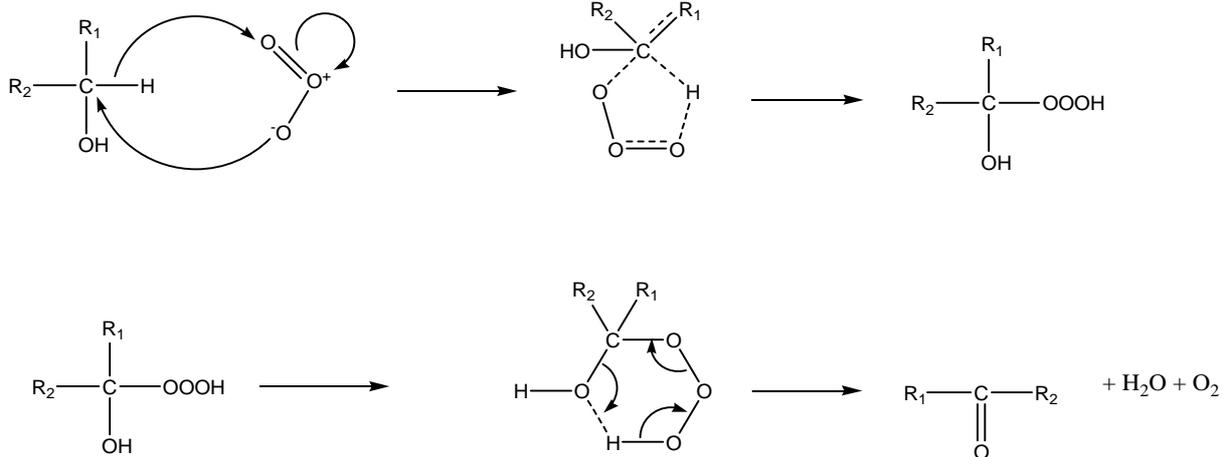


Figure I-14: Insertion 1,3-dipolaire: cas des alcools secondaires

La Figure I-15 montre le mécanisme d'ozonation des aldéhydes pour former le dérivé acide carboxylique par élimination d'oxygène [Harries, 1910].

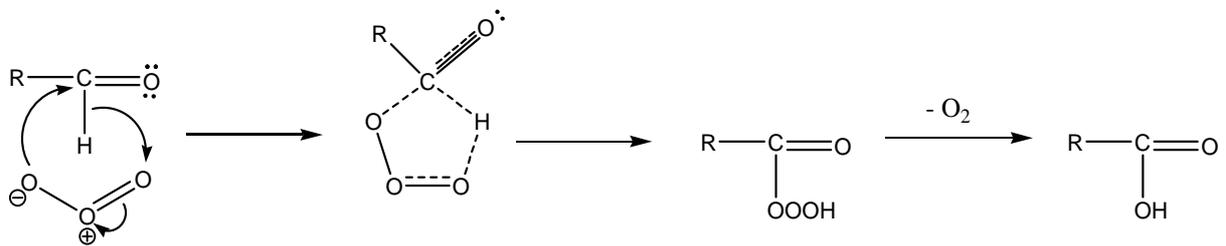


Figure I-15: Insertion 1,3-dipolaire: cas des aldéhydes

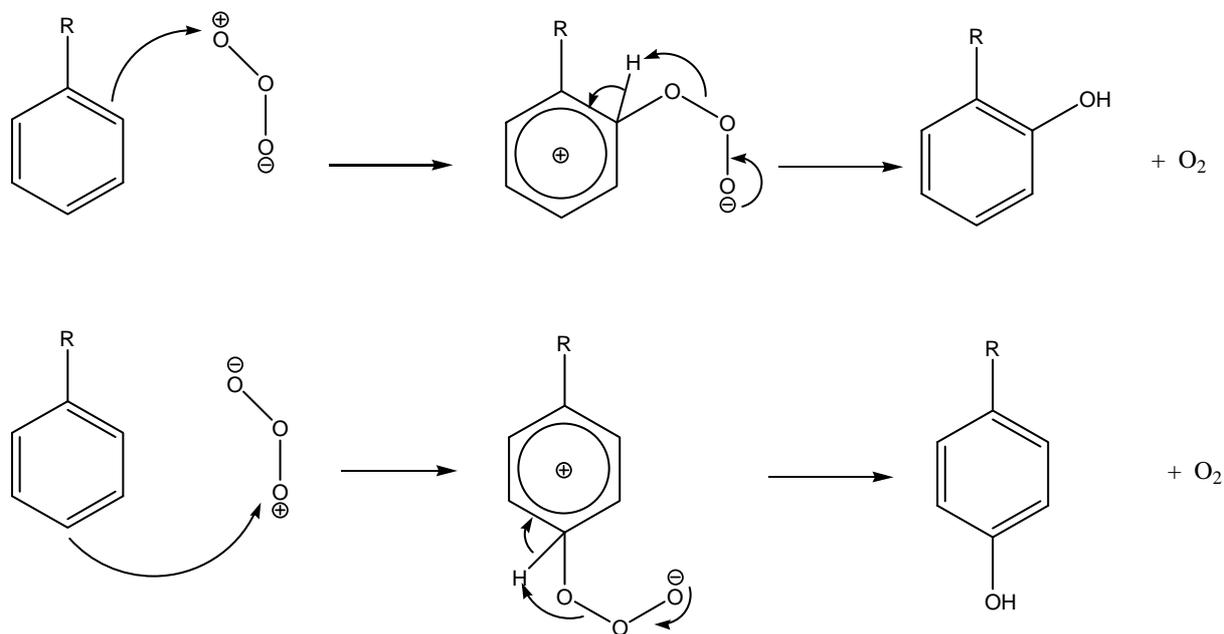
Par leur structure, les alcanes sont des molécules non activées (pas de groupes donneurs d'électrons). Par conséquent, leur réactivité avec l'ozone est assez faible et décroît dans l'ordre: C tertiaire > C secondaire > C primaire. La décomposition de l'hydrotrioxyde conduit à la formation du dérivé aldéhyde (dans le cas du carbone primaire) ou de cétone (dans le cas de carbones secondaire et tertiaire) accompagnée de peroxyde d'hydrogène.

I.2.4.2 ATTAQUE ELECTROPHILE

L'attaque électrophile peut avoir lieu sur des molécules à forte densité électronique telles que les composés aromatiques possédant un substituant électrodonneur [Bailey, 1982].

I.2.4.2.1. *Attaque électrophile sur les composés benzéniques*

Le mécanisme de substitution électrophile sur le noyau aromatique se déroule majoritairement sur les carbones en position ortho et para des substituants électrodonneurs ($R = OH, NH_2, OCH_3, \dots$) pour former des composés hydroxylés (Figure I-16). Ces derniers sont également très réactifs vis-à-vis d'une ozonation supplémentaire et peuvent aboutir à l'ouverture du cycle aromatique pour donner des aldéhydes, des cétones et/ou des acides carboxyliques, comme nous avons pu le voir au chapitre précédent.



I.2.4.2.2. Attaque électrophile sur les amines

Du fait de la forte densité électronique sur l'atome d'azote, les amines sont également facilement convertibles par addition électrophile d'ozone pour former un adduit à l'ozone.

Henbest et Stratford [Henbest et Stratford, 1964] ont montré que ce composé peut être converti, par une réaction intramoléculaire d'oxydation de la chaîne latérale et libération d'oxygène moléculaire, en amine mono-hydroxylée par une réaction proche d'une insertion 1,3-dipolaire (Figure I-17).

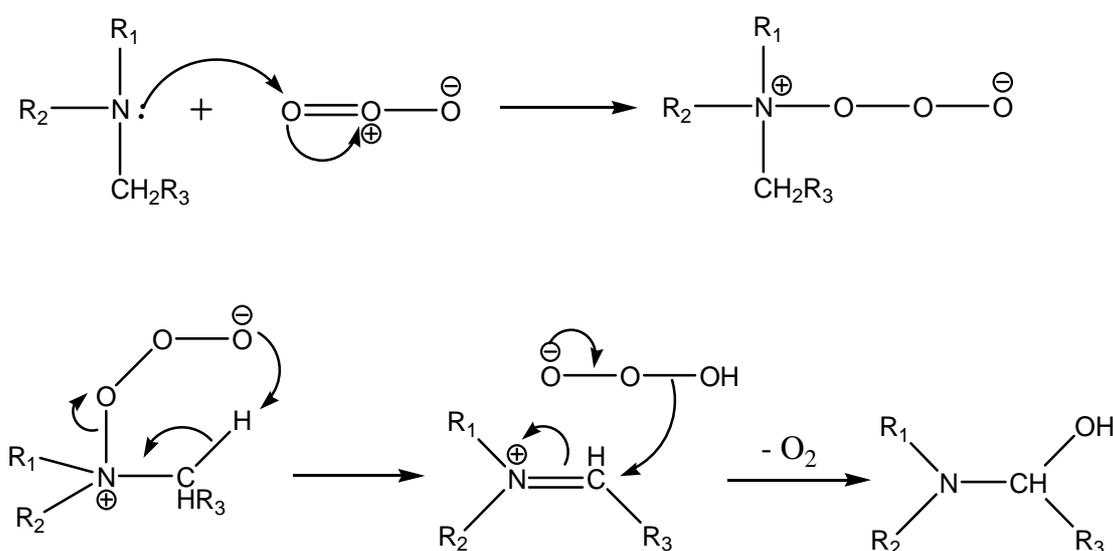


Figure I-17: Formation d'une amine hydroxylée par ozonation d'amine.

Bailey *et al.* [Bailey *et al.*, 1968] ont montré que le dérivé amine hydroxylée peut se décomposer en imine (par déshydratation) ou en aldéhyde (par désamination). Une oxydation prolongée de ces produits aboutit à la formation d'acides carboxyliques (Figure I-18).

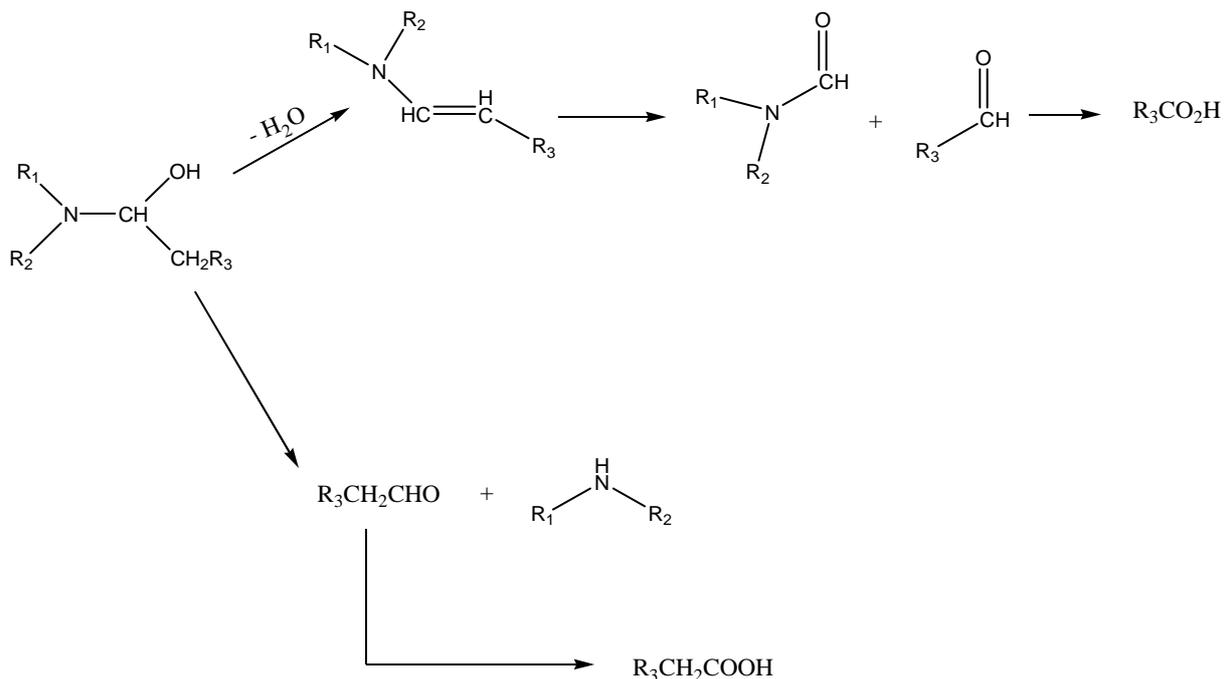


Figure I-18: Ozonation de l'intermédiaire amine hydroxylée [Bailey *et al.*, 1968].

Il a été également montré que l'adduit à l'ozone peut aboutir, par perte d'oxygène moléculaire, à la formation d'une amine-N-oxyde [Horner *et al.*, 1958 ; Strecker et Baltes, 1921]. Dans le cas d'une amine primaire ou secondaire, cette amine-N-oxyde est rapidement convertie en hydroxylamine (Figure I-19).

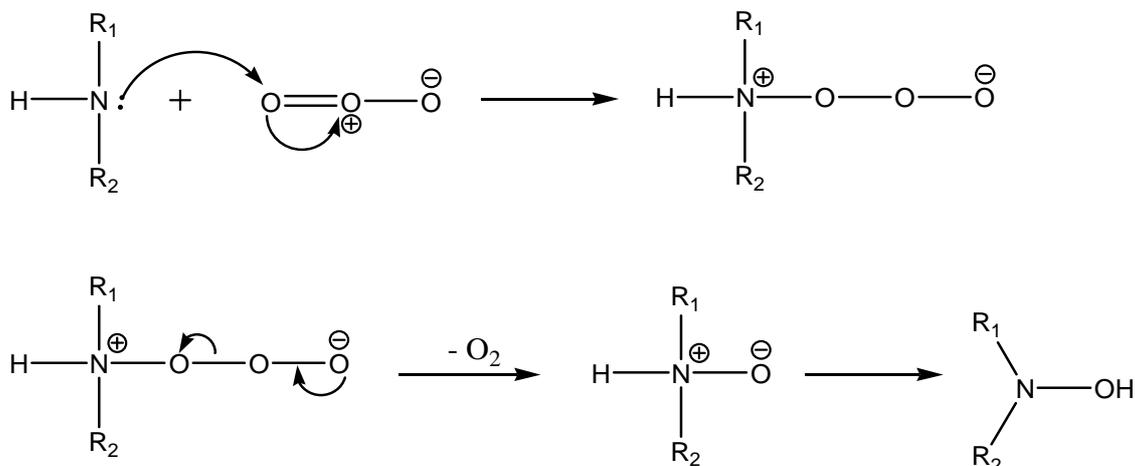


Figure I-19: Formation d'amine-N-oxyde et d'hydroxylamine par ozonation d'une amine.

Pour les amines primaires, cet intermédiaire hydroxylamine peut évoluer par ozonation de deux manières. La première aboutit à la formation d'acide carboxylique et d'ions nitrate par ozonation sur le carbone adjacent à l'azote, puis déshydratation et oxydation de l'imine [Elmghari-Tabib, 1982] (Figure I-20).

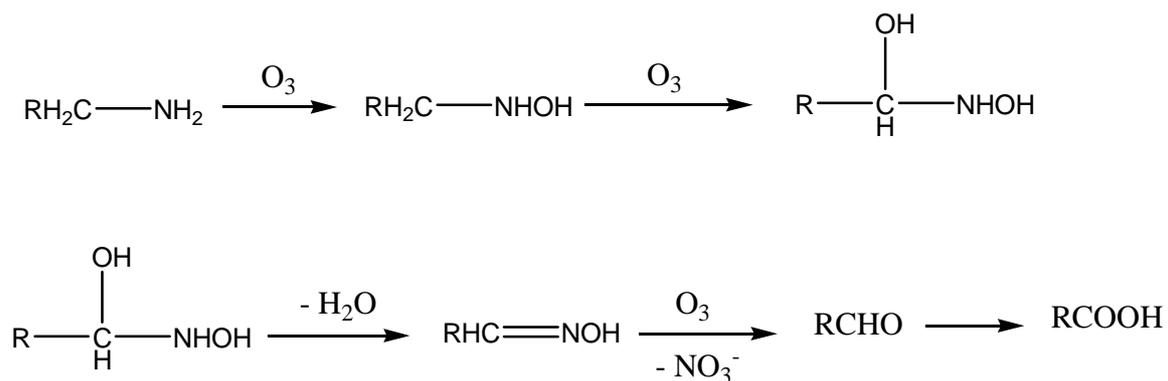


Figure I-20: Formation d'acide carboxylique par ozonation d'amine primaire et de son dérivé hydroxylamine [Elmghari-Tabib, 1982].

Le deuxième mécanisme d'ozonation du dérivé hydroxylamine correspond à une conversion en composé nitro par ozonation sur l'azote, puis déshydratation, ozonation du dérivé nitroso et perte d'oxygène moléculaire [Bailey et Keller, 1968] (Figure I-21).

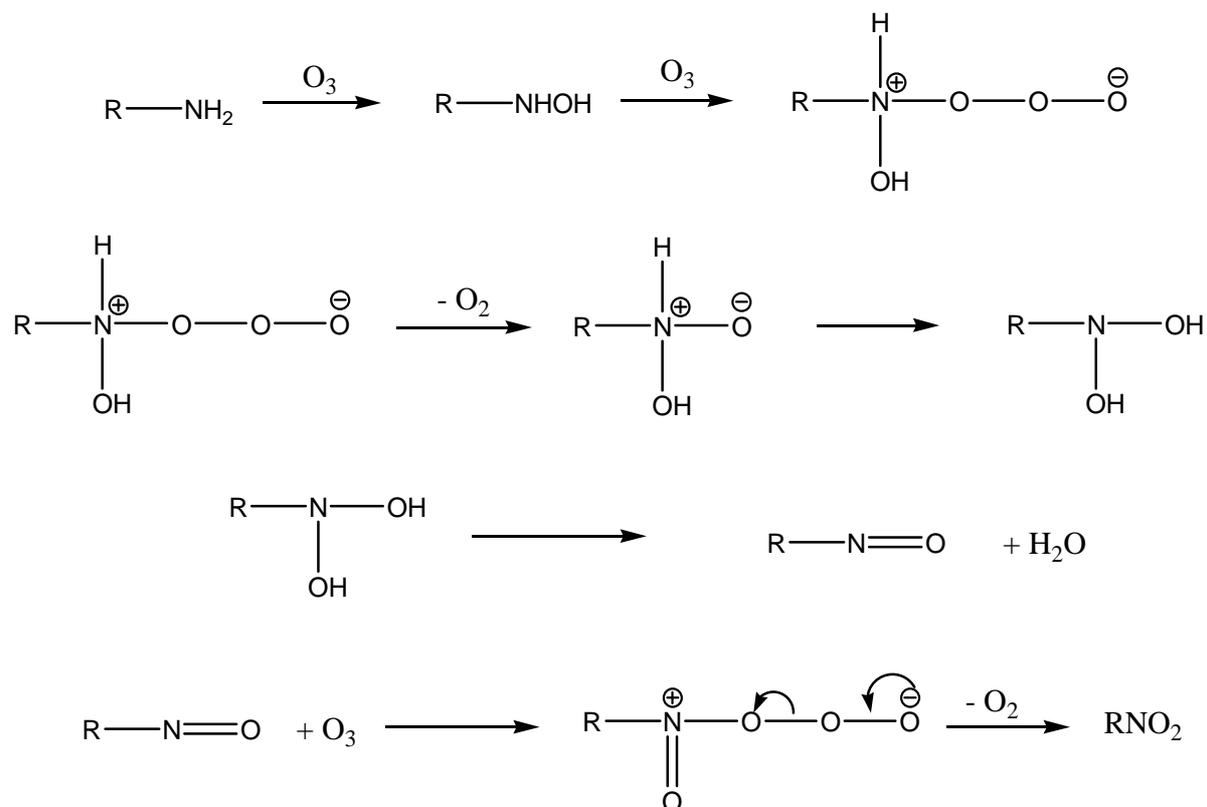


Figure I-21: Formation de nitroalcane par ozonation d'amine primaire.

I.2.4.3 ECHELLE DE REACTIVITE DE L'OZONE SUR LES COMPOSES ORGANIQUES

Hoigné et Bader ont étudié les cinétiques de dégradation par ozonation de nombreux composés organiques ou famille de composés en solution aqueuse [Hoigné et Bader, 1983a ; Hoigné et Bader, 1983b]. Certaines valeurs de constantes cinétiques d'ordre global 2 sont rassemblées dans le Tableau I-7.

Tableau I-7: Constantes cinétiques de certains composés organiques

Composé organique	k (L.mol ⁻¹ .s ⁻¹)
acide formique	5 ± 0,5
acide acétique	≤ 3.10 ⁻⁵
acide propionique	≤ 4.10 ⁻⁴
acide butyrique	≤ 6.10 ⁻³
cétones	3.10 ⁻² à 7.10 ⁻²
alcools primaires	0,4 à 0,8
alcools secondaires	≈ 2
t-BuOH	≈ 3.10 ⁻³
aldéhydes	0,1 à 8
amines protonées	≤ 0,01
amines libres	≈ 10 ⁻⁵ - 10 ⁻⁶
benzène	2 ± 0,4
phénol	(1,3 ± 0,2).10 ³
CCl ₄	≤ 5.10 ⁻³

Du fait de sa structure dipolaire et de son caractère électrophile, l'ozone réagit facilement avec les composés présentant des insaturations ou un site à forte densité électrophile. Ainsi, les amines, qui sont facilement sujettes aux attaques électrophiles, ont donc des constantes de vitesse de dégradation très élevées. Quant aux amines protonées, elles présentent des constantes de vitesse très faible vis-à-vis de l'ozone.

L'ozonation des composés réactifs à l'ozone génère généralement des sous-produits à chaîne carbonée plus courte, plus oxygénées et plus difficilement oxydables. Ainsi, hormis le cas de l'acide formique, la réactivité des acides carboxyliques est faible (≤ 6.10⁻³ L.mol⁻¹.s⁻¹).

Il est important de noter également que les composés sans liaison C-H susceptible de permettre l'insertion 1,3-dipolaire de la molécule d'ozone sont totalement inertes (ex: CCl₄).

D'après la structure chimique de l'imidaclopride (Figure I-1), ce composé peut potentiellement réagir avec l'ozone au niveau des atomes d'azote du cycle imidazolidine. De même, le bitertanol possède une fonction alcool et deux noyaux benzéniques qui sont potentiellement sujets à une oxydation par l'ozone.

L'ozone permet donc de dégrader un grand nombre de molécules. Il apparaît donc intéressant, désormais, de vérifier si l'ozonation a déjà été appliquée pour le traitement du grain.

1.2.5. Applications de l'ozone pour le traitement des grains

Le puissant effet oxydant de l'ozone a rapidement été observé lors de nombreuses réactions bien avant que sa formule chimique ne soit découverte. Ainsi, de nombreuses réactions d'oxydation par l'ozone ont été étudiées sur différentes matrices solides ou liquides. L'ozone est actuellement utilisé dans de nombreux secteurs: chimie, chimie fine, pharmacie, cosmétique, agriculture, agro-alimentaire, industrie papetière; néanmoins, son principal domaine d'application est le traitement de l'eau.

L'utilisation de l'ozone dans l'industrie agro-alimentaire devient de plus en plus courante pour la préservation des aliments depuis les années 1990, suite à la découverte de ses propriétés bactéricides et fongicides [Cullen *et al.*, 2009 ; Khadre *et al.*, 2001 ; Kim *et al.*, 1999 ; Kim, 1998 ; Restaino *et al.*, 1995]. En 1997, un comité d'experts a certifié l'ozone de substance "GRAS" ("Generally Recognized As Safe") pour de larges applications dans le secteur agro-alimentaire, notamment pour l'amélioration de la conservation des aliments [Graham, 1997]. La FDA (Food and Drug Administration) a validé l'utilisation de l'ozone en phase aqueuse ou gazeuse dans le secteur agro-alimentaire aux Etats-Unis, y compris en contact direct avec les aliments.

Outre son activité bactéricide et fongicide, l'ozone présente également d'autres avantages comparé aux autres techniques de désinfection (produits chlorés, peroxyde d'hydrogène, ...).

L'ozone s'auto-décompose rapidement en dioxygène et ne laisse donc aucune odeur et aucun goût après traitement. De plus, aucun produit organochloré n'est formé au cours de l'ozonation.

Dans le cas du stockage des grains, l'ozone est généralement appliqué par fumigation afin d'éviter l'utilisation de produits phytosanitaires (phosphore d'aluminium, bromométhane, phosphine, ...) qui sont de moins en moins efficaces sur les organismes à traiter [Pimentel *et al.*, 2009] et restent très dangereux pour l'homme et l'environnement.

I.2.5.1 OZONATION DES SEMENCES PAR VOIE SECHE **(FUMIGATION A L'OZONE)**

I.2.5.1.1. Effet de l'ozone sur les insectes

Comme il a été indiqué précédemment, l'utilisation d'insecticides tels que le phosphore d'aluminium, le bromométhane ou la phosphine pour le stockage de grains en silos posent de nombreux problèmes [Sousa *et al.*, 2009]. En effet, l'efficacité de ces produits a été remise en cause par les autorités, d'autant plus que leur toxicité pour les consommateurs et pour l'environnement s'est avérée importante. Par conséquent, l'application de l'ozone sur les semences stockées apparaît comme une solution intéressante pour lutter contre le développement d'insectes.

Ainsi, il a été démontré l'efficacité d'une fumigation à l'ozone sur le contrôle du développement d'espèces - *Tribolium castaneum*, *Rhyzopertha dominica*, *Oryzaephilus surinamensis*, *Silophilus zeamais*, ... - présentes lors du stockage de céréales [Sousa *et al.*, 2008]. Aucune espèce ne s'est révélée résistante vis-à-vis de l'ozone.

Néanmoins, l'efficacité de l'ozone peut dépendre:

- ✓ soit de l'étape de la vie de l'insecte (œuf, larve, nymphe ou adulte): dans le cas des triboliums, la sensibilité pour l'ozone est assez faible sur l'œuf [Isikber et Öztekin, 2009]. Après éclosion, c'est à l'état larvaire que la sensibilité de l'insecte est la plus importante puis elle diminue avec l'âge [Erdman, 1980].
- ✓ soit de l'insecte et de l'espèce étudiés: Par exemple, Isikber et Oztekin [Isikber et Öztekin, 2009] ont comparé la susceptibilité de deux espèces de tribolium de

la farine, *Ephestia kuehniella* et *Tribolium confusum* et ont découvert que la sensibilité vis-à-vis de l'ozone dépend non seulement de l'étape de la vie de l'insecte mais aussi de son espèce. Dans des conditions de fumigation similaires, *Ephestia kuehniella* présente un taux de mortalité de 100 % à l'état adulte tandis que seulement 5,1 % de *Tribolium confusum* sont morts.

Au cours de la fumigation, l'intoxication de l'insecte par l'ozone se fait principalement par pénétration du gaz par le système respiratoire. En effet, chez l'insecte, ce dernier est constitué de trachées, des petits tubes qui s'ouvrent à l'extérieur et qui se ramifient dans le corps afin d'alimenter directement les organes en oxygène [Lu *et al.*, 2009]. L'ozone conduit à une multitude de phénomènes d'oxydation des tissus comme la rupture de brins d'ADN, l'altération des fonctions pulmonaires, des réactions bronchiques, des oxydations des membranes et des mutations [Ballinger *et al.*, 2005 ; Bornholdt *et al.*, 2002] entraînant la mort de l'individu.

1.2.5.1.2. Effet de l'ozone sur les micro-organismes et leurs métabolites

Au cours de son stockage, le grain peut également être contaminé par différents micro-organismes (champignons, bactéries et moisissures) qui peuvent engendrer des pertes en termes de qualité et de production du grain. Les champignons présents en périphérie ou à l'intérieur du grain sont, en effet, responsables de la détérioration de la qualité nutritionnelle du grain et de la production de mycotoxines qui sont dangereuses pour la santé humaine et animale [De Lucca, 2007 ; Raila *et al.*, 2006].

Les céréales et les produits issus des céréales sont potentiellement sujets à des contaminations par différentes spores de bactéries (*Bacillus*, Coliforme, *Micrococcus*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes* et *Serratia*) et de moisissures (*Aspergillus* et *Penicillium*) [Naito et Takahara, 2006].

L'ozone est reconnu depuis de nombreuses années comme un agent capable d'oxyder un grand nombre de micro-organismes [Kim *et al.*, 1999]. Ainsi, Wu *et al.* [Wu *et al.*, 2006] et Allen *et al.* [Allen *et al.*, 2003] ont réussi à inactiver plus de 96 % des spores présentes sur des

grains de blé et d'orge en seulement 5 minutes de traitement avec une dose respective de 0,33 mg d'ozone par g de blé et par minute et 0,16 mg d'ozone par g d'orge et par minute.

L'ozone inactive les spores en dégradant, dans un premier temps, les couches externes de la paroi sporale, laissant ainsi le cortex et le noyau exposés à une nouvelle attaque de l'ozone [Foegeding, 1985 ; Khadre et Yousef, 2001].

Parallèlement au développement des spores de micro-organismes, la contamination des grains et des semences est également induite par la formation par ces micro-organismes de métabolites appelés mycotoxines. Ces molécules posent un problème important pour l'alimentation humaine et animale car il a été démontré qu'elles avaient des effets cancérigènes, mutagènes, tératogènes et immunosuppresseurs et pouvaient entraîner des troubles physiologiques à la fois chez l'être humain et chez l'animal [Fung et Clark, 2004 ; Humpf et Voss, 2004 ; Peraica *et al.*, 2008 ; Pestka et Smolinski, 2004 ; Schilter *et al.*, 2005 ; Stockmann-Juvala et Savolainen, 2008 ; Wagacha et Muthomi, 2008].

Il existe de nombreuses méthodes mises au point pour dégrader les mycotoxines:

- ✓ la décontamination biologique [Varga *et al.*, 2005 ; Völkl *et al.*, 2004],
- ✓ la dégradation thermique [Yumbe-Guevara *et al.*, 2003],
- ✓ la décomposition mécanique par broyage, extrusion [Bullerman et Bianchini, 2007],
- ✓ la dégradation chimique par une solution de carbonates [Amézqueta *et al.*, 2008 ; Ragab *et al.*, 2007] ou par dioxyde de chlore [Wilson *et al.*, 2005].

Bien que ces méthodes soient efficaces pour la dégradation de mycotoxines, leurs utilisations présentent quelques inconvénients. En effet, elles n'assurent pas toujours une sécurité totale aux consommateurs du fait de la nature des composés ajoutés ou de la formation de sous-produits toxiques. L'application de ces méthodes est parfois limitée à cause de leur coût.

L'ozonation des grains présentent en revanche beaucoup d'avantages, notamment du fait de la conversion rapide de résidus d'ozone en oxygène moléculaire après le traitement. Par ailleurs, le fort potentiel oxydant de l'ozone ainsi que son action préventive sur le

développement des micro-organismes ont été démontrés précédemment. Par conséquent, l'ozonation apparaît comme une méthode pertinente pour la décontamination des grains en mycotoxines.

Cette hypothèse a été vérifiée par de nombreux travaux qui ont montré l'efficacité de l'ozone pour dégrader les différentes mycotoxines présentes sur des grains stockés: le déoxynivalénol [Young, 1986 ; Young *et al.*, 1986], les aflatoxines [McKenzie *et al.*, 1998].

Des tests sur mammifères ont montré la capacité de l'ozone à produire des produits de dégradation moins toxiques [Gaou *et al.*, 2005 ; Lemke *et al.*, 1999 ; McKenzie *et al.*, 1997]. Par conséquent, l'ozone est un procédé intéressant pour la décontamination d'aliments et de grains afin d'assurer une plus grande qualité sanitaire aux consommateurs.

La fumigation à l'ozone (qualifiée d'ozonation par voie sèche) s'est donc avérée très efficace pour la décontamination des graines. Néanmoins, d'autres procédés d'ozonation ont été appliqués après trempage ou humidification des graines pour décontaminer les semences ou pour modifier les propriétés technologiques du grain

1.2.5.2 OZONATION DE SEMENCES PAR VOIE HUMIDE

1.2.5.2.1. Exemples de réacteur pour l'ozonation de grains par voie humide

Le procédé breveté Oxygreen[®] constitue certainement l'un des procédés les plus significatifs pour l'utilisation de l'ozone dans l'industrie agro-alimentaire. Le procédé Oxygreen[®] [Yvin *et al.*, 2001] permet le traitement à l'ozone des grains de blé ou d'autres céréales, avant mouture, en réacteur confiné, selon un procédé dit de « batch séquentiel continu » (Figure I-22). L'ozone est introduit, en mouvement ascendant, au bas du réacteur. Les grains, humidifiés dans l'enceinte du réacteur, sont convoyés, à l'aide d'une vis d'Archimède, centrale, chemisée, vers le haut du réacteur puis retombent sur les côtés. Le contre-courant entre les grains et l'ozone permet d'obtenir un contact homogène et efficace. La réaction d'ozonation étant exothermique, le corps du réacteur est équipé d'un système de refroidissement afin de maintenir la température constante.

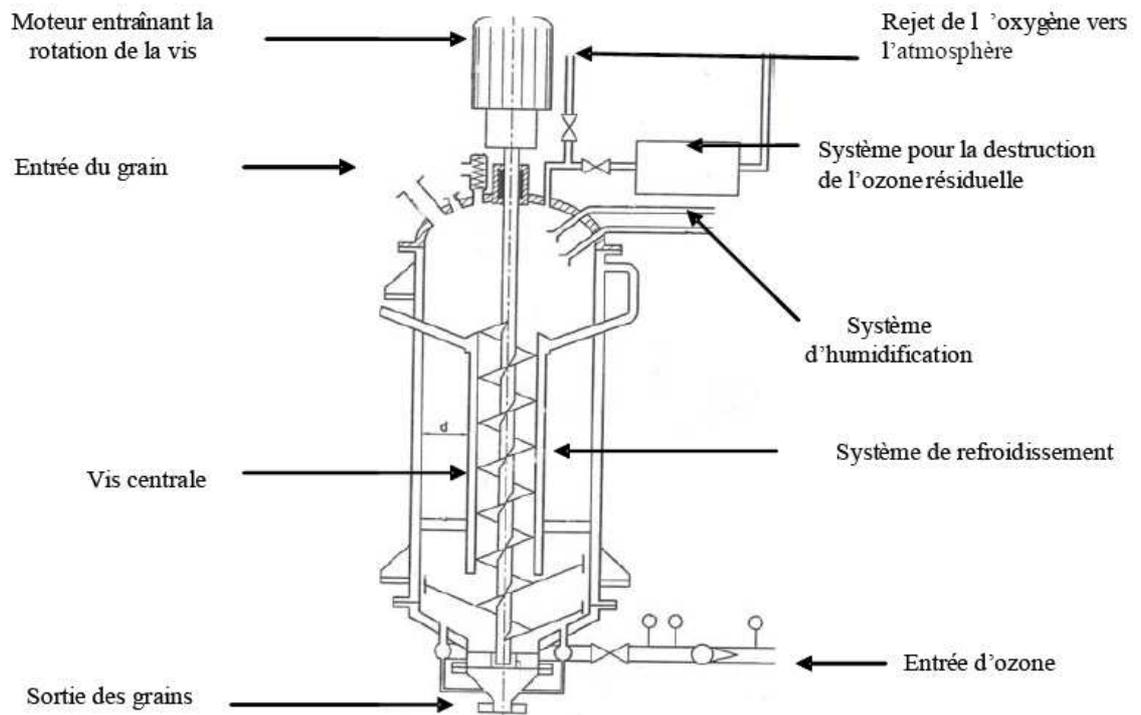


Figure I-22: Schéma du réacteur d'ozonation de grains Oxygreen® [Yvin *et al.*, 2001]

Ce procédé apporte au grain et aux farines des propriétés technologiques bénéfiques. Ces propriétés seront décrites ultérieurement.

Son utilisation a été approuvée et considérée comme sûre par l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA) dans le but de traiter des grains pour assurer une haute qualité sanitaire [Gaou *et al.*, 2005]. En effet, ce procédé permet non seulement d'éliminer pratiquement toute contamination microbologique (élimination supérieure à 99,8% pour les levures, moisissures, coliformes et la flore mésophile) mais aussi de réduire la teneur de mycotoxines et de pesticides présents sur les grains.

Plus récemment, Dhillon *et al.* [Dhillon *et al.*, 2010] ont développé un nouveau système d'ozonation en voie humide pour désinfecter les semences de blé dur en moisissures. Il s'agit d'un procédé où le grain est fluidisé par un mélange d'air et d'ozone (la concentration en ozone dans le gaz ozoné a été de 6 ppm) et humidifié par pulvérisation d'eau, d'une solution à 0,5 % d'acide acétique dans l'eau et/ou d'eau ozonée (26 mg.L⁻¹).

A l'instar du procédé Oxygreen®, les procédés d'ozonation en voie humide sont utilisés pour modifier les propriétés physiques ou technologiques de la graine.

I.2.5.2.2. Effet sur la qualité du grain

L'utilisation de l'ozone à des concentrations suffisantes pour la décontamination des grains peut entraîner des modifications de leur qualité et leur physiologie. L'ozone peut provoquer une oxydation en surface et une décoloration du grain. Mendez *et al.* [Mendez *et al.*, 2003] ont constaté cet effet après avoir ozoné des grains de riz et ils ont observé également une odeur de vinaigre, encore détectable 4 mois après le traitement.

Ibanoglu [Ibanoglu, 2001 ; Ibanoglu, 2002] a étudié le trempage de grains de blé tendre et blé dur dans de l'eau ozonée (1,5 ou 11,5 mg.L⁻¹ pendant 30 minutes) et son effet sur les propriétés des farines. Le traitement effectué permet de diminuer le nombre de bactéries et de moisissures présents sur la semence sans affecter significativement les propriétés chimiques (notamment la teneur en protéines) et rhéologiques des farines (absorption d'eau, extensibilité et résistance à l'extension) produites à partir de ce blé. Le blé tendre semble être un peu plus affecté que le blé dur, cela est sans doute dû à une meilleure pénétration de l'eau ozonée dans le blé tendre.

Des tests ont également été menés pour étudier le comportement des constituants principaux de la semence après un traitement à l'ozone (5-10 g d'ozone par kg de graines) par le procédé breveté Oxygreen[®]. Dubois *et al.* [Dubois *et al.*, 2006] ont montré que le procédé Oxygreen[®] ne modifie pas de manière significative la teneur en protéines et en vitamines des grains traités. En revanche, le traitement se traduit par une augmentation de la teneur en sucres (maltose, fructose, glucose) par consommation de l'amidon de la semence. Cette libération de sucres est généralement conservée lors de la fabrication du pain par hydrolyse enzymatique avec l'ajout d' α -amylase. Par conséquent, le procédé Oxygreen[®] assure une qualité sanitaire plus grande des grains et leur apporte aussi un atout technologique en amorçant l'étape de digestion enzymatique de l'amidon. Il est également signalé que le traitement permet une inhibition de l'activité lipasique sans enregistrer de variations concernant le taux et la répartition en acides gras [Dubois *et al.*, 2006]. Ainsi, l'inhibition de cette activité lipasique présente un avantage important en augmentant la durée de conservation des farines. Desvignes *et al.* [Desvignes *et al.*, 2008] ont montré que le traitement Oxygreen[®] réduit l'extensibilité de la couche à aleurone et augmente la friabilité du grain. Cela permet de réduire de manière significative (de l'ordre de 10 à 20 %) l'énergie

nécessaire pour le broyage des grains. Par conséquent, la fabrication de farines à partir de grains issus du procédé Oxygreen[®] présente également un intérêt économique.

L'effet de l'ozonation sur la germination et la croissance des semences a aussi été étudié. Les avis divergent quand à l'influence de l'ozone sur la germination. Ainsi, Yvin et Coste [Yvin et Coste, 1995] ont mis au point un procédé breveté pour l'amélioration de la germination et de la croissance des grains. Ces derniers sont placés dans un réacteur où l'atmosphère est enrichie en ozone et en humidité pendant 30 minutes maximum: la dose d'ozone ajoutée pendant le traitement est généralement comprise entre 1 et 30 milligrammes d'ozone par gramme de grains. Les auteurs constatent que le taux de germination est très bon (compris entre 93 et 97 %) et que la masse sèche de biomasse produite avec une graine ozonée est de 8 à 25 % plus importante que celle produite par une graine non traitée. Violleau *et al.* [Violleau *et al.*, 2008] ont également montré l'action positive de l'ozone sur le développement de semences de maïs. En effet, deux lots de semences ont été traités, le premier avec de l'oxygène pur ($[O_3] = 0 \text{ g.m}^{-3}$), le second avec un mélange O_2/O_3 ($[O_3] = 20 \text{ g.m}^{-3}$). Cette étude a montré que le lot traité (selon les deux types de conditions présentées ci-dessus) présente généralement des taux de germination plus élevés et un développement racinaire plus important que le lot non ozoné. En revanche, lorsque la durée d'ozonation est trop longue (environ 20 minutes), les effets sont beaucoup moins favorables pour la semence. Cette information avait déjà été mise en évidence par Wu *et al.* [Wu *et al.*, 2006] montrant la perte de germination de grains de blé suite à un traitement antifongique par fumigation à l'ozone. Néanmoins, bien que le traitement mis au point par Wu et ses collaborateurs diminue sensiblement le taux de germination des semences, la dose appliquée est largement supérieure à la dose nécessaire pour l'inactivation des champignons. Par conséquent, les auteurs notent qu'il serait intéressant de diminuer la dose appliquée et de valider l'efficacité du traitement sur les champignons tout en étudiant son influence sur la germination des semences.

Afin de mieux comprendre ce changement de propriétés du grain, les phénomènes de transfert de l'ozone dans la semence sont décrits dans ce qui suit.

I.2.5.2.3. *Transfert de l'ozone dans la semence*

L'application de l'ozone sur la semence se fait dans un premier temps en périphérie. Dans un second temps, du fait de la porosité des grains, l'ozone peut être transféré jusqu'aux couches internes du grain (Figure I-23). Néanmoins, en pratique, un tel transfert ne peut se faire que lorsque le grain est pré-humidifié. Canadas recommande d'humidifier une première fois à hauteur de 2 % en masse, d'attendre environ deux heures puis d'humidifier une seconde fois à un taux de 2 % massique [Canadas, 2006].

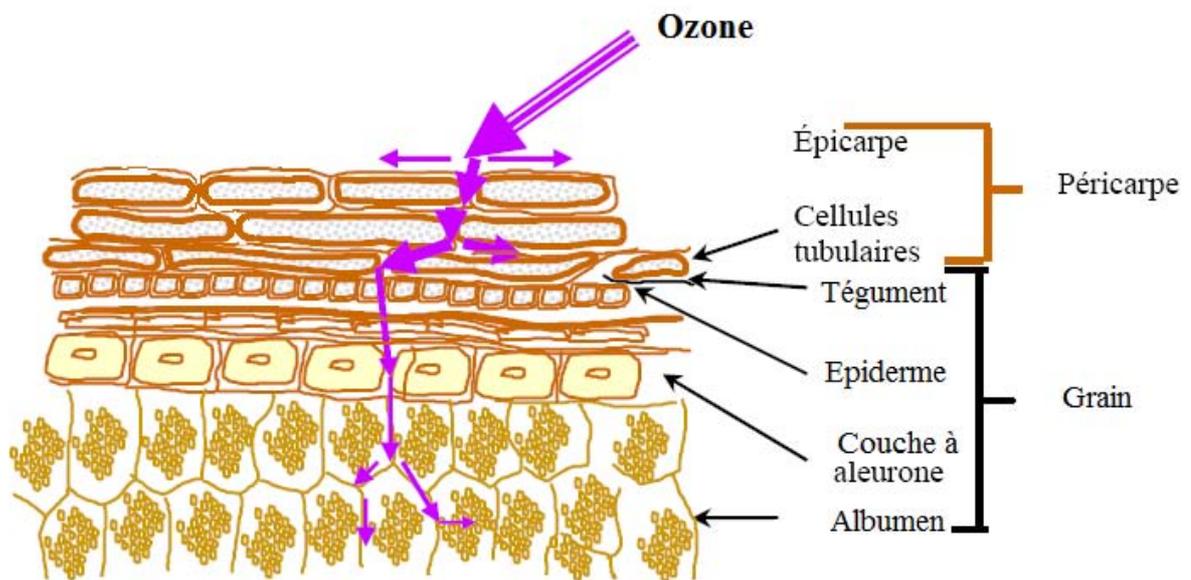


Figure I-23: Transfert de l'ozone dans le grain de blé selon Feillet [Feillet, 2000]

L'adsorption de l'ozone et son transfert dans le grain dépendent également d'autres facteurs tels que la pression relative de l'ozone, le taux d'humidité du grain, la température, la composition chimique du grain, sa teneur en matière organique "étrangère" (insectes, bactéries, champignons, mycotoxines, pesticides, ...) en périphérie du grain. Raila *et al.* [Raila *et al.*, 2006] ont montré que la présence de champignons à la surface du grain limitait la pénétration de l'ozone.

Ces derniers éléments ont permis de comprendre le transfert de l'ozone jusqu'à l'intérieur de la semence. Désormais, nous allons nous intéresser aux phénomènes qui régissent les réactions chimiques au cours de l'ozonation.

I.3. ETUDE DU MODELE DE TRANSFERT DE MATIERE

Afin d'étudier les réactions d'ozonation, il est nécessaire d'appréhender l'ensemble des phénomènes mis en jeu au cours de ces réactions. Dans un premier temps, le cas du transfert de l'ozone dans le liquide (absorption physique) sans réaction chimique sera abordé avant de s'intéresser au cas où l'ozone dissous réagit avec un composé en solution.

I.3.1. Absorption physique sans réaction chimique

Concernant le transfert de matière en phase liquide, plusieurs modèles simplifiés ont été développés. Chacun de ces modèles est basé sur des hypothèses distinctes quant au comportement du liquide et aboutit à une expression différente du coefficient de transfert de matière k_L .

Les modèles les plus couramment utilisés sont le modèle du double film [Lewis et Whitman, 1924], les modèles à renouvellement de surface [Danckwerts, 1951 ; Higbie, 1935], les modèles combinés [Dobbins, 1956 ; Toor et Marchello, 1958] et le modèle à diffusivité turbulente [King, 1966].

Le modèle le plus simple et le plus couramment utilisé pour représenter le transfert de l'ozone en phase aqueuse est le modèle du double film de Lewis.

I.3.1.1 MODELE DU DOUBLE FILM

Ce modèle suppose l'existence de part et d'autre de l'interface, la présence d'un film gazeux d'épaisseur δ_G et d'un film aqueux d'épaisseur δ_L où la résistance au transfert a lieu (Figure I-24).

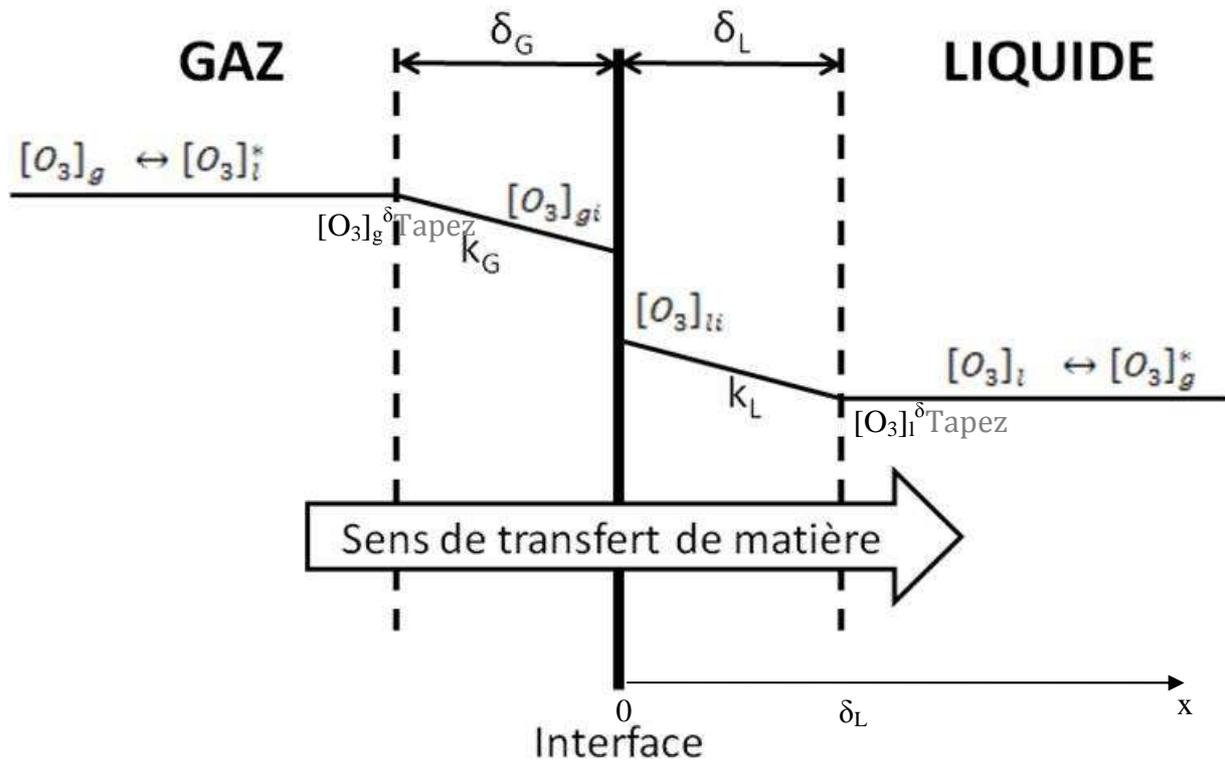


Figure I-24: Modèle du double film de Lewis (Lewis, 1924)

avec:

$[O_3]_g(t)$: concentration en ozone dans la phase gazeuse (ou liquide) (g.m^{-3}),

$[O_3]_g^{\delta}(t)$: concentration en ozone dans la phase gazeuse (ou liquide) au bord du film (g.m^{-3}),

$[O_3]_{gi}(t)$: concentration en ozone à l'interface côté phase gazeuse (ou côté phase liquide) (g.m^{-3}),

$[O_3]_g^*(t)$: concentration en ozone dans la phase gazeuse (ou liquide) qui serait à l'équilibre avec $[O_3]_l(t)$ (g.m^{-3}).

L'équation de transfert s'écrit:

(Quantité transférée par unité de temps)
 = (Coefficient de transfert). (Surface d'échange). (Potentiel d'échange)

soit:

$$N_{O_3} = k_G \cdot A \cdot ([O_3]_g - [O_3]_{gi}) = k_L \cdot A \cdot ([O_3]_{li} - [O_3]_l)$$

$$N_{O_3} = K_G \cdot A \cdot ([O_3]_g - [O_3]_g^*) = K_L \cdot A \cdot ([O_3]_i^* - [O_3]_l)$$

avec:

k_G et k_L (K_G et K_L) : les coefficients de transfert de matière (globaux) au sein de chaque phase
 (m.s⁻¹),

A : aire interfaciale d'échange (m²).

Dans le cas du transfert de l'ozone dans l'eau, on admet généralement que toute la résistance est localisée côté liquide [Summerfelt et Hochheimer, 1997]. En effet, l'ozone est relativement peu soluble dans l'eau. De ce fait, la résistance côté gaz est négligée et $[O_3]_{li} = [O_3]_i^*$.

Dans un échangeur gaz-liquide, il est souvent difficile de déterminer la valeur de l'aire interfaciale d'échange. Par conséquent, on explicite ce nombre par rapport au volume de phase liquide (V_L), soit $a = A/V_L$, surface spécifique d'échange (m⁻¹). L'équation de transfert peut alors s'écrire:

$$N_{O_3} = k_L \cdot a \cdot ([O_3]_i^* - [O_3]_l) \cdot V_L$$

Dans cette dernière équation, il apparaît le produit $k_L \cdot a$ défini comme le paramètre global de transfert de matière. Ce paramètre ainsi que les autres paramètres importants aux transferts seront définis dans le paragraphe suivant.

I.3.1.2 DETERMINATION DES PARAMETRES DE TRANSFERT

I.3.1.2.1. Le paramètre global de transfert $k_L \cdot a$

Le paramètre global de transfert peut être déterminé par plusieurs méthodes expérimentales [Charpentier, 1981].

L'opération en régime transitoire est généralement utilisée pour la détermination de $k_L \cdot a$. En pratique, on suit l'évolution, au cours du temps, de la concentration en ozone dissous dans la phase liquide contenue dans le réacteur tandis que le gaz est introduit en continu dans le réacteur. L'équation du bilan s'écrit ainsi:

$$\frac{d[O_3]_l}{dt} = k_L \cdot a \cdot ([O_3]_i^* - [O_3]_l)$$

En considérant la concentration en ozone à l'interface côté liquide constante et en prenant, à $t = 0$, $[O_3]_l = 0$, l'intégration de l'équation précédente donne:

$$\ln\left(\frac{[O_3]_i^* - [O_3]_l}{[O_3]_l}\right) = -k_L \cdot a \cdot t$$

Dans la bibliographie, de nombreux modèles permettent d'évaluer la valeur de $k_L \cdot a$ en fonction des conditions de mise en contact des phases.

Ainsi, dans le cas des réacteurs agités, les valeurs de $k_L \cdot a$ sont habituellement corrélées à la vitesse superficielle du gaz et à la vitesse de rotation du système ou à la puissance consommée par unité de volume de liquide. Les différentes formules sont présentées dans le Tableau I-8.

Tableau I-8: Expressions de la valeur de $k_L.a$

Auteurs	Expression de $k_L.a$
[Ghaieb, 1990]	$k_L.a = 2,048.10^{-3} . (Q_{gs})^{0,442} . (N)^{1,468}$
[Ouederni <i>et al.</i> , 1987]	$k_L.a = 2,57.10^{-2} . (Q_{gs} . N)^{0,67}$
[Linek <i>et al.</i> , 1988]	$k_L.a = constante . \left(\frac{P_G}{V_L}\right)^m . u_G^{0,4}$
[Qiu, 1999]	$k_L.a = constante . \left(\frac{P_G}{V_L}\right)^{0,4} . u_G^{0,74}$

avec:

$k_L.a$ en s^{-1}

- Q_{ge} : débit volumique du gaz ($L.s^{-1}$),
- N : vitesse de rotation de l'agitateur ($tr.s^{-1}$),
- P_G : consommation de puissance (W),
- V_L : unité de volume de liquide (L),
- u_G : vitesse superficielle du gaz ($m.h^{-1}$).

Dans le cas de la formule de Linek, les valeurs courantes de m sont comprises entre 0,6 et 0,9.

I.3.1.2.2. Coefficient de diffusion de l'ozone dans l'eau

Le coefficient de diffusion de l'ozone dans l'eau D_{O_3-eau} peut être déterminé grâce à différentes relations empiriques. La relation la plus couramment utilisée (dans le cas de solutés très dilués) est l'équation de Wilke et Chang [Wilke et Chang, 1955]:

$$D_{O_3-eau} = 7,4.10^{-8} . \frac{(\Phi . M_{eau})^{0,5} . T}{\mu . V_{O_3}^{0,6}}$$

avec:

D_{O_3-eau} en $cm^2.s^{-1}$,

Φ : facteur d'association (égal à 2,6 pour l'eau),

M_{eau} : masse molaire de l'eau ($g.mol^{-1}$),

T : température (K),

μ : viscosité du liquide (centipoise),

V_{O_3} : volume molaire de l'ozone à la température d'ébullition de l'ozone ($cm^3.g^{-1}.mol^{-1}$).

Le coefficient de diffusion de l'ozone dans l'eau est proportionnel à la température. Ainsi, à 20°C, la valeur de D_{O_3-eau} est égale à $1,74.10^{-9} cm^2.s^{-1}$.

I.3.1.2.3. La concentration en ozone à l'équilibre $[O_3]_l$

La solubilité de l'ozone dans l'eau suit la loi de Henry. Ainsi, la fraction molaire d'ozone dans la phase liquide est reliée à la pression partielle dans la phase gazeuse par la relation suivante:

$$P_{O_3} = H_e . x$$

avec:

P_{O_3} : pression partielle en ozone dans la phase gazeuse,

x : fraction molaire d'ozone dans la phase liquide,

H_e : constante de Henry (atm).

En utilisant la loi des gaz parfaits, la fraction molaire d'ozone dans la phase liquide peut être écrite ainsi:

$$x = \frac{P_{O_3}}{H_e} = \frac{n_{O_3} . R . T}{H_e . V} = \frac{[O_3]_g . R . T}{M_{O_3} . H_e}$$

avec:

$[O_3]_g$: concentration en ozone dans la phase gazeuse ($g.L^{-1}$),

n_{O_3} : quantité d'ozone (mol),

M_{O_3} : masse molaire de l'ozone ($g.mol^{-1}$),

R : constante des gaz parfaits ($8,314 J.mol^{-1}.K^{-1}$),

T : température (K).

Dans le cas de solutions diluées, la fraction molaire d'un composé est reliée à la concentration molaire par la relation:

$$x = C_1 \cdot \frac{M_S}{\rho_S}$$

avec:

C_1 : concentration molaire en ozone dissous ($mol.L^{-1}$)

M_S : masse molaire du solvant ($g.mol^{-1}$)

ρ_S : masse volumique du solvant ($kg.m^{-3}$)

On en déduit alors l'expression de la concentration en ozone dissous dans l'eau à l'équilibre:

$$[O_3]_l^* = \frac{\rho_{H_2O}}{M_{H_2O}} \cdot \frac{R \cdot T}{He} \cdot [O_3]_g$$

Roth et Sullivan [Roth et Sullivan, 1981] ont donné une relation empirique exprimant la valeur de la constante de Henry en fonction de la température et de la concentration en ions hydroxydes:

$$He = 3,84 \cdot 10^7 \cdot [OH^-]^{0,035} \cdot \exp\left(\frac{-2428}{T}\right)$$

avec:

He : constante de Henry (atm)

T : température (K)

1.3.1.2.4. Le coefficient de transfert côté liquide k_L

Le coefficient de transfert côté liquide est un paramètre important pour déterminer le nombre de Hatta (nombre qui sera défini ultérieurement). La théorie du double film de Lewis et Whitman établit qu'à l'intérieur du film, les phénomènes de convection sont négligés et le régime est considéré stationnaire. Par conséquent, l'équation de bilan massique dans la phase liquide peut s'écrire:

$$D_{O_2-eau} \frac{\partial^2 [O_3]_l}{\partial x^2} = 0$$

avec en $x = 0$, $[O_3]_l = [O_3]_{ii}$

en $x = \delta_L$, $[O_3]_l = [O_3]_i^\delta$

La solution de l'équation différentielle conduit à une solution simple de $[O_3]_l$:

$$[O_3]_l = \frac{[O_3]_i^\delta - [O_3]_{ii}}{\delta_L} \cdot x + [O_3]_{ii}$$

En appliquant la loi de Fick, l'équation de transfert massique à l'interface s'écrit:

$$N_{O_2}^0 = -D_{O_2-eau} \cdot \left. \frac{d[O_3]_l}{dx} \right|_{x=0} = \frac{D_{O_2-eau}}{\delta_L} \cdot ([O_3]_i^\delta - [O_3]_{ii})$$

Or, le terme de transfert massique peut s'écrire:

$$N_{O_2}^0 = k_L \cdot ([O_3]_i^\delta - [O_3]_{ii})$$

Par analogie, le terme k_L est égal à $\frac{D_{O_2-eau}}{\delta_L}$.

Néanmoins, la valeur de k_L est rarement calculée à partir de cette équation. Il existe un certain nombre de corrélations pour calculer la valeur de k_L . Dans le cas des réacteurs agités, l'équation de Van Dierendonck [Beltrán *et al.*, 1998] peut être utilisée:

$$k_L = 0,42 \cdot \sqrt[3]{\frac{\mu_L \cdot g}{\rho_L}} \cdot Sc^{-0,5}$$

Sc est le nombre de Schmidt défini ainsi:

$$Sc = \frac{\mu_L}{\rho_L \cdot D_{O_3-\text{eau}}}$$

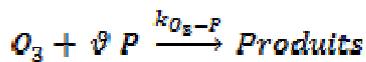
avec:

μ_L : viscosité dynamique de la solution (Pa.s)

ρ_L : masse volumique de la solution (kg.m⁻³)

1.3.2. Absorption physique avec réaction chimique irréversible

Si l'on considère le cas de l'ozone qui passe de la phase gazeuse à la phase liquide où il réagit avec un composé B selon l'équation suivante:



avec :

k_{O_3-P} : constante cinétique de la réaction entre l'ozone et le produit P

Les vitesses de consommation de l'ozone et de P (respectivement r_{O_3} et r_P exprimées en mol.L⁻¹.s⁻¹) sont généralement d'ordre 2 (ordre 1 par rapport à chacun des réactifs) [Roustan, 2003] et peuvent s'écrire en fonction des concentrations (en mol.L⁻¹):

$$r_{O_3} = k_{O_3-B} \cdot [O_3] \cdot [P]$$

$$r_B = \vartheta \cdot k_{O_3-P} \cdot [O_3] \cdot [P]$$

Il est désormais important de savoir où aura lieu la réaction. Selon la théorie du double film, la réaction peut avoir lieu:

- ✓ dans la phase liquide,
- ✓ en partie dans la phase liquide, en partie dans le film aqueux,
- ✓ uniquement dans le film liquide,
- ✓ à l'interface gaz-liquide.

I.3.2.1 DEFINITION DES PARAMETRES IMPORTANTS

La connaissance du régime réactionnel est déduite du paramètre adimensionnel de Hatta (Ha) car il donne une information directe sur la compétition entre la vitesse de la réaction et la vitesse de diffusion à l'intérieur du film liquide et indique où a lieu la réaction chimique.

$$Ha = \frac{\sqrt{k_{O_3-P} \cdot [P] \cdot D_{O_3-eau}}}{k_L}$$

avec:

D_{O_3-eau} : coefficient de diffusion de l'ozone ($m^2 \cdot s^{-1}$),

k_{O_3-P} : constante de vitesse de la réaction ($L \cdot mol^{-1} \cdot s^{-1}$),

[P] : concentration du composé P ($mol \cdot L^{-1}$),

k_L : coefficient de transfert de matière côté liquide ($m \cdot s^{-1}$).

En tenant compte de la présence d'une réaction chimique, l'équation de transfert de matière s'écrit alors:

$$N_{O_3} = E \cdot k_L \cdot a \cdot ([O_3]_i^* - [O_3]_l) \cdot V_L$$

E représente le facteur d'accélération du transfert de matière à l'interface gaz-liquide, correspondant au rapport entre le flux de matière à l'interface avec réaction chimique et le flux de matière dans le cas d'une absorption physique sans réaction.

Par ailleurs, le régime cinétique est caractérisé par un autre facteur adimensionnel appelé facteur d'accélération instantané E_i :

$$E_i = 1 + \frac{D_P \cdot [P]}{\vartheta \cdot D_{O_3-gaz} \cdot [O_3]_i^*$$

avec:

D_P : coefficient de diffusion du composé P

I.3.2.2 LES DIFFERENTS REGIMES REACTIONNELS

Différents domaines de fonctionnement du réacteur sont alors définis en fonction des valeurs de Ha , E et E_i [Bin et Roustan, 2000]:

$Ha < 0,3$: aucune réaction ne se produit dans le film liquide. La réaction se produit uniquement au sein de la phase liquide et elle est trop lente pour accélérer la vitesse d'absorption, $E = 1$.

$0,3 < Ha < 3$: la réaction est suffisamment rapide pour avoir lieu en partie dans le film liquide, l'autre partie réagit dans la masse de liquide. Dans ce cas, le facteur d'accélération est supérieur à 1.

$Ha > 3$: toute la réaction a lieu uniquement dans le film car la réaction est très rapide. L'ozone dissous ne peut pas atteindre la masse de liquide. La concentration en ozone dissous dans la masse de liquide est donc égale à zéro. Le facteur d'accélération est toujours supérieur à 1. La vitesse d'absorption de l'ozone est donnée par la relation:

$$N_{O_3} = E \cdot k_L \cdot a \cdot [O_3]_i^* \cdot V_L$$

Il existe cependant 2 cas particuliers. Tout d'abord, celui où $E_i > 2 \cdot Ha$, alors la réaction de second ordre peut être considérée comme une réaction de pseudo-premier ordre avec la

concentration de P définie comme uniforme en tout point du liquide. Dans ces conditions, $E = Ha$ et la vitesse de transfert de l'ozone peut s'écrire:

$$N_{O_3} = E \cdot k_L \cdot a \cdot [O_3]_i^* \cdot V_L = Ha \cdot k_L \cdot a \cdot [O_3]_i^* \cdot V_L = \sqrt{D_{O_3} \cdot k_{O_3-P} \cdot [P]} \cdot a \cdot [O_3]_i^* \cdot V_L$$

Dans ce cas de figure, la vitesse de transfert est indépendante du coefficient de transfert de film k_L et l'aire interfaciale joue un rôle important pour le transfert de matière.

Le second cas lorsque $Ha > 10.E_i$, la réaction est alors considérée comme instantanée, $E = E_i$. L'ozone réagit instantanément dans le film liquide où les concentrations en ozone et en P sont nulles compte tenu de la vitesse de réaction. Le processus de transfert de matière est entièrement contrôlé par la diffusion de l'ozone et de P à travers le film aqueux. La vitesse de transfert de l'ozone s'écrit alors:

$$N_{O_3} = E_i \cdot k_L \cdot a \cdot [O_3]_i^* \cdot V_L$$

I.3.2.3 CHOIX DES CONTACTEURS EN FONCTION DE HA

L'étude des différents régimes réactionnels, caractérisés par le critère de Hatta, a permis de mettre en évidence les critères importants pour le choix du contacteur idéal. En effet, au moment de dimensionner un réacteur, la valeur du nombre de Hatta indique s'il faut privilégier une grande aire interfaciale ou une grande rétention de liquide.

$Ha < 0,3$: la réaction est lente et a lieu uniquement au sein de la masse de liquide. Le coefficient de transfert de film doit être le plus grand possible car la résistance de transfert est localisée côté liquide; un réacteur à forte rétention de liquide tel que la colonne à bulles est recommandé.

$0,3 < Ha < 3$: la réaction a lieu à la fois dans le film et la phase liquide, il faut donc favoriser l'aire interfaciale et la rétention de liquide; le réacteur mécaniquement agité permet de satisfaire ces conditions.

$Ha > 3$: la réaction est rapide et a lieu uniquement dans le film liquide, il apparaît donc inutile de favoriser la rétention de liquide, il vaut mieux disperser le liquide sous forme de film ou gouttelettes pour augmenter la surface d'échange et favoriser le régime cinétique.

A l'inverse, pour un réacteur donné, la valeur du nombre de Hatta indiquera le régime de fonctionnement, qu'il soit diffusionnel ou cinétique.

I.4. CONCLUSION

Cette étude bibliographique a, tout d'abord, permis de définir les semences enrobées et de décrire les différents composés présents dans les enrobages de semences, notamment dans la solution d'enrobage de Gaucho Blé[®] qui sera étudiée par la suite.

Par ailleurs, certains mécanismes d'ozonation sur différentes fonctions chimiques en solution ont été détaillés et ont montré que les deux pesticides contenus dans la solution de Gaucho Blé[®] -l'imidaclopride et le bitertanol- ont, de par leur structure chimique, différentes fonctions susceptibles d'être dégradées. Ces mécanismes d'ozonation vont également permettre d'identifier plus facilement ces produits de dégradation.

La réaction entre les pesticides et l'ozone ayant de fortes chances de se produire en solution, un état de l'art des réactions d'ozonation sur semences a été établi afin de faciliter la transposition de la réaction en solution vers la réaction sur semences enrobées.

Une fois les réactions d'ozonation de pesticides sur semences effectuées, il apparaît nécessaire de quantifier la teneur en pesticides sur ces semences avant et après ozonation afin de déterminer l'efficacité du traitement à l'ozone. Pour cela, une méthode d'extraction des pesticides doit être développée.

Chapitre II:

Partie expérimentale

II.1. ANALYSES DES PESTICIDES

II.1.1. Quantification des pesticides sur semences

II.1.1.1 PRODUITS CHIMIQUES ET MATERIEL VEGETAL

Le bitertanol, le fludioxonil, l'imidaclopride, le métalaxyl-M et le téfluthrine ont été achetés auprès de Fluka (Seelze, Allemagne).

Les solutions d'enrobage, contenant 1 ou 2 pesticides, ont été fournies par leurs fabricants respectifs: Gaucho Blé (imidaclopride et bitertanol) de Bayer Cropscience (Lyon), Celest (fludioxonil), Austral Plus (fludioxonil et téfluthrine) et Influx XL (metalaxyl-M et fludioxonil) de Syngenta (Saint-Cyr-L'Ecole). Les semences de blé tendre (variété Apache) et de maïs (variété Masaba) non enrobées ont été fournies par Epi de Gascogne (Francescas).

Des échantillons représentatifs de semences (50 g) ont été broyés avec un broyeur Ika Werke M20.

II.1.1.2 DETERMINATION DES TAUX DE RECOUVREMENT DES PESTICIDES

Deux solutions différentes de pesticides ont été préparées pour étudier les taux de recouvrement de pesticides et la linéarité sur chacune des deux matrices, blé et maïs. La solution d'étude pour le blé a été préparée en dissolvant le bitertanol, le fludioxonil, l'imidaclopride et le téfluthrine dans 500 mL d'acétonitrile. La concentration de l'imidaclopride dans la solution de travail a été de $500 \mu\text{g.mL}^{-1}$ tandis que celle des autres pesticides a été fixée à $200 \mu\text{g.mL}^{-1}$. La concentration en imidaclopride a été volontairement choisie supérieure à celle des autres produits phytosanitaires car la teneur en imidaclopride dans les semences enrobées est, de loin, la plus importante.

La solution de travail pour le maïs a été préparée en dissolvant le fludioxonil et le métalaxyl-M dans 500 mL d'acétonitrile. La concentration en fludioxonil et en métalaxyl-M dans la solution de travail a été de $200 \mu\text{g.mL}^{-1}$.

L'efficacité et la précision d'une méthode d'extraction a été évaluée par les expériences de recouvrement. Le taux de recouvrement a été calculé en répliquant cinq fois 2 niveaux de contamination (30 et 300 mg.kg⁻¹, sauf pour l'imidaclopride, 75 et 750 mg.kg⁻¹). La contamination des grains a été effectuée en injectant 0,75 ou 7,5 mL de solution de travail pour le blé ou le maïs sur 5g de semences broyées et en laissant le solvant s'évaporer une nuit.

Procédure A. Extraction assistée par ultrasons:

5 g de grains broyées sont introduits dans un erlenmeyer avec 40 mL d'acétonitrile. Le milieu est placé dans un bain à ultrasons (30 min) avant d'être agité pendant 1h. Le surnageant est finalement récupéré.

Procédure B. Extraction par solvant pressurisé:

5 g de semences broyées sont dispersés avec 35 g de sable de Fontainebleau (Prolabo, Fontenay-sous-Bois). Le mélange est introduit dans une cellule d'extraction de 34 mL et placé dans le système ASE 200E (Dionex, Sunnyvale, CA, USA). Les cellules sont préchauffées pendant 5 min puis les échantillons sont extraits en 2 cycles de 5 min à 120°C et 103,4 bar avec de l'acétonitrile. Le pourcentage de solvant renouvelé entre chaque cycle est de 30 % (par rapport au volume de la cellule, ici 34 mL) et le temps de purge de 100 s.

II.1.1.3 PREPARATION DES SEMENCES ENROBEES

Cinq cents grammes de semences ont été enrobées *in situ* avec la solution d'enrobage de la manière suivante : la solution d'enrobage a été agitée vigoureusement et le volume nécessaire pour traiter 500 g de semences, selon les recommandations des fournisseurs, a été inséré dans un flacon de récupération. Le volume de la solution d'enrobage a été ajusté à 7,6 mL avec de l'eau ultrapure. Le mélange a été homogénéisé avec un agitateur magnétique pendant 5 minutes avant d'être versé sur les semences. Celles-ci ont été agitées manuellement pendant 5 minutes afin d'avoir un enrobage homogène sur les semences. Les semences ont ensuite été laissées à sécher à l'air libre une nuit entière. Les semences enrobées ont alors été prêtes à être broyées et extraites.

II.1.1.4 PURIFICATION DES EXTRAITS

Les différents extraits (issus de la procédure A ou B) sont évaporés à sec grâce à un évaporateur concentrateur EZ-2 Plus (Genevac Limited, Ipswich, R.-U.). Les extraits secs sont ensuite repris dans 10 mL d'acétonitrile puis homogénéisés par ultrasons et par agitation vortex puis filtrés sur des filtres 0,45 µm avant d'être injectés en HPLC.

II.1.1.5 ETUDE DE LA LINEARITE DES METHODES

La linéarité des méthodes a été évaluée en extrayant 6 échantillons de 5 g de semences non traitées broyées. Pour chaque extrait, la solution de travail, contenant les pesticides, a été ajoutée avec un volume différent (de 0,1 à 10 mL) et le volume est complété avec de l'acétonitrile jusqu'à 10 mL. Ainsi, 6 niveaux de concentrations ont été obtenus pour étudier le domaine de linéarité. Ces expériences ont été tripliquées afin de valider la linéarité de ce domaine. L'échantillon a ensuite été filtré à 0,45 µm avant d'être injecté dans le système HPLC.

II.1.1.6 ANALYSES PAR HPLC DES EXTRAITS DE SEMENCES

Les analyses par HPLC-UV ont été réalisées avec le système Spectra Physics Analytical Inc. (Fremont, CA) suivant : un dégazeur à membrane sous vide SCM 1000, une pompe quaternaire P4000, un passeur d'échantillons AS3000 et un détecteur UV2000. Les acquisitions ont été effectuées grâce à un ordinateur équipé de la version 6.70 du logiciel Chromeleon (Dionex, Sunnyvale, CA). La détection a été menée à une longueur d'onde de 211 nm pour tous les composés. Les échantillons ont été élués à 30 °C avec un débit de 1,3 mL.min⁻¹.

✓ Système avec une micro-colonne:

Les séparations ont été réalisées sur une micro-colonne (33 x 4.6 mm D.I., taille des particules 1,5 µm) Turbo 80 ODS3 (Cluzeau Info Labo, Sainte-Foy-la-Grande). Un échantillon de 5µL a été injecté avec les conditions de gradient suivantes: eau ultrapure (A)-acétonitrile(B) – t=0 min, A-B (90:10, v/v); t=0,5 min, A-B (60:40, v/v); t=4,5 min, A-B

(50:50, v/v); t=5 min, A-B (0:100, v/v); t=7 min, A-B (0:100, v/v); t=7,5 min, A-B (90:10, v/v); t=9 min, A-B (90:10, v/v).

✓ **Système avec une colonne traditionnelle:**

Les séparations ont été réalisées sur une colonne Luna C18(2) (Phenomenex, Torrance, CA, USA) (250 x 4.6 mm D.I., taille des particules 5 µm). Un échantillon de 20 µL a été injecté avec les conditions de gradient suivantes: eau ultrapure (A)-acétonitrile (B) – t=0 min, A-B (60:40, v/v); t=0,5 min, A-B (50:50, v/v); t=12 min, A-B (45:55, v/v); t=13 min, A-B (0:100, v/v); t=17 min, A-B (0:100, v/v); t=17,5 min, A-B (60:40, v/v); t=29 min, A-B (60:40, v/v).

II.1.2. Etude des solutions ozonées

II.1.2.1 ANALYSE PAR HPLC DES SOLUTIONS OZONEES DE PESTICIDES

Les analyses des solutions ozonées ont été réalisées grâce à un système HPLC Dionex (Sunnyvale, CA) équipé d'un dégazeur à membrane sous vide SRD-3400, une pompe binaire haute pression HPG-3400RS, un passeur d'échantillons WPS-3000TFC (valve d'injection à 6 positions, valve de fractionnement à 6 positions) et un compartiment à colonne TCC-3000RS. Les séparations ont été réalisées sur une colonne analytique Kinetex C18, 150 x 2,1 mm, 1,7 µm (Phenomenex, Torrance, CA) protégée par un Krudkatcher Ultra de Phenomenex (Torrance, CA) avec un fritté 0,5 µm en acier inoxydable 316 intégré. L'acquisition et le traitement des données ont été réalisés avec le logiciel Chromeleon (version 6.80, Dionex, Sunnyvale, CA). Tous les composés ont été détectés au moyen d'un détecteur barrettes de diodes DAD-3000RS (Dionex, Sunnyvale, CA) pour des longueurs d'onde de 200, 211, 254 et 270 nm. Un échantillon de 20 µL a été injecté dans le système HPLC et élué à 50 °C avec un débit de 0,5 mL.min⁻¹ dans les conditions de gradient suivantes, où (A) est une solution d'acide trifluoroacétique dans l'eau (0,1 %, v/v) et (B) de l'acétonitrile: t=0 min, A-B (95,1: 4,9, v/v); t=18 min, A-B (95,1: 4,9, v/v); t=18,2 min, A-B (88:12, v/v); t=30 min, A-B (88:12, v/v); t=30,2 min, A-B (78:22, v/v); t=40 min, A-B (78:22, v/v); t=40,5 min, A-B (55:45, v/v);

t=47 min, A-B (55:45, v/v); t=47,5 min, A-B (20:80, v/v); t=53 min, A-B (20:80, v/v); t=54 min, A-B (95,1:4,9, v/v); t=72 min, A-B (95,1:4,9, v/v).

II.1.2.2 COLLECTE DE FRACTIONS D'ECHANTILLONS PAR HPLC

L'objectif de cette expérience était de séparer et de purifier les différents produits de dégradation obtenus lors de l'ozonation en solution afin d'analyser ces produits purs par spectrométrie de masse et obtenir des informations sur leurs structures.

Le passeur d'échantillons automatisé utilise le principe d'injection pull loop : Pendant que la vanne d'injection est en position injection (Inject) et la vanne de fractionnement en position drain (Drain), la seringue aspire l'échantillon depuis le vial en direction du tuyau de tampon (buffer tubing sur la Figure II-1), remplissant ainsi la seringue entière ainsi que le capillaire (Bridge) entre les deux valves avec l'échantillon. Puis, la vanne d'injection bascule en position chargement (Load). L'échantillon est aspiré par la seringue à travers l'aiguille et la seringue est placé dans la boucle d'injection (Sample loop). Après cela, la vanne d'injection bascule de nouveau en position Inject afin que le flux d'éluants passe dans la boucle d'injection avant d'arriver en tête de colonne.

Après l'injection, la vanne de fractionnement bascule en position Collecte. Lorsque la valve est dans cette position, les fractions peuvent être collectées dans un récipient à échantillons (plaque de puits ou vial HPLC) à travers l'aiguille.

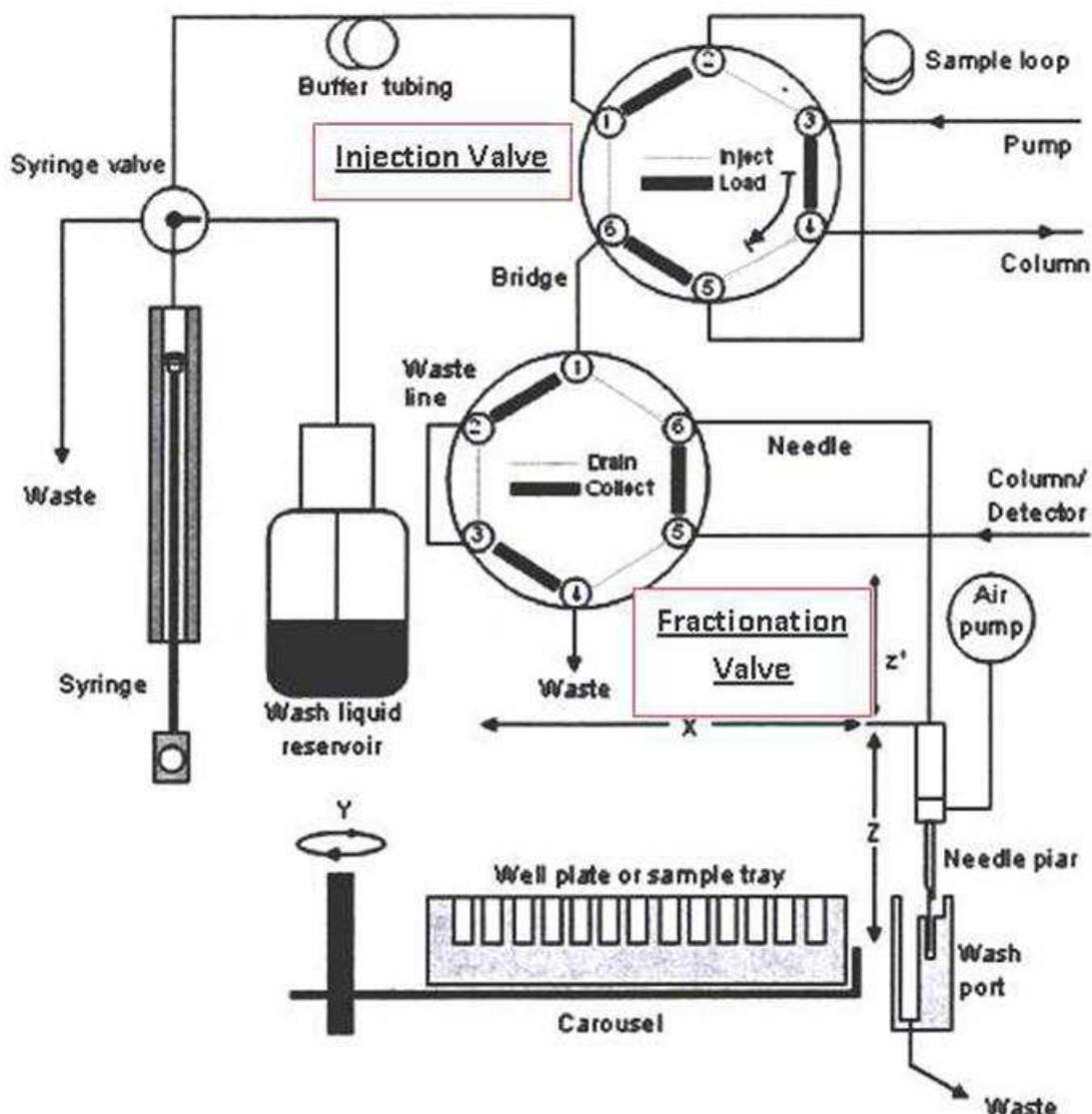


Figure II-1: Schéma de principe de la collecte de fraction sur le passeur d'échantillons WPS-3000TFC.

La fraction de collection a été réalisée après détection des pics à une longueur d'onde de 254 nm et réalisation des conditions de début et de fin de pic. La collecte de fractions a été optimisée pour collecter presque exclusivement les pics quantifiables avec les paramètres de collection suivants : Seuil de départ de pic : Arrêt ; Pente de départ de pic : $0,3 \text{ mAU}\cdot\text{s}^{-1}$; Temps effectif de départ de pic : 1,00 s ; Seuil de fin de pic : Arrêt ; Pente de fin de pic : $-0,1 \text{ mAU}\cdot\text{s}^{-1}$; Temps effectif de fin de pic : 2,00 s.

II.1.3. Identification des produits de dégradation par ozonation

La caractérisation de structures des produits de dégradation purifiés a été menée sur un spectromètre de masse piège à ions quadripolaire (Finnigan LCQ, Thermo Finnigan, Les Ulis, France) équipé d'une source d'ionisation électrospray en mode positif. Les échantillons collectés ont été introduits dans la source d'ionisation par infusion à un débit de $5 \mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ avec une seringue autopulsée. Les paramètres pour la production et la transmission des ions dans l'analyseur piège à ions ont été optimisés pour l'imidaclopride et appliqués pour tous les autres composés : tension de l'aiguille : 5,0 kV ; température du capillaire : 240 °C ; tension du capillaire : 23 V. Le débit du gaz fourreau et du gaz auxiliaire (azote) ont été respectivement de 54 et 14 AU (unité arbitraire). Tous les autres paramètres pour les expériences de MS^2 et MS^3 (fenêtre d'isolement, tension d'excitation, durée d'excitation) ont aussi été ajustés pour obtenir un maximum d'informations structurales sur les composés d'intérêt.

II.2. OZONATION DE PESTICIDES

II.2.1. Description du montage

L'installation d'ozonation comprend quatre parties essentielles (Figure II-2):

- ✓ le générateur d'ozone ou ozoneur alimenté par de l'oxygène de qualité industrielle et refroidi par un circuit d'eau de refroidissement,
- ✓ le réacteur d'ozonation,
- ✓ les analyseurs d'ozone en amont et en aval du réacteur d'ozonation,
- ✓ la destruction thermique ($T=350^\circ\text{C}$) de l'ozone gazeux résiduel avant rejet à l'atmosphère.

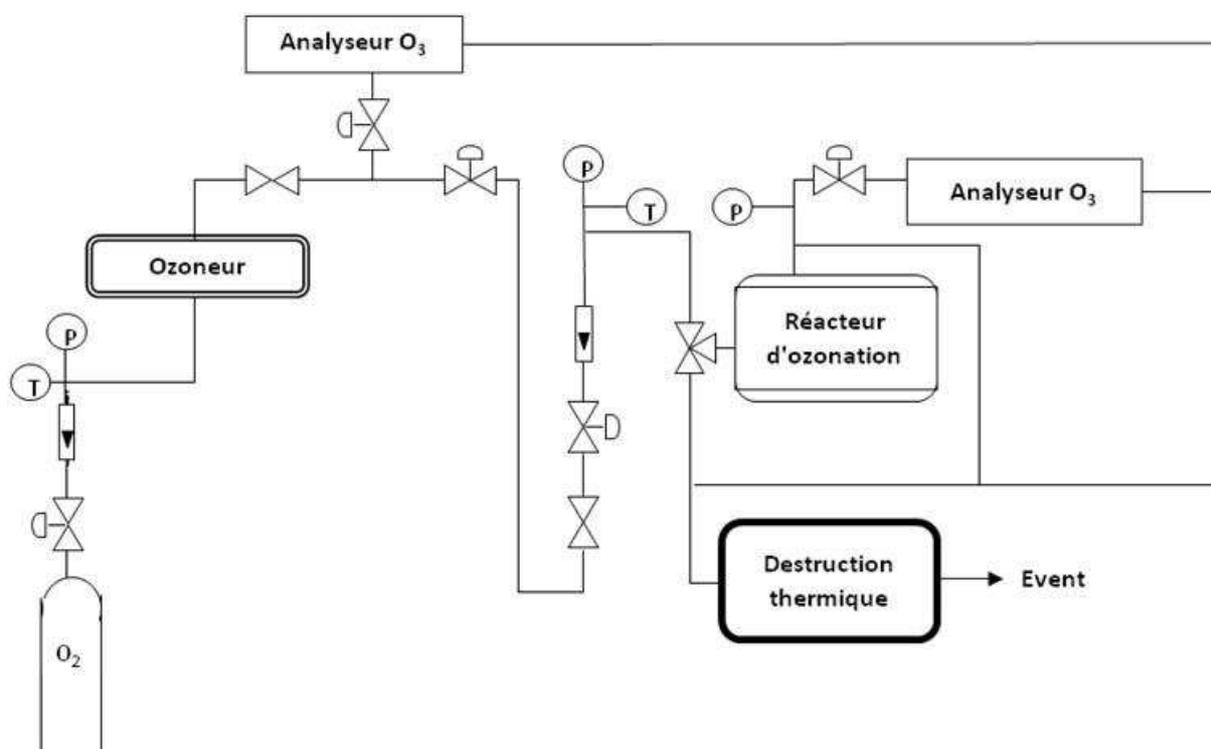


Figure II-2 : Installation d'ozonation.

II.2.2. Le générateur d'ozone

La génération d'ozone a été assurée par un ozoneur OZAT CFS-1A (Ozonía, Dubendorf, Suisse) à deux tubes diélectriques fonctionnant à une pression relative de 0,7 bar. La production d'ozone a nécessité un refroidissement efficace du réacteur de production d'ozone, réalisé par une circulation d'eau. La concentration en ozone dans le gaz à la sortie dépend essentiellement de la nature du gaz (air pur ou oxygène pur), du débit de gaz et de la puissance appliquée aux deux tubes. Dans notre cas, le gaz utilisé a été de l'oxygène pur (99,5 %, Linde Gas) afin d'avoir une concentration en ozone la plus élevée possible. Dans le cas le plus favorable, c'est-à-dire avec un débit de gaz vecteur faible et une puissance électrique appliquée élevée, la concentration en ozone peut atteindre des valeurs proches de 150 g.m^{-3} CNTP.

II.2.3. Les réacteurs d'ozonation

- ✓ Le réacteur gaz-liquide semi-continu agité

Les réactions d'ozonations de pesticides en solution ont été réalisées dans un réacteur gaz-liquide semi-continu et agité (Fermenteur SETRIC), d'un volume de réaction de 1,8 litre, muni d'un circuit de régulation de température (Figure II-3). Le système d'agitation, composé d'une turbine à quatre pales actionnées par entraînement magnétique, a été réglé à une vitesse de rotation de 400 tours par minute et la température est réglée à 20°C. L'ozone a été introduit dans le réacteur au moyen d'un tube percé au bas du réacteur, sous la turbine d'agitation, ce qui permet ainsi une bonne répartition des bulles de gaz dans le liquide. Pour toutes les expériences, une surpression d'environ 200 mbar a été appliquée dans le ciel gazeux afin de favoriser la dissolution de l'ozone dans le milieu réactionnel.

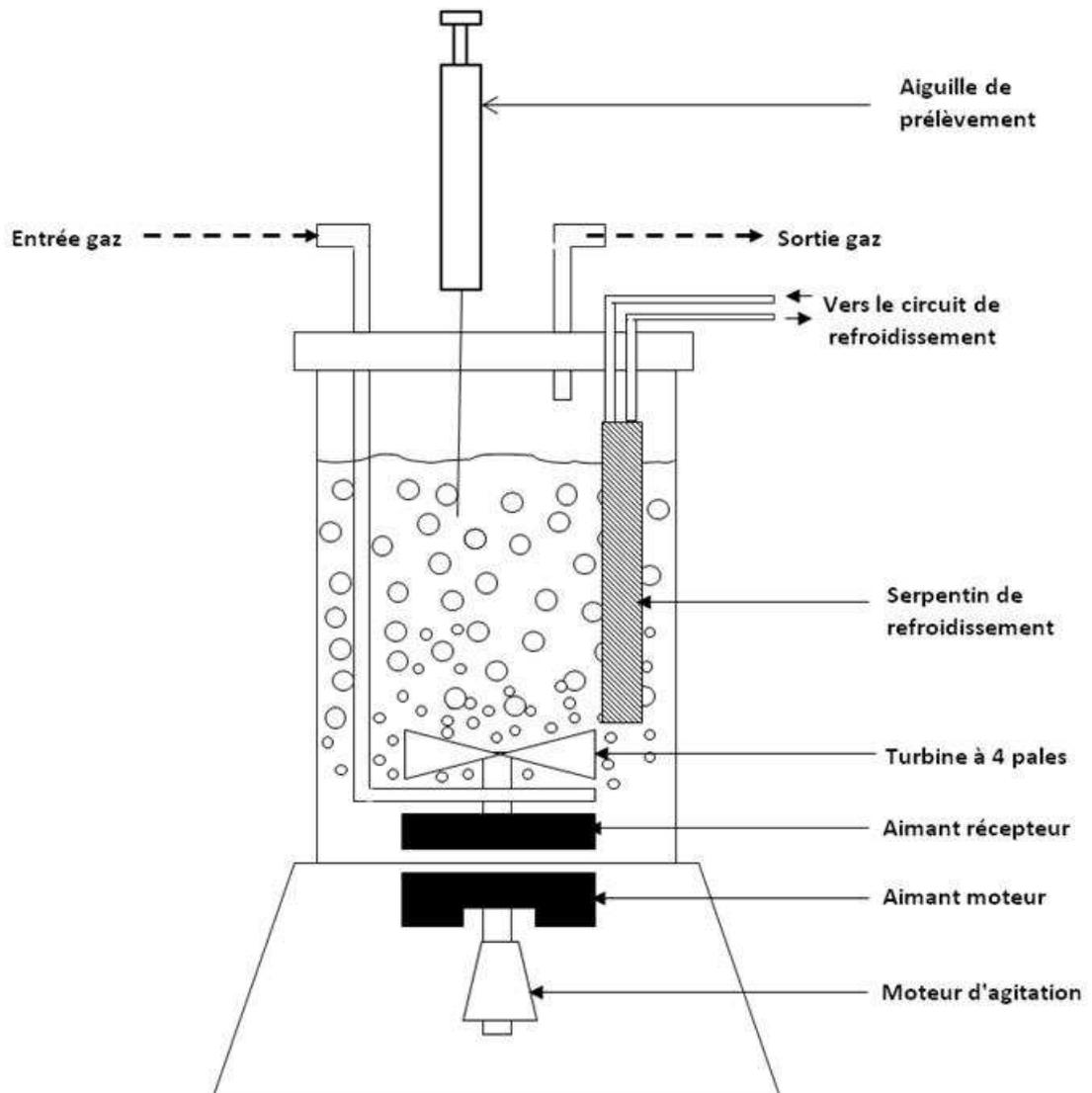


Figure II-3: Schéma du réacteur gaz-liquide semi-continu agité.

✓ Réacteur solide-gaz à lit fixe

Le réacteur solide-gaz à lit fixe est un réacteur tubulaire en verre de 5 cm de diamètre intérieur et de 1 mètre de hauteur (Figure II-4). Le lit de semences à traiter (250 ou 500 g) est supporté par une grille en acier inoxydable 316 L, présentant des perforations de 0,8 mm de diamètre représentant 23 % de l'aire de la section droite. Le mélange oxygène-ozone est diffusé au moyen d'un fritté ($\varnothing = 1$ pouce) en bas de colonne, sous le lit de semences. Une surpression de 400 mbar est maintenue dans le réacteur afin de favoriser la solubilité de

l'ozone dans le film aqueux autour de la semence. L'ozone résiduel est ensuite évacué en tête de colonne avant d'être analysé puis détruit.

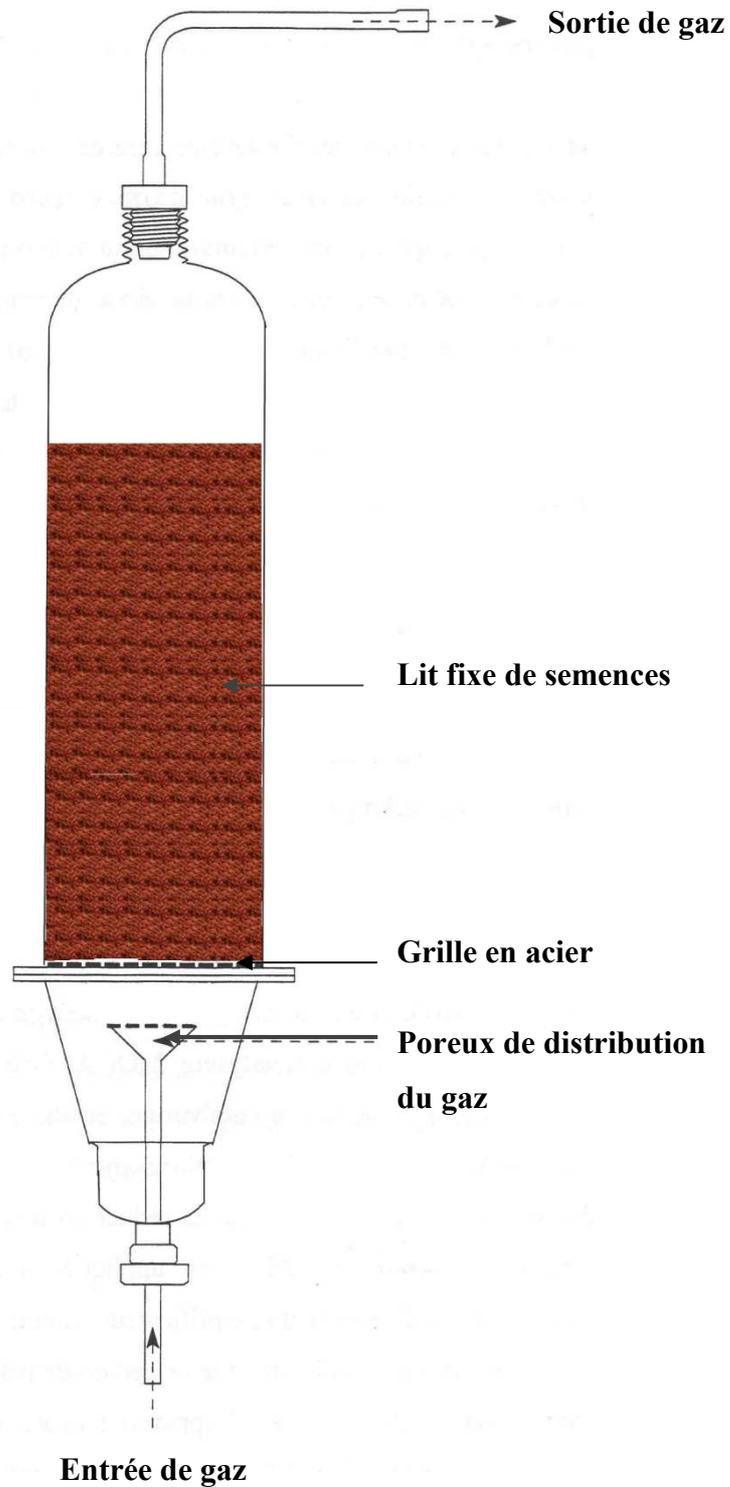


Figure II-4: Réacteur gaz-solide à lit fixe.

✓ Réacteur solide-gaz à plateau vibrant

Le réacteur solide-gaz à plateau vibrant est composé d'une cloche en acier inoxydable carrée sous laquelle est placé un plateau carré en acier inoxydable perforé en son fond. Les semences à ozoner sont placées sur ce plateau perforé. La charge du réacteur peut être comprise entre 1 et 5 kg de semences.

Le gaz est injecté au moyen de quatre buses à injection pyramidale qui permettent une diffusion homogène, par le haut, sur toute la surface du plateau (Figure II-5). Le gaz passe ensuite successivement à travers le lit de semences puis le plateau perforé pour être collecté sous le plateau. L'ozone résiduel est ensuite évacué pour être analysé ou détruit thermiquement.

Un moteur avec un excentrique est directement relié avec le plateau et assure une vibration du système contenant les semences qui sont du même coup mis en agitation.

Différents joints en silicone sont placés à différents endroits : un premier joint est placé sous la cloche afin d'assurer l'étanchéité lors de la fermeture de la cloche; un second joint, appelé joint en U, permet le contact et l'étanchéité entre la partie statique (cloche et support du réacteur) et la partie mobile (plateau agité).

Un vérin pneumatique relié au système d'air comprimé permet un mouvement de la cloche selon l'axe vertical sur deux positions: une position ouverte et une position fermée.

Une surpression de 200 mbar a été maintenue dans le réacteur afin de favoriser la dissolution de l'ozone dans le film aqueux.

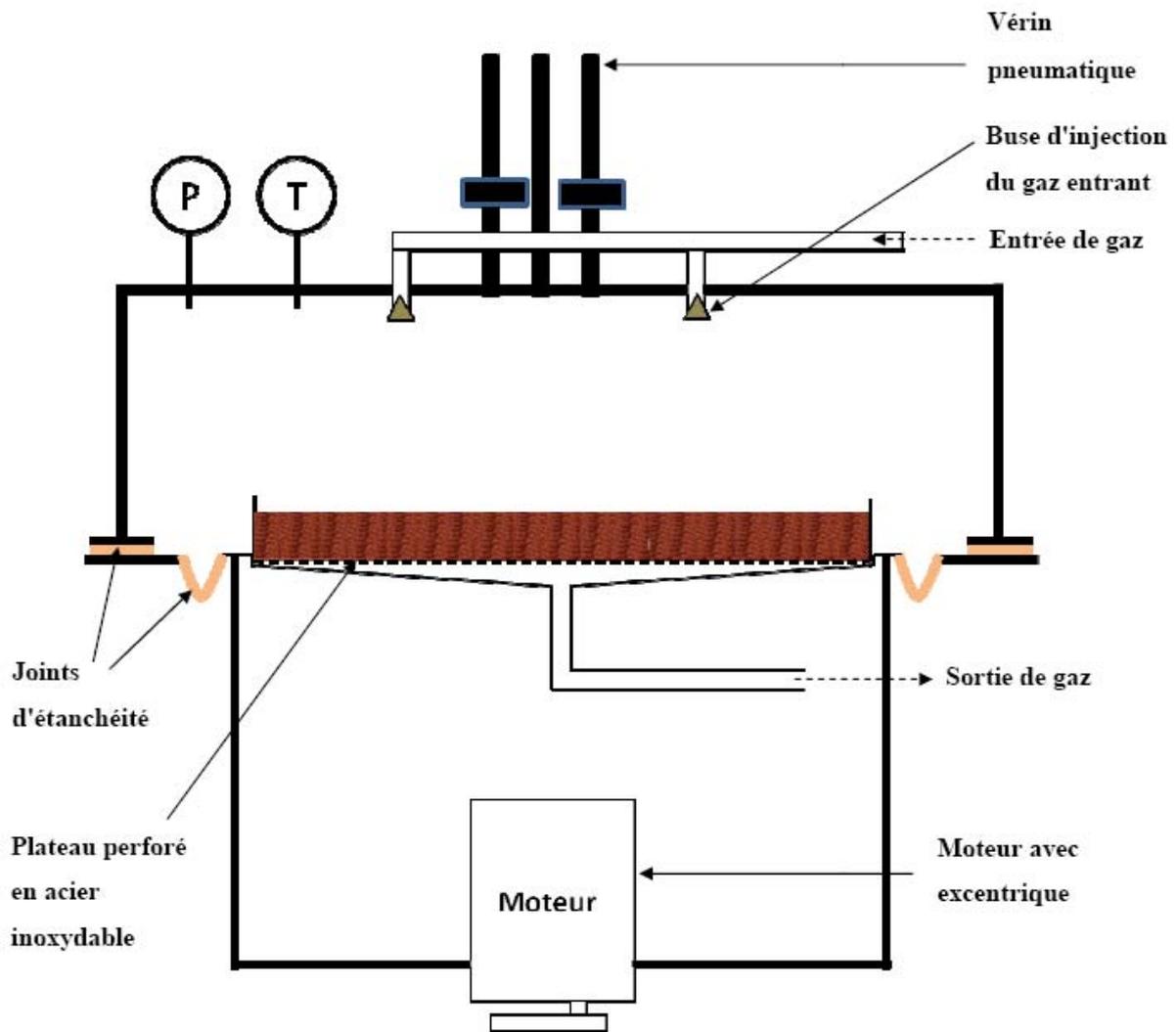


Figure II-5: Réacteur solide-gaz à plateau vibrant.

II.2.3.1 ANALYSEURS D'OZONE

✓ Dosage de l'ozone gazeux

Afin d'effectuer les bilans en ozone, il est nécessaire de connaître la quantité d'ozone introduit dans le réacteur ainsi que l'ozone résiduel en sortie de réacteur. Ainsi, deux analyseurs à affichage digital (Ozone analyzer BMT 961, BMT Messtechnik GmbH, Berlin, Allemagne) placés en amont et en aval du réacteur effectuent en continu la mesure de la concentration en ozone dans la phase gazeuse, par mesure UV à 254 nm [Mendez *et al.*, 2003]. La concentration affichée en g.m^{-3} dépend de la pression et de la température du

mélange gazeux. La concentration réelle en $\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ CNTP s'obtient en faisant les corrections de pression et de température selon la relation:

$$[O_3] (\text{g}\cdot\text{m}^{-3} \text{ CNTP}) = [O_3] (\text{g}\cdot\text{m}^{-3}) \times \frac{273,15 + T}{273,15} \times \frac{P}{P + \Delta P}$$

avec

P: pression atmosphérique (mbar)

ΔP : surpression en amont de l'analyseur (mbar)

T: température du mélange gazeux ($^{\circ}\text{C}$)

✓ Dosage de l'ozone dissous

La concentration en ozone dissous a été mesurée par la méthode indigo mise au point par Bader et Hoigné [Bader, 1982 ; Bader et Hoigné, 1981]. L'ozone réagit rapidement et de manière stœchiométrique avec l'indigo trisulfonate de potassium et entraîne une décoloration de la solution en condition acide. La perte d'absorbance est linéaire lorsque la concentration en ozone dissous augmente. La constante de proportionnalité à 600 nm est de $0,42 \pm 0,1 \text{ L}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$ (soit $\Delta\varepsilon = 20\,000 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$). Ainsi, une solution mère d'indigo trisulfonate de potassium a été préparée en dissolvant 77 mg d'indigo (pur à 80-85 %) dans 100 mL de solution aqueuse d'acide phosphorique (0,1 % en volume). Une solution de travail (250 mL) a été préparée dans une fiole jaugée en ajoutant 12,5 mL de solution mère, 2,5 g de NaH_2PO_4 et 1,75 mL d'acide phosphorique et compléter jusqu'au trait de jauge avec de l'eau ultrapure.

Un échantillon de solution ozonée (0,5 mL) est prélevé à intervalle régulier et ajouté à 9,5 mL de solution de travail d'indigo. Le mélange est agité pendant 20 secondes. Un blanc est préparé à partir de 9,5 mL de solution de travail d'indigo et 0,5 mL de l'échantillon non ozonée. La mesure d'absorbance est effectuée avec une cuve en Quartz Suprasil (parcours 10 mm, hauteur du faisceau 15 mm, volume de la cellule 2500 μL) et un spectrophotomètre UV (Helios Gamma, Thermo Scientific, UK). L'absorbance du milieu réactionnel est mesurée à 600 nm. La concentration en ozone est calculée à partir de la différence d'absorbance (ΔA) entre le blanc et l'échantillon contenant l'ozone dissous en utilisant l'équation suivante:

$$[O_3]_i \text{ (mg.L}^{-1}\text{)} = \frac{\Delta A \cdot V_{\text{tot}}}{f \cdot b \cdot V_{\text{échan}}}$$

avec:

ΔA : différence d'absorbance entre l'échantillon et le blanc,

b : longueur du trajet optique (cm),

V_{tot} : volume total de la solution analysée (ici 10 mL),

$V_{\text{échan}}$: volume de l'échantillon prélevé (ici 0,5 mL),

f : coefficient de proportionnalité (0,42 à 600 nm).

II.2.4. Destruction de l'ozone résiduel

L'installation comporte un système de destruction thermique de l'ozone en excès avant rejet dans l'atmosphère. Le mélange gazeux est chauffé à environ 350°C, ce qui permet la décomposition quasi complète de l'ozone résiduel.

Chapitre III:
Extraction de pesticides sur
semences enrobées

III.1. INTRODUCTION

Dans le but de déterminer l'efficacité d'un traitement à l'ozone sur des semences enrobées, il est nécessaire de développer une méthode de quantification des pesticides sur un échantillon d'un lot de semences avant ozonation puis sur un échantillon du même lot après ozonation.

Cette étude a pour but de mettre au point, sur différents lots de semences enrobées, une méthode d'extraction et de quantification de pesticides par HPLC-UV qui soit simple, rapide, efficace et peu coûteuse. Pour cela, cette étude sera divisée en trois parties:

- ✓ évaluer l'intérêt de l'utilisation d'une micro-colonne pour ce type d'analyses par comparaison de ses performances avec celles d'une colonne traditionnelle.
- ✓ étudier deux types d'extraction (extraction assistée par ultrasons et extraction par liquide pressurisé ASE) et déterminer l'influence de différents paramètres : la nature du solvant pour l'extraction par ultrasons et la température d'extraction pour l'ASE afin de connaître les conditions optimales pour chaque extraction.
- ✓ évaluer la possibilité d'appliquer ces deux méthodes à l'extraction de pesticides sur les semences enrobées

III.2. COMPARAISON DES PERFORMANCES DE DEUX SYSTEMES HPLC

Pour cette étude, une nouvelle colonne à phase inverse C18, colonne Turbo ODS80 de CIL Cluzeau, a été testée. L'avantage de cette colonne est qu'elle utilise des particules de faible diamètre (1,5 μm contre 3 ou 5 μm pour les colonnes traditionnelles) afin d'augmenter la surface d'échange. En contrepartie, la taille de la colonne est réduite (33 mm) afin de réduire la durée d'analyse sans affecter la résolution des pics. Du fait de ses particularités, la pression au niveau de la pompe est similaire à la pression constatée avec une colonne traditionnelle (de l'ordre de 200 bars). Par conséquent, cette colonne peut s'adapter sur les systèmes HPLC classiques. Les performances de cette colonne ont été comparées à celles d'une colonne traditionnelle, colonne Luna C18(2) de Phenomenex. Les caractéristiques de ces colonnes ainsi que les conditions analytiques sont détaillées dans le Tableau III-1.

Tableau III-1: Caractéristiques des deux conditions analytiques étudiées

	Colonne traditionnelle	Micro-colonne
Dénomination	Luna C18(2) (Phenomenex)	Turbo ODS 80 (CIL Cluzeau)
Taille de la colonne	250 x 4,6 mm	33 x 4,6 mm
Diamètre particule	5 µm	1,5 µm
Conditions de gradient (A):eau ultrapure (B): acétonitrile	t=0 min,A-B (90:10, v/v); t=0,5 min,A-B (60:40, v/v); t=4,5 min,A-B (50:50, v/v); t=5 min, A-B (0:100, v/v); t=7 min, A-B (0:100, v/v); t=7,5 min, A-B (90:10, v/v); t=9 min, A-B (90:10, v/v)	t=0 min,A-B (60:40, v/v); t=0,5 min, A-B (50:50, v/v); t=12min, A-B (45:55, v/v); t=13 min, A-B (0:100, v/v); t=17 min, A-B (0:100, v/v); t=17,5 min, A-B (60:40, v/v); t=29 min, A-B (60:40, v/v)
Débit d'analyse	1,3 mL.min ⁻¹	
Température d'analyse	30 °C	
Détection UV	211 nm	

Hormis la colonne et les conditions de gradient adaptées à chacune de ces colonnes, toutes les conditions sont identiques par ailleurs. Cette étude comparative a été effectuée sur 5 produits phytosanitaires : l'imidaclopride et le bitertanol, présents dans la solution de Gaucho Blé[®], mais aussi le métalaxyl-M, le fludioxonil et le téfluthrine, couramment utilisés dans d'autres enrobages de semences. L'antraquinone, utilisé comme répulsifs pour oiseaux, a également été inclus dans cette étude comparative mais n'a pas fait l'objet d'étude de la méthode d'extraction du fait de sa faible solubilité. Les chromatogrammes d'une solution des différents standards de pesticides pour chacun des systèmes analytiques sont présentés sur la Figure III-1.

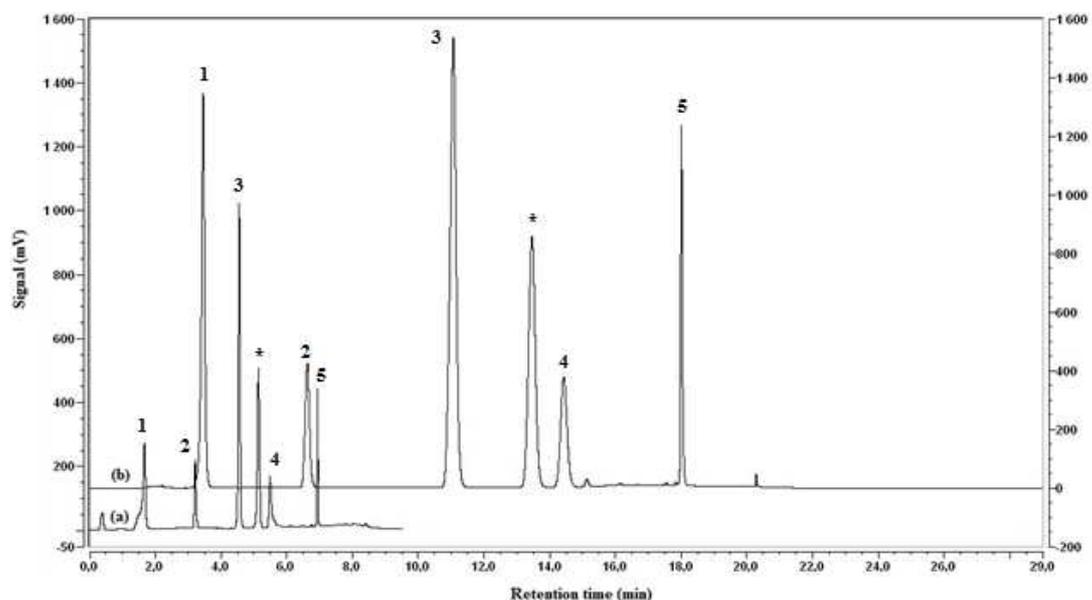


Figure III-1: Chromatogrammes d'un mélange des différents standards de pesticides obtenus dans les conditions analytiques définies dans le Tableau III-1 avec (a) la colonne Turbo ODS 80 et (b) la colonne Luna C18(2).

Pics: *, anthraquinone; 1, imidaclopride; 2, métalaxyl-M; 3, fludioxonil; 4, bitertanol; 5, téfluthrine.

Grâce à la micro-colonne, il est possible de diviser par 3 les temps d'analyse (de 29 min à 9 min) et la consommation en éluant organique (de 20,78 mL à 6,14 mL d'acétonitrile par analyse).

Les résolutions des pics ont été calculées à partir de l'équation : $R_s = 2(t_x - t_{x-1}) / (w_x + w_{x-1})$, avec t_x et t_{x-1} les temps de rétention du composé étudié et du composé précédent et w_x et w_{x-1} les largeurs de la base associées à ces pics. Les résolutions ont été similaires pour les deux colonnes étudiées : elles sont comprises entre 2,3 et 15,7 pour la colonne Luna C18(2) et entre 2,6 et 22,1 pour la micro-colonne Turbo ODS 80 (Tableau III-2).

Tableau III-2 : Résolutions des produits phytosanitaires étudiés pour les deux systèmes chromatographiques.

Composé	Luna C18(2)	Turbo ODS 80
Imidaclopride	-	-
Métalaxyl-M	15,7	15,3
Fludioxonil	13,9	15,3
Anthraquinone	6,3	6,7
Bitertanol	2,3	2,6
Téfluthrine	22,1	15,9

Compte tenu des nombreux avantages de la micro-colonne présentés au cours de cette étude, cette colonne a été sélectionnée pour la détermination et la quantification des pesticides dans les extraits de semences enrobées.

III.3. ETUDE DES CONDITIONS D'EXTRACTION DE PESTICIDES

La méthode d'extraction assistée par ultrasons (à température ambiante) a déjà été appliquée à l'extraction de pesticides sur semences [Schlatter et Beste, 2005] tandis que la méthode d'extraction par liquide pressurisé a été mise au point pour la première fois pour ce type d'extraction. La première méthode, facile à mettre au point, a permis de préciser l'influence de la nature du solvant et de sélectionner le "meilleur" solvant extracteur. Une seconde méthode a permis d'étudier et de déterminer l'influence de la température d'extraction. L'efficacité d'une méthode d'extraction est définie par le taux de recouvrement correspondant au rapport de la quantité de pesticides extraite sur la quantité de pesticides ajoutée à des semences "saines" par le biais d'une solution de standards.

Deux matrices (blé et maïs) ont été utilisées pour l'extraction des pesticides sur semences. Les différents pesticides étudiés, lors de la mise au point de la méthode d'analyse, ont été

appliqués à une ou deux matrices pour les tests de recouvrement. Le Tableau III-3 résume, pour les deux matrices, les différents pesticides étudiés ainsi que les teneurs prises en considération pour les tests de recouvrement.

Tableau III-3: Matrices et pesticides étudiés ainsi que les teneurs en pesticides des semences pour les tests de recouvrement.

Matrice	Pesticides	Teneurs pour les tests de recouvrement (mg.kg ⁻¹ de semences)
Maïs	Métalaxyl-M	30-300
	Fludioxonil	30-300
Blé	Imidaclopride	75-750
	Bitertanol	30-300
	Fludioxonil	30-300
	Téfluthrine	30-300

III.3.1. Sélection du solvant d'extraction

Les taux de recouvrement pour l'extraction de pesticides par ultrasons avec trois solvants différents (acétonitrile, acétate d'éthyle, acétone) ont été comparés afin d'évaluer le solvant le plus adapté à ces extractions. Les taux de recouvrement et les précisions des méthodes (RSD) ont été obtenus en reproduisant chaque extraction 5 fois à chaque niveau de teneur en pesticides (Figure III-2).

Le taux de recouvrement le plus faible a été de 73 % obtenu pour l'imidaclopride (avec l'acétone pour une teneur de 75 mg.kg⁻¹) tandis que le taux de recouvrement le plus élevé (102 %) a été obtenu pour le fludioxonil à 30 mg.kg⁻¹ avec l'acétonitrile.

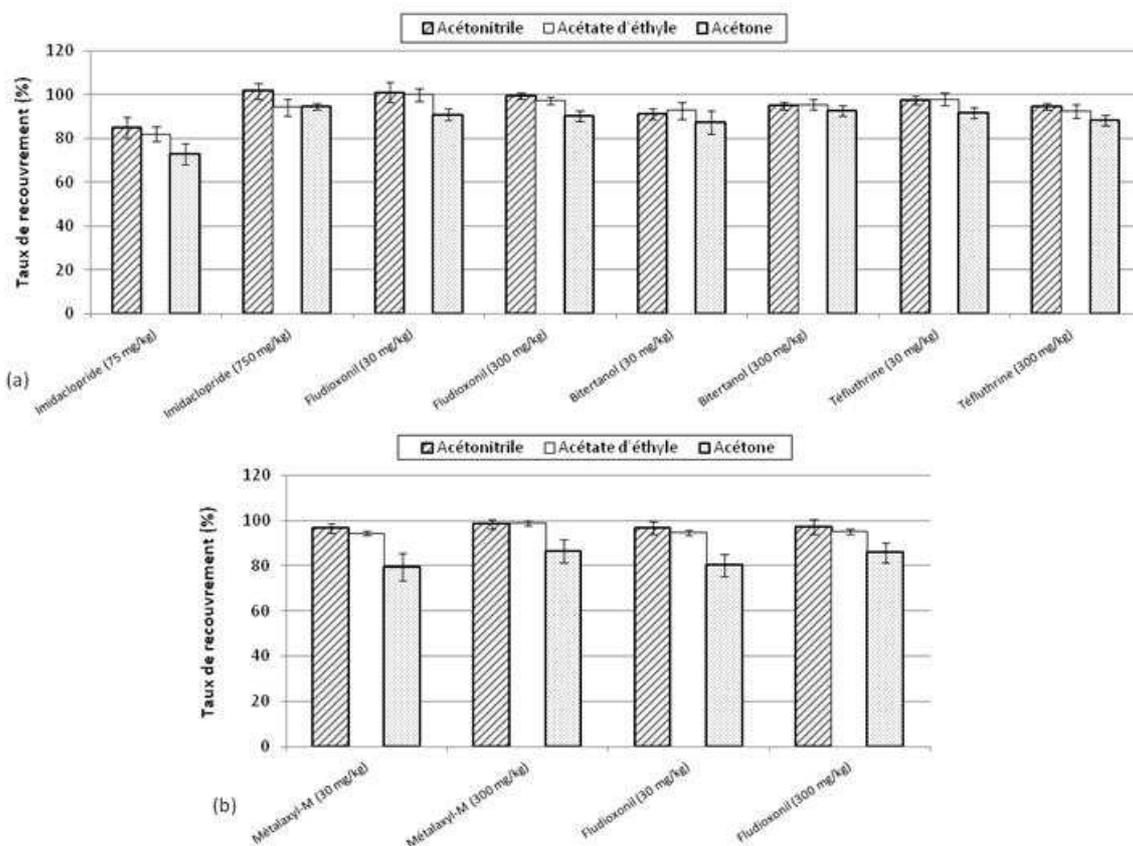


Figure III-2: Effet de la nature du solvant sur l'extraction de pesticides contenus dans les enrobages (a) de blé tendre et (b) de maïs.

L'extraction par acétone a conduit à des taux de recouvrement plus faibles, de 73 à 94 %, quelque soit le pesticide et la matrice. De manière générale, l'extraction par acétonitrile a été un peu plus efficace (de 85 à 102 %) que l'extraction par acétate d'éthyle (de 82 à 100 %). Néanmoins, compte tenu des écarts-types, la différence entre les deux solvants n'a pu être déclarée comme significative.

Sur le blé, l'imidaclopride a toujours donné un taux de recouvrement plus faible que les trois autres produits phytosanitaires quelque soit le solvant extracteur. Ceci est probablement dû au caractère plus polaire de cette molécule. Pour le maïs, les taux d'extraction du métalaxyl-M ont été généralement plus faibles que ceux du fludioxonil.

Toutes les répétabilités (RSD) ont été comprises entre 1 % et 6 %, ce qui a montré une bonne répétabilité pour les trois procédures d'extraction.

En tenant compte de toutes les valeurs obtenues pour les tests de recouvrements et de répétabilité, l'extraction à l'acétonitrile a montré de très bons résultats pour tous les pesticides étudiés. Par conséquent, l'acétonitrile a été considéré comme le solvant le mieux adapté pour l'extraction des pesticides contenus dans les enrobages.

III.3.2. Effet de la température sur une extraction par liquide pressurisé

Puisque l'acétonitrile a été désigné comme le meilleur solvant pour l'extraction des enrobages de semences, ce solvant a été choisi pour évaluer l'influence de la température sur l'extraction par liquide pressurisé. La Figure III-3 montre l'influence de la température sur les taux de recouvrement de tous les pesticides. Plus la température du four est élevée, plus les taux de recouvrement des pesticides sont importants. A 40°C, les taux de recouvrement sont compris entre 64 % (imidaclopride à 75 mg.kg⁻¹ pour le blé) et 86 % (fludioxonil à 300 mg.kg⁻¹ pour le maïs) tandis qu'à 120 °C, les pesticides sont recouverts à des taux allant de 84% (imidaclopride à 75 mg.kg⁻¹ dans le blé) à 102% (téfluthrine à 300 mg.kg⁻¹ dans le blé). Les taux de recouvrement sont particulièrement influencés par la température du four entre 40 et 80 °C tandis qu'au-delà de 80 °C, les taux augmentent plus légèrement avec la température.

De manière similaire aux résultats obtenus avec l'extraction assistée par ultrasons, les recouvrements de l'imidaclopride dans le blé sont légèrement inférieurs à ceux des autres composés. Sur le maïs, les recouvrements du métalaxyl-M et du fludioxonil sont similaires. Aucune décomposition thermique n'a été constatée pour aucun composé entre 40 et 120 °C. En revanche, comme Blasco *et al.* [Blasco *et al.*, 2005] ont pu le constater, les extraits obtenus à haute température sont plus colorés et plus riches en solides en suspension à cause de la co-extraction de composés à haut poids moléculaires. Tous les tests ont été répétés cinq fois et les écarts-types relatifs (compris entre 1 et 9 %) montrent une bonne répétabilité pour cette méthode d'extraction entre 40 et 120 °C. Cependant, ces valeurs écarts-types peuvent expliquer certains phénomènes observés, notamment la diminution de certains taux de recouvrement entre 80 et 100 °C ou bien le fait qu'un taux de recouvrement ait été supérieur à 100 %.

Par conséquent, la procédure d'extraction par liquide pressurisé la mieux adaptée consiste à extraire les pesticides préchauffés 5 min avec l'acétonitrile (60% de flush) à 120 °C et 1500 psi sur deux cycles de 5 min chacun. Les résultats obtenus par les deux méthodes optimisées (extraction par ultrasons avec l'acétonitrile et extraction par liquide pressurisé à 120 °C avec l'acétonitrile) sont similaires en termes d'efficacité (taux de recouvrement) et de répétabilité (RSD).

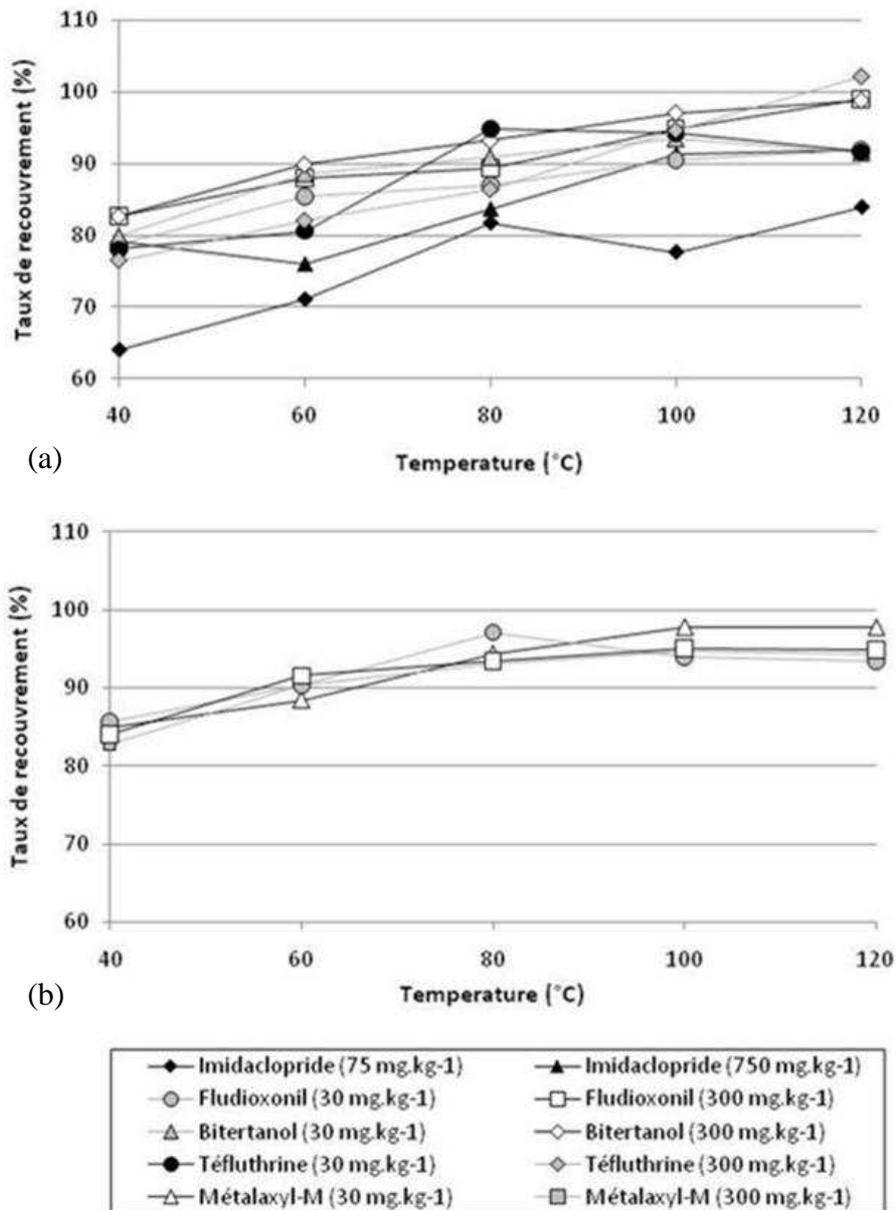


Figure III-3: Effet de la température sur l'efficacité de l'extraction par liquide pressurisé (a) pour le blé et (b) pour le maïs. Conditions d'extraction: acétonitrile (flush 60 %), 2 cycles, 5 minutes de préchauffage, 5 minutes de temps statique.

III.4. VALIDATION DES METHODES D'EXTRACTION

Dans un premier temps, la linéarité des méthodes a été évaluée par le tracé des courbes de calibration externe obtenues avec 6 niveaux de concentration tripliqués. Pour chaque point de la courbe, les produits phytosanitaires concernés sont ajoutés aux extraits de semences non traitées, par l'intermédiaire d'une solution concentrée. Les domaines de linéarité ont été définis entre 10 et 1000 mg.kg⁻¹ pour l'imidaclopride et entre 4 et 400 mg.kg⁻¹ pour les autres composés.

Pour l'extraction par ultrasons, les coefficients de détermination (R²) obtenus ont été tous supérieurs à 99,84 % pour tous les pesticides sur les deux matrices. En ce qui concerne l'extraction par liquide pressurisé, les coefficients de détermination ont tous été supérieurs à 99,80 %. Ces résultats montrent donc une très bonne linéarité pour les deux méthodes d'extraction sélectionnées.

Par la suite, les limites de détection et de quantification (respectivement LDD et LDQ) ont été calculées. La limite de détection a été définie comme la concentration de l'analyte telle que le signal mesuré est trois fois plus important que le signal du bruit de fond (obtenu à partir d'un extrait de contrôle), tandis que la limite de quantification correspond à un signal dix fois plus grand que le signal du bruit de fond.

Pour l'extraction par ultrasons, les LDD et LDQ vont de 0,08 et 0,30 mg.kg⁻¹ (pour l'imidaclopride dans le blé) à 0,50 et 1,50 mg.kg⁻¹ (pour le téfluthrine sur le blé et le fludioxonil sur le maïs), tandis que pour l'extraction par liquide pressurisé, elles vont de 0,10 et 0,40 mg.kg⁻¹ (pour le fludioxonil sur le blé) à 0,30 et 1,50 mg.kg⁻¹ (pour le téfluthrine sur le blé).

Les limites de quantifications sont toutes inférieures à 1,50 mg.kg⁻¹. Par conséquent, la linéarité a bien été validée pour des domaines de concentration compris entre 10 et 1000 mg/kg pour l'imidaclopride et entre 4 et 400 mg.kg⁻¹ pour les autres pesticides. Compte tenu des valeurs attendues pour les teneurs en pesticides (Tableau III-3), ces deux méthodes ont pu être utilisées pour la détermination de pesticides dans les enrobages.

III.5. APPLICATION DES DEUX METHODES PROPOSEES SUR DES ECHANTILLONS DE SEMENCES ENROBEES

Les semences enrobées ont été préparées *in situ* en ajoutant à des semences non traitées la dose nécessaire de solution d'enrobage pour obtenir les teneurs en pesticides recommandées par les fournisseurs (Tableau III-4).

Tableau III-4: Matrices étudiées avec les enrobages et les teneurs en pesticides des semences enrobées.

Matrice	Enrobage	Pesticides	Teneur (mg.kg ⁻¹ de semences)
Maïs	Influx XL [®]	Métalaxyl-M	10
		Fludioxonil	25
Blé	Gaucho Blé [®]	Imidaclopride	700
		Bitertanol	150
	Celest	Fludioxonil	50
	Austral Plus [®]	Fludioxonil	50
Téfluthrine		200	

Les taux de recouvrement sur les semences enrobées sont définis comme le rapport entre la quantité de pesticides extraites et la quantité de pesticides ajoutés avec la solution d'enrobage. L'efficacité des deux méthodes proposées (ultrasons avec acétonitrile et extraction par liquide pressurisé avec acétonitrile à 120 °C) a été évaluée pour quatre types de semences enrobées.

III.5.1. Extraction par ultrasonication des semences enrobées

Le Tableau III-5 montre que, lors de l'extraction assistée par ultrasons, les taux de recouvrement des pesticides sur blé enrobé sont compris entre 76 % (téfluthrine dans l'enrobage Austral Plus) et 95 % (bitertanol dans l'enrobage Gaucho Blé) avec des écarts-types relatifs allant de 2 à 5 %. Sur le maïs, les taux de recouvrement vont de 16 à 78 % avec des RSD de 3 %.

Tableau III-5: Taux de recouvrement (Rec.) et répétabilité (RSD) pour l'extraction des pesticides sur semences enrobées assistée par ultrasons.

Pesticides	Blé						Maïs	
	Gaucho Blé		Celest		Austral Plus		Influx XL	
	Rec. (%)	RSD (%)	Rec. (%)	RSD (%)	Rec. (%)	RSD (%)	Rec. (%)	RSD (%)
Imidaclopride	87	5	-	-	-	-	-	-
Métalaxyl-M	-	-	-	-	-	-	16	3
Fludioxonil	-	-	78	3	84	4	78	3
Bitertanol	95	4	-	-	-	-	-	-
Téfluthrine	-	-	-	-	76	5	-	-

Concernant l'extraction assistée par ultrasons des pesticides sur les semences enrobées avec du Gaucho Blé (imidaclopride et bitertanol), les taux de recouvrement sont similaires à ceux présentés précédemment pour les tests de recouvrement de ces pesticides appliqués seuls (chapitre III.3.1).

En revanche, les autres pesticides enrobés ont moins bien été extraits que lors des tests de recouvrement, notamment pour le métalaxyl-M enrobé sur maïs dont le taux d'extraction est passé de 96 % (tests de recouvrement) à 16 % (extraction sur semences enrobées). La faible extraction de ces pesticides, tous issus des enrobages de la marque Syngenta® (Celest, Austral Plus et Influx XL), peut s'expliquer par la présence d'agents pelliculants polymériques particuliers dans ces formulations. Ces produits sont employés pour améliorer l'adhésion des pesticides sur les grains. Dans le cas de notre étude, ces produits ont pu limiter l'extraction des pesticides sur les enrobages. Par conséquent, l'extraction par ultrasons sur les semences enrobées a semblé être peu efficace pour l'extraction de certains pesticides dans les enrobages étudiés.

III.5.2. Extraction par liquide pressurisé des semences enrobées

Pour l'extraction par liquide pressurisé des pesticides enrobées, tous les taux d'extraction ont été compris entre 82 % (fludioxonil sur du maïs enrobé avec le produit Influx XL) et 95 % (téfluthrine sur les semences de blé enrobé d'Austral Plus) avec des écarts-types relatifs allant de 3 à 7 % (Tableau III-6).

Tableau III-6: Taux de recouvrement (Rec.) et répétabilités (RSD) pour l'extraction des pesticides sur semences enrobées par liquide pressurisé.

Pesticides	Blé						Maïs	
	Gaucho Blé		Celest		Austral Plus		Influx XL	
	Rec. (%)	RSD (%)	Rec. (%)	RSD (%)	Rec. (%)	RSD (%)	Rec. (%)	RSD (%)
Imidaclopride	85	5	-	-	-	-	-	-
Métalaxyl-M	-	-	-	-	-	-	84	3
Fludioxonil	-	-	84	5	87	7	82	5
Bitertanol	91	5	-	-	-	-	-	-
Téfluthrine	-	-	-	-	95	7	-	-

Pour cette méthode d'extraction, les taux de recouvrement ont été un peu plus faibles que ceux obtenus pour les tests de recouvrement (chapitre III.3.2). En revanche, les taux de recouvrement des pesticides enrobés obtenus par extraction par liquide pressurisé ont généralement été plus élevés que ceux obtenus par ultrasonication. Ainsi, avec une température élevée du four pour une extraction par liquide pressurisé, la température a sans doute dépassé la température de transition vitreuse des agents pelliculants et cela a permis une meilleure extraction des pesticides enrobés.

III.6. CONCLUSION

La détermination des pesticides sur les semences enrobées de blé et de maïs a pu être effectuée par le système HPLC équipé de la micro-colonne Turbo ODS 80. En effet, la comparaison des performances des deux systèmes a montré les avantages de la micro-colonne en matière de temps d'analyse et de consommation d'éluant sans affecter les résolutions des pics.

Deux méthodes d'extraction ont été étudiées en détail grâce à des tests de recouvrement des pesticides ajoutés à des semences non traitées. La méthode d'extraction assistée par ultrasons a montré l'influence de la nature du solvant tandis que l'extraction par liquide pressurisé a mis en évidence l'effet de la température du four sur les taux de recouvrement. Finalement, les taux de recouvrement les plus élevés ont été obtenus pour l'extraction par ultrasonication avec l'acétonitrile et pour l'extraction par liquide pressurisé avec l'acétonitrile à 120 °C. Les taux de recouvrement ont été similaires pour les deux procédures d'extraction.

Néanmoins, dans le cas de l'extraction de pesticides présents sur les semences enrobées, les rendements d'extraction par ultrasonication ont été généralement plus faibles. La présence d'agents d'enrobage dans les formulations pourrait expliquer le fait qu'à température ambiante l'extraction soit limitée. Au contraire, l'extraction par liquide pressurisé à haute température sur des semences enrobées a présenté des résultats aussi bons que pour les tests de recouvrement. Par conséquent, la méthode d'extraction par liquide pressurisé semble adaptée pour l'extraction d'une large gamme de pesticides sur semences enrobées. Ces résultats ont fait l'objet d'une publication dans une revue à comité de lecture [Bourgin *et al.*, 2009]. Cette méthode a donc été retenue, par la suite, pour l'extraction de pesticides sur semences et appliquée lors de l'étude de l'ozonation de pesticides sur semences enrobées.

Chapitre IV:
**Etude de l'ozonation de
pesticides en solution en
réacteur agité**

Dans ce chapitre, l'étude de la dégradation dans un réacteur gaz-liquide semi-continu agité de deux pesticides présents dans l'enrobage Gaucho Blé[®], l'imidaclopride et le bitertanol, sera effectuée. Les ozonations seront réalisées en utilisant comme solvant d'ozonation le mélange suivant : eau ultrapure-acétonitrile (99:1, v/v). L'acétonitrile a été utilisé ici pour dissoudre les pesticides dans la solution, d'autant plus que sa réactivité avec l'ozone est très faible [Yao et Haag, 1991].

Dans un premier temps, nous allons étudier la décomposition et le transfert de l'ozone afin de déterminer les paramètres de transfert de l'ozone dans notre milieu d'ozonation.

Dans la deuxième partie, la cinétique de dégradation de l'imidaclopride et du bitertanol par l'ozone sera détaillée afin d'établir le régime de fonctionnement du réacteur.

La dernière partie sera consacrée à la détermination des produits de dégradation de l'imidaclopride et du bitertanol dans le but d'établir les voies de dégradation de ces composés.

IV.1. ETUDE DU TRANSFERT ET DE LA DECOMPOSITION DE L'OZONE

IV.1.1. Décomposition de l'ozone dans le solvant d'ozonation

La réaction chimique de décomposition de l'ozone a été étudiée en mesurant les variations de la concentration en ozone dissous d'une solution eau-acétonitrile (99:1, v/v) saturée. Pour cela, cette solution a été ozonée à température ambiante avec un débit de gaz de 20 L.h⁻¹ et une concentration en ozone de 90 g.m⁻³ CNTP ($[O_3]_{ge}$) jusqu'à l'obtention de la valeur en ozone dissous à saturation ($[O_3]_{\infty}$). Une surpression de 200 mbar dans le ciel gazeux a été maintenue afin de favoriser la dissolution de l'ozone.

Après arrêt du gaz, la concentration en ozone dissous ($[O_3]_l$) a été mesurée en continu pendant 10 minutes dans le réacteur fermé, en s'assurant que la surpression reste constante. L'évolution de la concentration en ozone dissous est présentée sur la Figure IV-1.

On constate que, dans ces conditions de décomposition, la teneur en ozone résiduelle a diminué sensiblement dans la solution. En effet, 10 minutes après l'arrêt de l'ozonation, il ne restait plus présent que 79% de l'ozone dissous initialement.

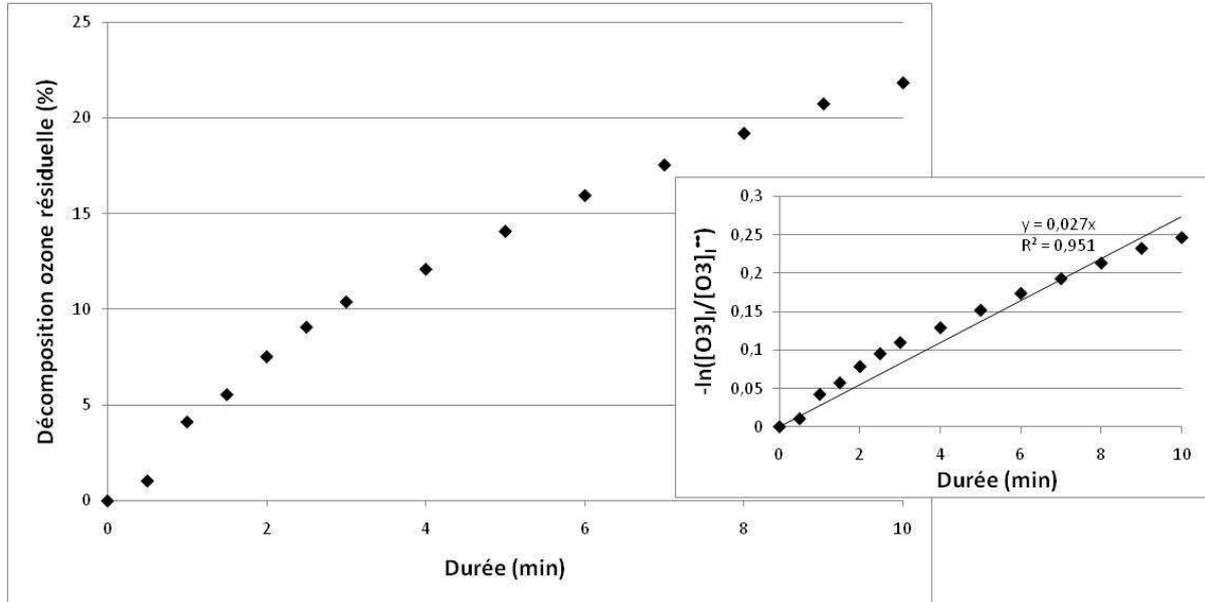


Figure IV-1: Décomposition de l'ozone dissous à l'arrêt du gaz pour une ozonation préalable avec $[O_3]_{ge} = 90 \text{ g.m}^{-3}$ CNTP. Encadré: Illustration de l'ordre 1 de réaction pour la décomposition de l'ozone dissous

La décomposition de l'ozone dissous a suivi une loi cinétique d'ordre 1 par rapport à la concentration en ozone dissous (encadré de la Figure IV-1). La valeur de la constante cinétique apparente k_{app,O_3} est de $0,027 \text{ min}^{-1}$, soit $4,5 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$. Cette valeur de constante cinétique apparente est en concordance avec celle obtenue par Beltran-Heredia [Beltran-Heredia *et al.*, 2001]. En effet, à $\text{pH}=7$ et en considérant la décomposition de l'ozone dans l'eau ultrapure suivant une loi cinétique d'ordre 1 par rapport à l'ozone, ces auteurs trouvent une constante de décomposition égale à $4,8 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$.

IV.1.2. Etude du transfert de l'ozone dans la phase aqueuse

Afin d'étudier le transfert de l'ozone dans l'eau, une solution de solvant eau-acétonitrile (99:1, v/v) a été ozonée jusqu'à saturation en maintenant une surpression de 200 mbar dans le ciel gazeux du réacteur.

Le paramètre global de transfert $k_L.a$ s'obtient à partir de l'équation du transfert de l'ozone qui provient de la théorie du double film (chapitre I.3.1.2.1, p50):

$$-\ln\left(\frac{[O_3]_i^* - [O_3]_i}{[O_3]_i^*}\right) = k_L.a.t$$

Le suivi de la concentration en ozone dissous durant l'ozonation permet de déterminer la concentration en ozone dissous à l'état stationnaire ($[O_3]_i^*$) et d'en déduire le produit $k_L.a$.

L'évolution de la concentration pendant 60 minutes en ozone dissous en fonction du temps d'ozonation est présentée sur la Figure IV-2.

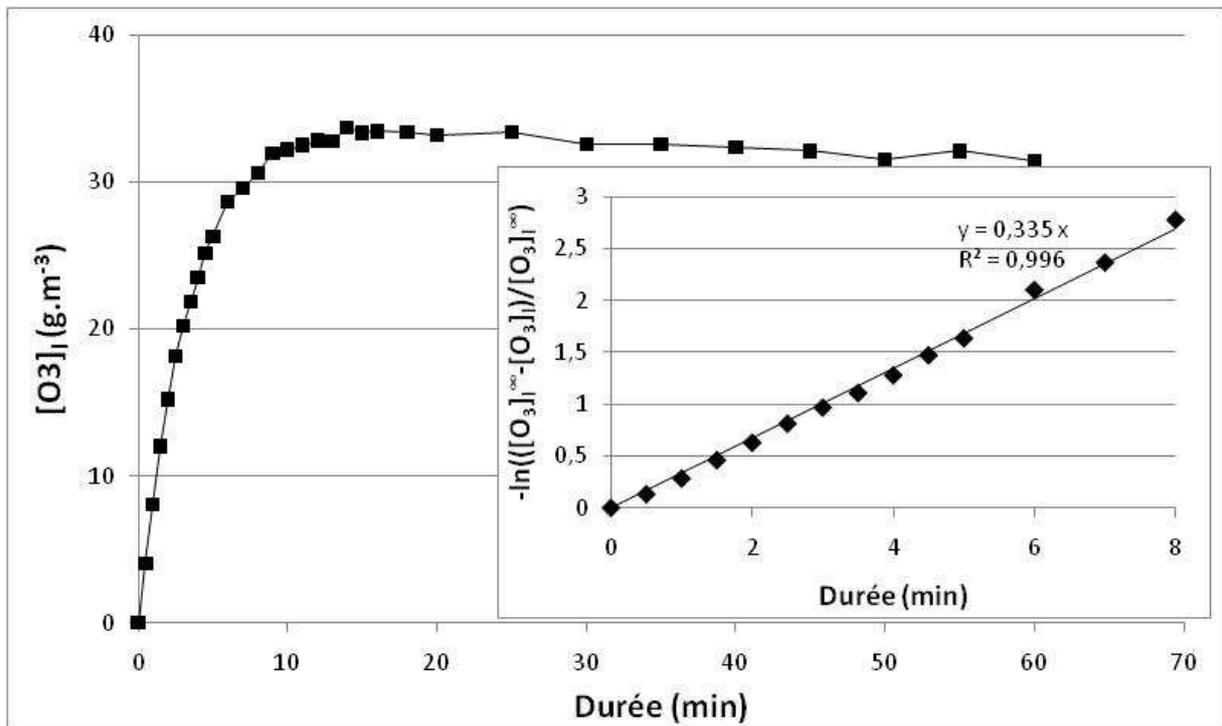


Figure IV-2: Evolution de $[O_3]_i$ durant l'ozonation du solvant eau-acétonitrile (99:1, v/v). Encadré: Détermination du paramètre global de transfert $k_L.a$.

La concentration en ozone dissous a augmenté rapidement lors des 10 premières minutes d'injection pour atteindre un palier après 10 minutes d'ozonation.

La concentration en ozone dissous mesurée à l'état stationnaire ($[O_3]_l^{\infty}$) est la valeur moyenne de la concentration en ozone dissous sur le palier de la courbe $[O_3]_l = f(t)$. Puisque nous avons vu précédemment que la vitesse de décomposition de l'ozone dissous dans la solution étudiée a été très faible ($k_{app.O_3} = 0,027 \text{ min}^{-1}$), on supposera $[O_3]_l^* \approx [O_3]_l^{\infty}$ et la valeur d'ozone dissous à l'équilibre mesurée $[O_3]_l^{\infty}$ a été utilisée pour calculer le paramètre global de transfert $k_L.a$.

L'encadré de la Figure IV-2 montre la linéarité ($R^2 = 0,9959$) de la courbe $-\ln\left(\frac{[O_3]_l^* - [O_3]_l}{[O_3]_l^*}\right)$ en fonction du temps lors des 8 premières minutes d'ozonation. Le coefficient directeur ($k_L.a$) de la courbe obtenu est de $0,335 \text{ min}^{-1}$. La valeur d'ozone dissous à saturation ($[O_3]_l^{\infty}$) calculée est $32,61 \pm 0,67 \text{ g.m}^{-3}$.

La valeur du paramètre global de transfert est ensuite comparée avec la relation de Ouederni [Ouederni et al., 1987] et Ghaieb [Ghaieb, 1990] pour les réacteurs agités (Tableau I-8):

Dans le cas du réacteur agité utilisé ici, la valeur du paramètre global de transfert calculée est de $0,17 \text{ min}^{-1}$ à partir de l'équation de Ouederni et de $0,20 \text{ min}^{-1}$ à partir de l'équation de Ghaieb. Ces valeurs sont du même ordre de grandeur que la valeur obtenue.

En négligeant la présence de l'acétonitrile et en considérant donc le solvant étudié comme de l'eau ultrapure, la valeur de la concentration en ozone dissous à saturation $[O_3]_l^*$ peut être comparée à la valeur obtenue avec la loi de Henry avec la relation:

$$[O_3]_l^* = \frac{\rho_{H_2O}}{M_{H_2O}} \times \frac{R \times T}{He} \times [O_3]_{g\#}$$

Où la constante de Henry (He) est déterminée par la relation de Roth & Sullivan [Roth et Sullivan, 1981] avec:

$$He = 3,84.10^7 \times [OH^-]^{0,035} \times \exp\left(\frac{-2428}{T}\right)$$

- ρ_{H_2O} : masse volumique de l'eau ($kg.m^{-3}$)
 M_{H_2O} : masse moléculaire de l'eau ($g.mol^{-1}$)
R : constante des gaz parfaits ($0,082 L.atm.mol^{-1}.K^{-1}$)
T : température (K)
He : constante de Henry (atm)

Le pH de la solution a été mesuré avant ozonation et après ozonation. Les valeurs de pH obtenues sont respectivement de 7,0 avant ozonation et de 4,6 après 60 minutes d'ozonation. Ce phénomène est probablement dû à la réaction d'ozonation de l'acétonitrile : la réaction est certes lente ($t_{1/2} = 18$ an selon Yao et Haag [Yao et Haag, 1991]) mais suffisante pour induire une modification du pH. En utilisant les relations précédemment citées pour une température de 20°C, une surpression de 200 mbar et un pH final de 4,6, la valeur de la concentration en ozone dissous à saturation ($[O_3]_i^s$) ainsi obtenue est de 32,8 $mg.L^{-1}$.

Il apparaît que la valeur de la concentration en ozone dissous mesurée à l'état stationnaire ($[O_3]_i^{ss}$) est proche de la concentration en ozone dissous calculée à partir de la loi de Henry pour une solution saturée ($[O_3]_i^s$). L'hypothèse de la concentration en ozone dissous à saturation ($[O_3]_i^s$) proche de la concentration en ozone dissous à l'équilibre ($[O_3]_i^{ss}$) est donc bien vérifiée ce qui signifie que la vitesse de décomposition de l'ozone dissous dans le mélange eau-acétonitrile (99:1, v/v) est effectivement très lente dans nos conditions. Les valeurs des différents paramètres de transfert de l'ozone se sont avérées proches de celles dans l'eau ultrapure. Par conséquent, l'ajout d'acétonitrile a peu d'influence sur les paramètres de transfert de l'ozone.

IV.2. ETUDE DE LA CINETIQUE D'OZONATION DES PESTICIDES

IV.2.1. Effet des composés présents dans la solution d'enrobage Gaicho Blé[®] sur la dégradation des pesticides

Comme il a été énoncé précédemment (paragraphe I.1), les solutions d'enrobage sont des solutions aqueuses qui contiennent non seulement les produits phytosanitaires nécessaires à la protection de la semence mais aussi d'autres agents tels que les colorants, les pelliculants, etc. L'objet de cette étude a été de valider la réaction entre l'ozone et les pesticides – l'imidaclopride et le bitertanol- et de vérifier si l'ozonation des produits phytosanitaires en présence d'autres composés modifie leurs cinétiques de dégradation.

Les conditions d'ozonation ont été les mêmes pour toutes les solutions ozonées, c'est-à-dire une concentration de 90 g.m^{-3} CNTP en ozone dans le gaz introduit à un débit de 20 L.h^{-1} . Une surpression de 200 mbar a été maintenue dans le réacteur afin d'augmenter la concentration en ozone dans la phase liquide.

IV.2.1.1 EFFET SUR LA DEGRADATION DE L'IMIDACLOPRIDE

Cette étude a été réalisée en ozonant une solution de standard d'imidaclopride et une solution d'enrobage de Gaicho Blé[®] avec une concentration en imidaclopride de $39 \mu\text{g.mL}^{-1}$ pour chacune.

La Figure IV-3 montre que, pour chaque solution, la décomposition de l'imidaclopride a commencé dès le début de l'injection de l'ozone dans le système. Les dégradations de l'imidaclopride ne sont pas significativement différentes pour les deux solutions. Après 30 minutes d'ozonation, la conversion de l'imidaclopride a presque été complète (supérieure à 98 %) dans les deux solutions.

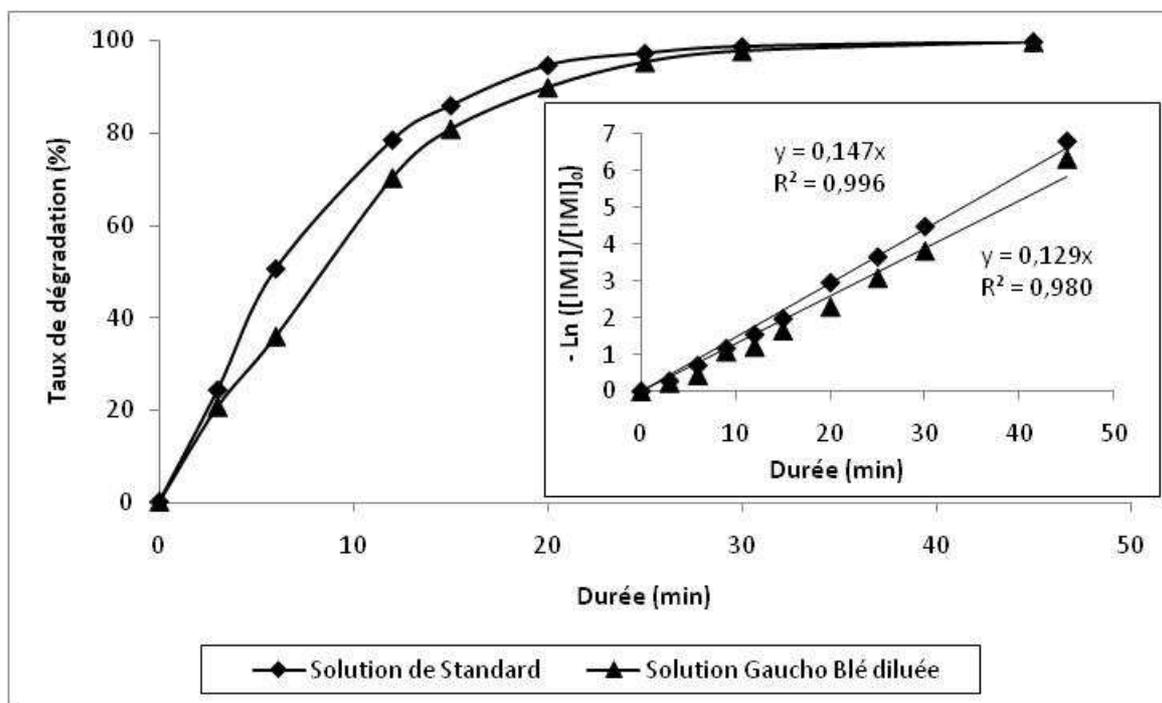


Figure IV-3: Evolution de la dégradation de l'imidaclopride par l'ozone dans une solution de standard (losange) et une solution de Gaucho Blé[®] diluée (triangle) en fonction du temps. L'encadré montre la transformation de $\ln ([IMI]/[IMI]_0)$ en fonction du temps. $[IMI]_0 = 39 \mu\text{g.mL}^{-1}$.

Le régime cinétique de chaque réaction a été étudié et l'ordre 1 de la cinétique de réaction a été déterminé. L'encadré de la Figure IV-3 montre les variations de $\ln ([IMI]/[IMI]_0)$ par rapport au temps avec $[IMI]_0$ et $[IMI]$, les concentrations en imidaclopride à l'état initial et à l'instant t. Les coefficients de détermination ont été supérieurs à 98,0 %. Les pentes des courbes ont été définies comme étant les constantes de vitesse. Les valeurs obtenues ont été de 0,147 et 0,129 min^{-1} , respectivement pour la solution de standard et la solution d'enrobage diluée, ce qui montre une différence peu significative des cinétiques de dégradation des solutions. Par conséquent, la décomposition de l'imidaclopride par ozonation dans la solution Gaucho Blé[®] diluée n'est pas apparue limitée par la compétition entre l'imidaclopride et les autres composés présents dans la solution (bitertanol, anthraquinone, colorants, pelliculants, etc.).

En même temps que la dégradation de l'imidaclopride, plusieurs produits de dégradation ont été formés. Les compositions de la solution de standard et de la solution de Gaucho Blé[®] diluée ont été suivies durant l'ozonation par HPLC. Les différents chromatogrammes obtenus

à différents temps de traitement indiquent que, pour les deux solutions, des pics ayant le même temps de rétention et des aires similaires ont été formés (Figure IV-4).

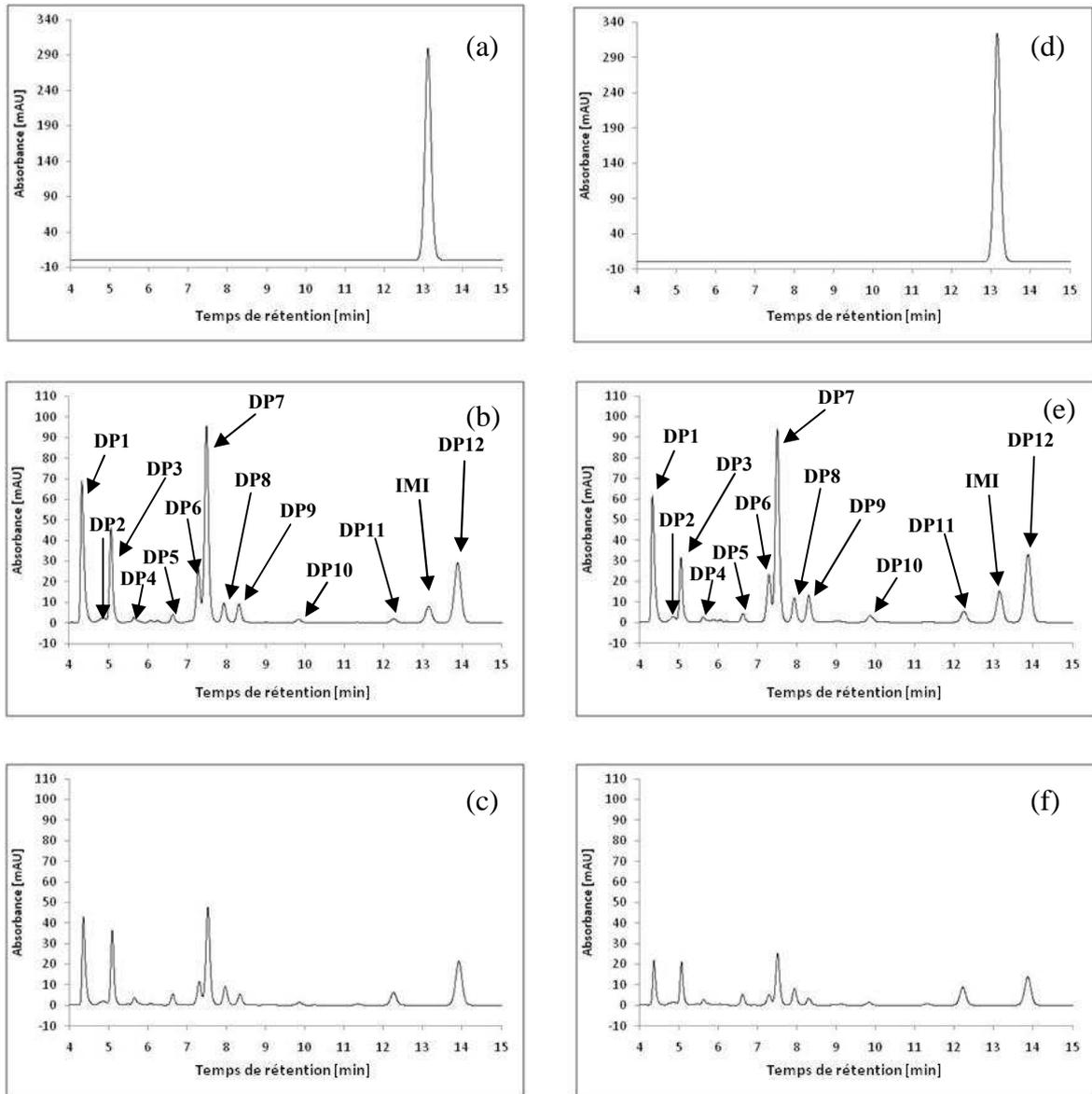


Figure IV-4: Chromatogrammes de solutions d'imidaclopride ozonées obtenus à une longueur d'onde de 254 nm.

(a), (b) et (c) représentent les chromatogrammes d'une solution de standard d'imidaclopride respectivement après une durée d'ozonation de 0, 25 et 90 minutes. (d), (e) et (f) représentent les chromatogrammes de la solution d'enrobage diluée après une durée de traitement de 0, 25 et 90 minutes. $[IMI]_0 = 39 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$.

L'évolution des pics principaux de dégradation (**DP1**, **DP3**, **DP6**, **DP7**, **DP8**, **DP9**, **DP11**, **DP12**) dans la solution de standard en fonction des durées d'ozonation est présentée sur la Figure IV-5.

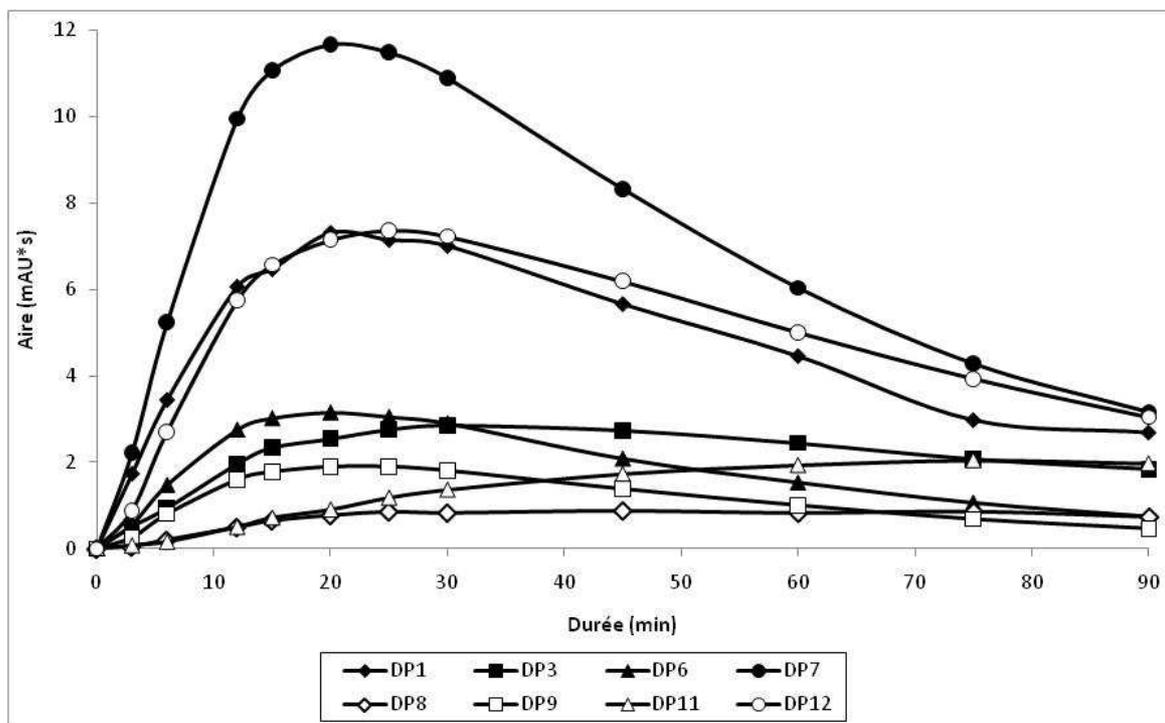


Figure IV-5: Evolution de l'aire des pics des produits de dégradation par ozonation de l'imidaclopride détectés à 254 nm en fonction de la durée d'ozonation.

Tous les pics sont apparus dès le début de l'ozonation mais trois produits de dégradation **DP1**, **DP7** et **DP12** sont rapidement prédominant avec des aires supérieures à 7 mAU*s au bout de 20 minutes de traitement. Les aires des pics des autres produits de dégradation n'ont pas excédé 4 mAU*s. La Figure IV-5 montre que les pics de tous les produits de dégradation, excepté **DP8** et **DP11**, ont évolué de la même façon avec une augmentation de l'aire de leur pic au début de l'ozonation pour atteindre un maximum après 20-25 minutes. Puis, ces produits ont ensuite été décomposés par l'ozone car leurs aires diminuent au fur et à mesure du traitement pour atteindre des aires inférieures à 4 mAU*s. Les pics **DP8** et **DP11** ont montré une évolution différente : leurs aires ont augmenté tout au long de la réaction. Il a également été constaté que l'aire de **DP5** a évolué de la même manière que **DP8** et **DP11**

(donnée non présentée sur la Figure IV-5 car l'aire de **DP5** était beaucoup plus faible que celles des autres pics).

Comme pour l'imidaclopride, l'influence de la matrice de la solution d'enrobage a été évaluée lors de l'ozonation du bitertanol.

IV.2.1.2 EFFET SUR LA DEGRADATION DU BITERTANOL

Afin d'étudier l'effet des composés de la solution d'enrobage sur la cinétique de dégradation du bitertanol, deux solutions avec une concentration de $8,4 \mu\text{g.mL}^{-1}$ en bitertanol ont été ozonées : l'une à partir de standard de bitertanol dissous dans le solvant d'ozonation, l'autre par dilution de la solution d'enrobage Gaucho Blé[®].

L'évolution de la concentration de bitertanol dans les solutions au cours de l'ozonation est présentée sur la Figure IV-6.

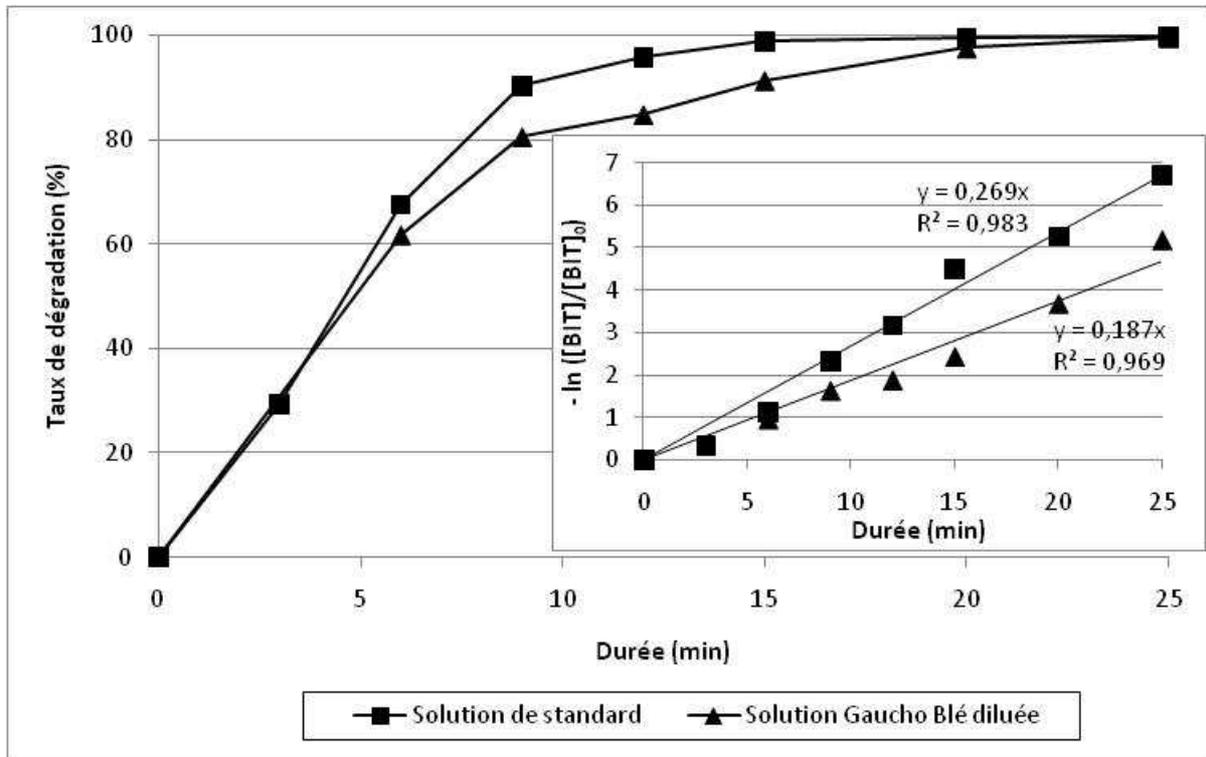


Figure IV-6 : Evolution de la dégradation du bitertanol par l'ozone dans une solution de standard (triangle) et une solution de Gaucho Blé[®] diluée (carré) en fonction du temps. L'encadré montre la transformation de $\ln([BIT]/[BIT]_0)$ en fonction du temps. $[BIT]_0 = 8,4 \mu\text{g.mL}^{-1}$.

La Figure IV-6 montre que le bitertanol est décomposé dans les deux solutions dès le début de la réaction. Contrairement à l'ozonation de l'imidaclopride, une différence significative a été observée entre l'ozonation dans la solution de standard et dans la solution de Gaucho Blé[®] diluée. En effet, après 15 minutes de traitement, la dégradation du bitertanol dans la solution de standard a été quasiment complète (98,9 % de dégradation) alors que, pour le même temps d'ozonation, la dégradation a seulement été de 91,2 % dans la solution d'enrobage diluée. Néanmoins, après 25 minutes de traitement, la dégradation du bitertanol a été pratiquement complète dans les deux solutions avec des taux de dégradation respectifs de 99,9 % et 99,4 % pour la solution de standard et la solution de Gaucho Blé[®] diluée.

Le régime cinétique de chaque réaction a été étudié et l'ordre 1 de la cinétique des réactions a été déterminé. Ainsi, les variations de $\ln ([\text{BIT}]/[\text{BIT}]_0)$ en fonction du temps ont été tracées (encadré de la Figure IV-6) avec $[\text{BIT}]_0$ et $[\text{BIT}]$ les concentrations en bitertanol à l'état initial et à l'instant t. Les coefficients de détermination ont été supérieurs à 96,9 %. Les constantes cinétiques d'ordre 1 de la réaction d'ozonation du bitertanol ont été calculées pour chaque réaction comme les pentes des différentes courbes. Les valeurs des constantes cinétiques ont été de $0,269 \text{ min}^{-1}$ pour la solution de standard et de $0,187 \text{ min}^{-1}$ pour la solution d'enrobage diluée. La différence de cinétique des deux ozonations est donc bien significative. Par conséquent, les autres constituants de la solution d'enrobage semblent avoir un effet limitant sur la cinétique de dégradation.

L'évolution des différents produits de dégradation a été suivie par leur temps de rétention dans la solution de standard et la solution d'enrobage Gaucho Blé[®] diluée. Les chromatogrammes obtenus, pour les deux solutions, après 0, 15 et 90 minutes d'ozonation sont présentés sur la Figure IV-7. Les produits de dégradation du bitertanol issus de la solution de standard et de la solution de Gaucho Blé[®] ont eu les mêmes temps de rétention et des aires similaires au cours du traitement. Quatre produits de dégradation majeurs ont été observés (**DP14**, **DP15**, **DP16** et **DP17**). L'évolution de l'aire de ces pics a été suivie et est représentée sur la Figure IV-8.

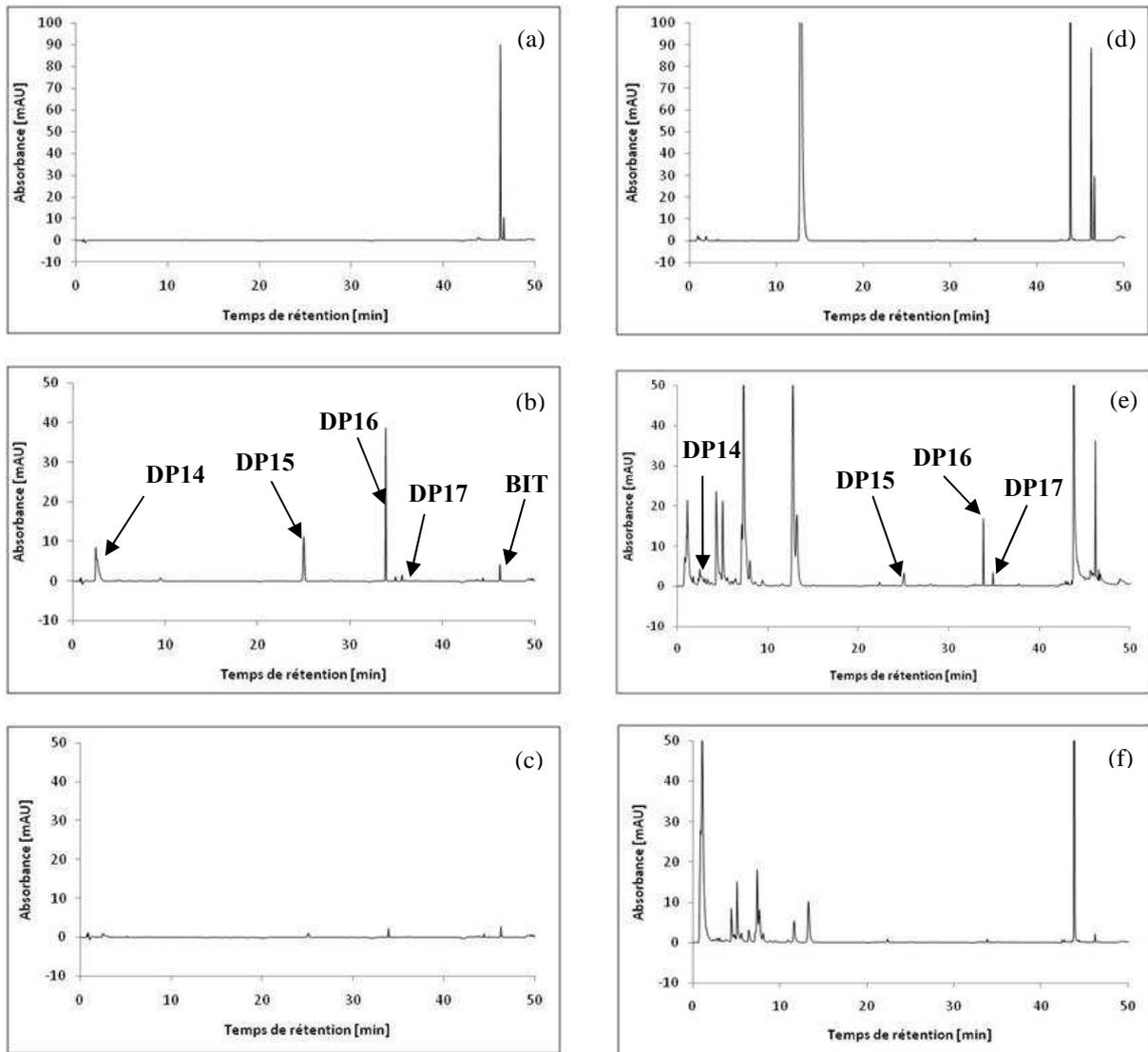


Figure IV-7 : Chromatogrammes des solutions de bitertanol ozonées obtenus à une longueur d'onde de 254 nm. (a), (b) et (c) représentent les chromatogrammes d'une solution de standard de bitertanol respectivement après une durée d'ozonation de 0, 15 et 90 minutes. (d), (e) et (f) représentent les chromatogrammes de la solution d'enrobage diluée après une durée de traitement de 0, 25 et 90 minutes. $[BIT]_0 = 8,4 \text{ mg.L}^{-1}$.

Comme pour les produits de dégradation de l'imidaclopride, les 4 produits de dégradation du bitertanol sont apparus dès les premières minutes d'ozonation. Par la suite, l'aire de ces produits de dégradation a eu la même évolution. Leurs aires ont augmenté lors des 12-15 premières minutes pour atteindre leurs valeurs maximales. Trois produits majoritaires (**DP14**, **DP15** et **DP16**) ont été observés : leurs aires ont été supérieures à $0,96 \text{ mAU}\cdot\text{s}$ vers 15 minutes. Après 15 minutes de traitement, les aires de tous les produits de dégradation ont diminué sensiblement, indiquant qu'ils ont eux aussi été dégradés par ozonation. Après 90

minutes d'ozonation, l'aire de tous les produits de dégradation a été réduite à des valeurs inférieures à 0,14 mAU*s.

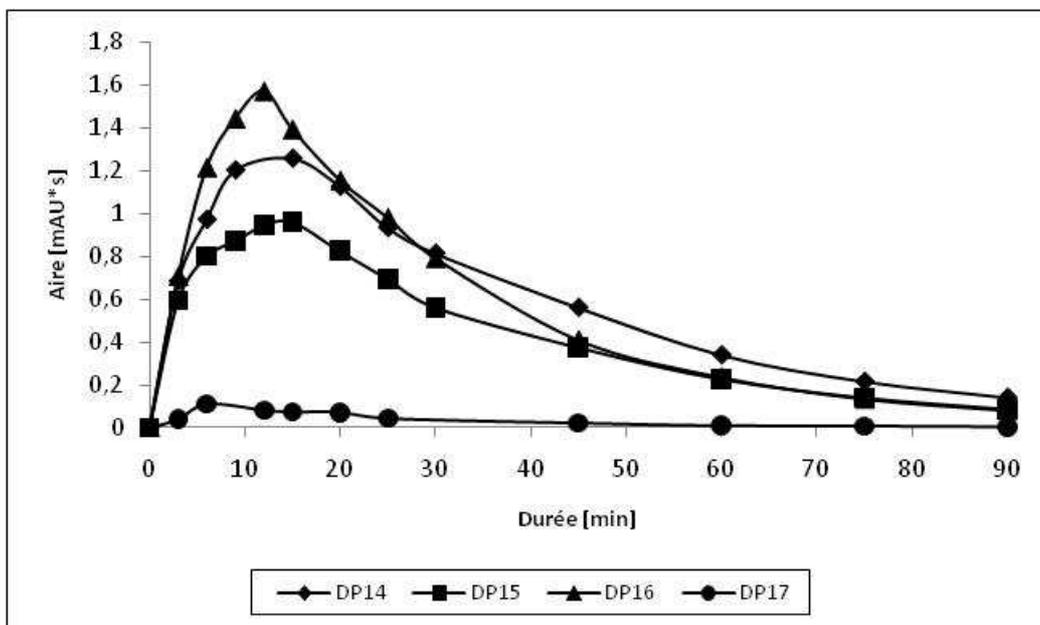


Figure IV-8 : Evolution de l'aire des pics des produits de dégradation détectés à 254 nm en fonction de la durée d'ozonation pour une solution de standard de bitertanol.

IV.2.2. Effet de l'ajout d'un piègeur de radicaux

Comme observé précédemment, la cinétique de dégradation du bitertanol par ozonation a été nettement plus lente lorsque la réaction a eu lieu dans la solution d'enrobage diluée. Il est donc apparu nécessaire de vérifier si les différents composants de la solution d'enrobage ont eu ou non, au cours de l'ozonation, un effet limitant sur la cinétique de dégradation des composés. En effet, en solution aqueuse, l'ozone peut se décomposer avant de réagir avec le substrat pour former des espèces radicalaires encore plus réactives [Hoigné et Bader, 1976].

Le tert-butanol est un bon piègeur de radicaux [Stahelin et Hoigne, 1985]. Ainsi, en présence d'un excès de tert-butanol (TBA), l'action des radicaux sur le substrat est négligeable et seule l'action de l'ozone moléculaire est prise en compte. Des essais d'ozonation ont alors été effectués en présence de tert-butanol ($10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$, soit $741,2 \mu\text{g.mL}^{-1}$) sur les solutions de standards de pesticides afin de vérifier l'influence de l'alcool sur la cinétique (Figure IV-9).

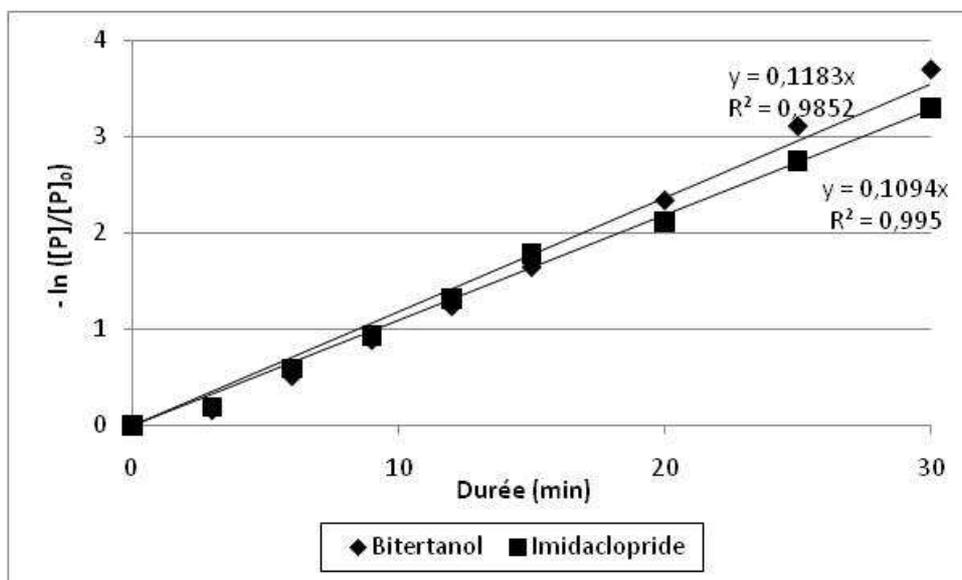


Figure IV-9 : Détermination des cinétiques d'ozonation de l'imidaclopride (losange) et du bitertanol (carré) en présence de tert-butanol (TBA). $[IMI]_0 = 39 \mu\text{g.mL}^{-1}$; $[BIT]_0 = 8,4 \mu\text{g.mL}^{-1}$; $[TBA]_0 = 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$.

La Figure IV-9 montre qu'en présence de tert-butanol, la cinétique de dégradation des produits phytosanitaires est restée d'ordre 1. Les constantes cinétiques des réactions ont respectivement été de $0,109$ et $0,118 \text{ min}^{-1}$ pour l'imidaclopride et le bitertanol. Ces valeurs restent inférieures à celles obtenues pour les solutions de standard de pesticides sans tert-butanol (respectivement $0,147$ et $0,269 \text{ min}^{-1}$ pour l'imidaclopride et le bitertanol). En revanche, les valeurs obtenues en présence de tert-butanol ont été plus ou moins proches de celles calculées pour les ozonations des solutions d'enrobage où les constantes cinétiques des réactions d'ordre 1 étaient de $0,129 \text{ min}^{-1}$ pour l'imidaclopride et de $0,187 \text{ min}^{-1}$ pour le bitertanol.

Comme lors de l'ozonation des solutions d'enrobage, la cinétique de dégradation du bitertanol a été la plus fortement affectée par la présence d'autres composés (colorants, pelliculants, etc.).

Ainsi, dans le cas de solution de standard de bitertanol et, dans une moindre mesure, d'imidaclopride, les radicaux formés, suite à la décomposition de l'ozone, ont probablement participé à la réaction de dégradation. Dans les solutions d'enrobage diluées, la formation de radicaux a sans doute été limitée par la présence de composés présents dans la solution d'enrobage et ont probablement eu la même influence que le tert-butanol.

IV.2.3. Effet de la concentration en ozone dans le gaz entrant sur la dégradation des pesticides

Trois concentrations différentes d'ozone (22,5; 45 et 90 g.m⁻³ CNTP) ont été utilisées dans le gaz entrant pour l'ozonation d'une solution de Gaucho Blé[®] diluée avec une concentration initiale en imidaclopride de 39 µg.mL⁻¹ et en bitertanol de 8,4 µg.mL⁻¹. La dégradation des produits phytosanitaires a été suivie pour des durées de traitement de 0 à 90 minutes.

IV.2.3.1 DEGRADATION DE L'IMIDACLOPRIDE

La Figure IV-10 montre que, pour les trois concentrations en ozone, la décomposition de l'imidaclopride a été pratiquement totale au bout de 90 minutes. En effet, pour 45 et 22,5 g.m⁻³ CNTP, les taux de dégradation ont été respectivement de 99,9 et 96,5 % après 90 minutes alors qu'il a été de 99,8 % pour 90 g.m⁻³ CNTP après seulement 45 minutes de traitement (aucun résidu d'imidaclopride n'a été détecté au-delà de cette durée). Par conséquent, la dégradation de l'imidaclopride semble proportionnelle à la concentration en ozone dans le gaz entrant.

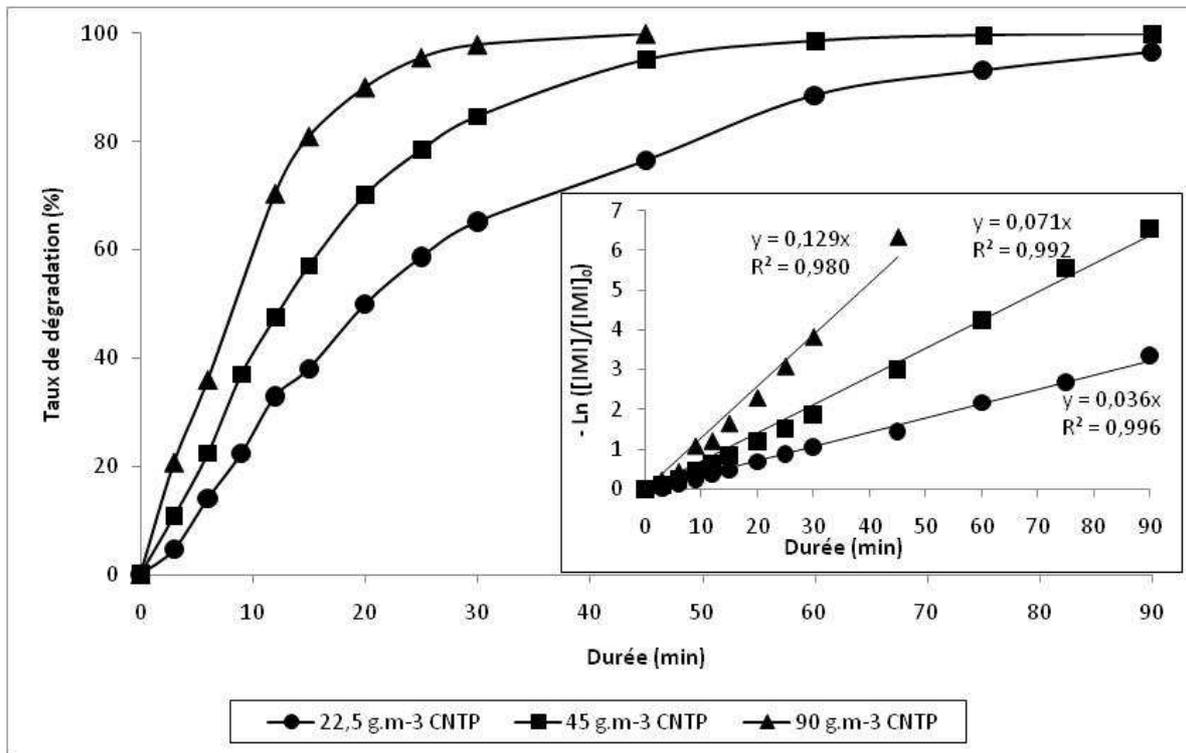


Figure IV-10: Evolution de la dégradation de l'imidaclopride dans une solution d'enrobage Gaucho Blé[®] diluée pour trois concentrations en ozone différentes dans le gaz entrant: 90 g.m⁻³ CNTP (triangle), 45 g.m⁻³ CNTP (carré), 22,5 g.m⁻³ CNTP (cercle). L'encadré montre la transformation linéaire de $\ln ([IMI]/[IMI]_0)$ en fonction du temps pour les trois concentrations.

Cette information a été confirmée par le tracé de la variation de $\ln ([IMI]/[IMI]_0)$ en fonction de la durée de traitement (encadré de la Figure IV-10). Cette figure permet, tout d'abord, de confirmer que les cinétiques de dégradation ont été d'ordre 1, quelque soit la concentration en ozone dans le gaz entrant. Les coefficients de détermination ont été supérieurs à 97,9 %. Par ailleurs, les constantes cinétiques ont été calculées, égales respectivement à 0,036; 0,071 et 0,129 min⁻¹ pour des concentrations en ozone dans le gaz entrant de 22,5; 45 et 90 g.m⁻³ CNTP. Ces constantes cinétiques sont proportionnelles à la concentration en ozone dans le gaz entrant dans le domaine étudié. En effet, ces constantes ont été doublées lorsque la concentration en ozone a été multipliée par deux. La concentration en ozone dans la solution est proportionnelle à la pression partielle de l'ozone dans le gaz et donc à la concentration en ozone dans la phase gazeuse. Etant donné que la cinétique de la réaction d'ozonation a été proportionnelle à la concentration en ozone dans le gaz, l'ordre de la réaction d'ozonation de l'imidaclopride est également d'ordre 1 pour l'ozone.

La vitesse de dégradation de l'imidaclopride peut alors s'écrire :

$$v = k_{1,IMI} \cdot [IMI]$$

avec :

$$k_{1,IMI} = k_{2,IMI} \cdot [O_3]_i$$

$k_{1,IMI}$: constante cinétique de la réaction de pseudo-ordre 1 entre l'ozone et l'imidaclopride (s^{-1}),

$k_{2,IMI}$: constante cinétique de la réaction d'ordre 2 d'ozonation de l'imidaclopride ($M^{-1} \cdot s^{-1}$),

$[O_3]_i$: concentration en ozone dans la phase liquide ($mg \cdot L^{-1}$).

Pour une solution de Gaucho Blé[®] diluée ozonée à une concentration en ozone de $90 \text{ g} \cdot \text{m}^{-3}$ CNTP dans le gaz entrant, la constante $k_{1,IMI}$ calculée a été de $0,129 \text{ min}^{-1}$, soit $2,15 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$, et la concentration en ozone à l'équilibre a été de $32 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, soit $0,67 \text{ mM}$. La constante cinétique $k_{2,IMI}$ de la réaction d'ozonation de l'imidaclopride a donc été de $3,21 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$.

Par la suite, l'influence de la concentration en ozone a été évaluée pour la dégradation du bitertanol afin de calculer les différentes constantes cinétiques de dégradation de ce composé.

IV.2.3.2 DEGRADATION DU BITERTANOL

La Figure IV-11 montre que, pour des concentrations en ozone dans le gaz entrant supérieures à $22,5 \text{ g} \cdot \text{m}^{-3}$ CNTP, la dégradation du bitertanol est quasiment complète après 45 minutes. En effet, pour des concentrations en ozone de 45 et $22,5 \text{ g} \cdot \text{m}^{-3}$ CNTP, les taux de dégradation du bitertanol ont été respectivement de $98,7$ et $91,5 \%$ après 45 minutes de traitement. Ce taux de dégradation est même de $99,4 \%$ après 25 minutes pour une concentration en ozone dans le gaz entrant de $90 \text{ g} \cdot \text{m}^{-3}$. Cette figure confirme que plus la concentration en ozone dans le gaz a été importante, plus la cinétique a été rapide.

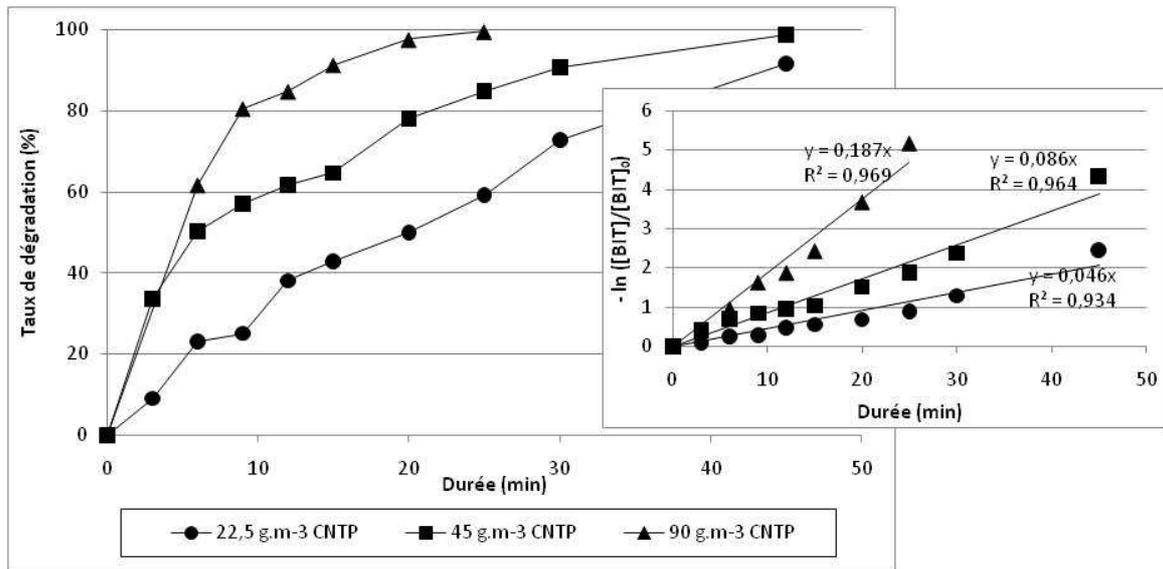


Figure IV-11 : Evolution de la dégradation du bitertanol dans une solution d'enrobage Gaucho Blé® diluée pour trois concentrations en ozone différentes dans le gaz entrant: 90 g.m⁻³ CNTP (triangle), 45 g.m⁻³ CNTP (carré), 22,5 g.m⁻³ CNTP (cercle). L'encadré montre la transformation linéaire de ln ([BIT]/[BIT]₀) en fonction du temps pour les trois concentrations.

L'encadré de la Figure IV-11 présente la variation de $\ln ([BIT]/[BIT]_0)$ par rapport à la durée de traitement. Les différentes droites obtenues ont des coefficients de détermination supérieurs à 93,4 %. Cela a permis, dans un premier temps, de confirmer que la cinétique d'ozonation du bitertanol restait d'ordre 1, quelque soit la concentration en ozone dans le gaz. Les constantes cinétiques ont été calculées comme les pentes des courbes. Ainsi, ces constantes ont été de 0,046 ; 0,086 et 0,187 min⁻¹ pour des concentrations respectives de 22,5 ; 45 et 90 g.m⁻³ CNTP. Comme lors de l'ozonation de l'imidaclopride dans la solution d'enrobage, les constantes cinétiques sont proportionnelles aux concentrations en ozone. En effet, pour une concentration en ozone dans le gaz entrant doublée, la constante cinétique d'ordre 1 a également été doublée. Par conséquent, la cinétique de dégradation du bitertanol est également d'ordre 1 par rapport à l'ozone.

La vitesse de dégradation du bitertanol peut alors s'écrire :

$$v = k_{1,BIT} \cdot [BIT]$$

avec :

$$k_{1,BIT} = k_{2,BIT} \cdot [O_3]_i$$

- $k_{1,BIT}$: constante cinétique de la réaction de pseudo-ordre 1 entre l'ozone et le bitertanol (s^{-1}),
 $k_{2,BIT}$: constante cinétique de la réaction d'ordre 2 d'ozonation du bitertanol ($M^{-1}.s^{-1}$),
 $[O_3]_l$: concentration en ozone dans la phase liquide ($mg.L^{-1}$).

Pour une solution de Gaucho Blé[®] diluée ozonée à une concentration en ozone de 90 g.m^{-3} CNTP dans le gaz entrant, la constante $k_{1,BIT}$ calculée a été de $0,187 \text{ min}^{-1}$, soit $3,12.10^{-3} \text{ s}^{-1}$, et la concentration en ozone à l'équilibre a été de 32 mg.L^{-1} , soit $0,67 \text{ mM}$. La constante cinétique $k_{2,BIT}$ de la réaction d'ozonation du bitertanol a donc été de $4,65 \text{ M}^{-1}.s^{-1}$.

La détermination des constantes cinétiques des réactions d'ordre 2 d'ozonation de l'imidaclopride et du bitertanol a ensuite permis d'identifier les régimes de chacune des réactions, par l'intermédiaire du critère de Hatta.

IV.2.4. Identification des régimes réactionnels

Le calcul du critère adimensionnel de Hatta, défini dans le paragraphe I.3.2.1, a permis de connaître le régime réactionnel. La formule du critère de Hatta est rappelée ici :

$$Ha = \frac{\sqrt{k_2 \cdot [P] \cdot D_{O_3-eau}}}{k_L}$$

avec:

- D_{O_3-eau} : coefficient de diffusion de l'ozone dans l'eau ($m^2.s^{-1}$),
 k_2 : constante de vitesse de la réaction ($M^{-1}.s^{-1}$),
 $[P]$: concentration du composé P ($mol.L^{-1}$),
 k_L : coefficient de transfert de matière côté liquide ($m.s^{-1}$).

Le coefficient de transfert de matière côté liquide est généralement admis de l'ordre de $2.10^{-4} \text{ m.s}^{-1}$, pour les réacteurs agités [Charpentier, 1981].

Dans le réacteur agité semi-continu, la concentration en pesticides a diminué au cours de l'ozonation. Par conséquent, pour le calcul du critère de Hatta, la valeur prise pour la concentration de P a été, dans un premier temps, la concentration initiale de P dans la solution.

Le Tableau IV-1 résume les valeurs des critères de Hatta pour les deux produits phytosanitaires étudiés.

Tableau IV-1 : Calcul des valeurs du critère de Hatta pour l'ozonation de l'imidaclopride et du bitertanol.

Composé P	Concentration initiale [P] ₀ (mol.L ⁻¹)	k ₂ (M ⁻¹ .s ⁻¹)	Ha
Imidaclopride	1,53.10 ⁻⁴	3,21	4,62.10 ⁻³
Bitertanol	2,49.10 ⁻⁵	4,65	2,24.10 ⁻³

Les valeurs calculées pour le critère de Hatta ont été très faibles (Ha < 0,3). Il est important de signaler que les valeurs du critère de Hatta sont généralement calculées à partir des constantes cinétiques des réactions homogènes entre une solution aqueuse d'ozone et une solution aqueuse du composé à étudier, afin de limiter le transfert de l'ozone. Ainsi, les valeurs obtenues ont été des approximations et ont donc été plus faibles que les valeurs qui auraient été mesurées pour les réactions homogènes. Néanmoins, les valeurs du critère de Hatta mesurées ici ont été très faibles, on peut donc supposer que les valeurs du critère de Hatta obtenues à partir des constantes cinétiques des réactions homogènes auraient été aussi inférieures à 0,3. Par conséquent, bien qu'il soit généralement admis que la réaction est contrôlée au tout début par le transfert, les valeurs du critère de Hatta calculées montrent que le procédé a ensuite été contrôlé par la réaction chimique : cette information est validée également par le fait que la concentration en ozone dans la phase aqueuse et en sortie de réacteur ont augmenté pendant le traitement (Figure IV-12). Ainsi, aucune réaction n'a eu lieu dans le film liquide mais uniquement dans la phase liquide.

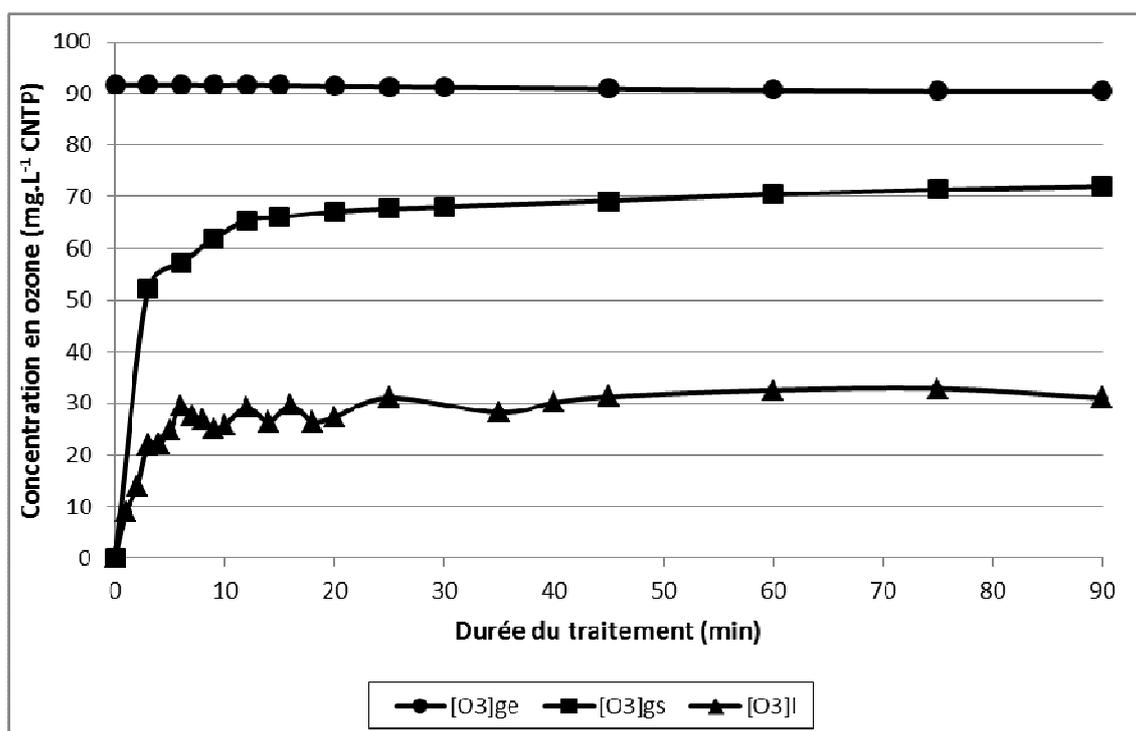


Figure IV-12: Evolution de la concentration en ozone en entrée (rond), en sortie (carré) de réacteur et dans la phase liquide (triangle) lors de l'ozonation d'une solution de Gaucho Blé[®] diluée avec une concentration en ozone dans le gaz entrant fixée à 90 g.m⁻³ CNTP.

Les cinétiques des deux produits phytosanitaires ont désormais clairement été définies, il est donc apparu important de s'intéresser désormais aux produits de dégradation qui ont pu se former au cours de l'ozonation des deux composés.

IV.3. IDENTIFICATION DES PRODUITS DE DEGRADATION

Les produits de dégradation issus de l'ozonation des produits phytosanitaires ont été collectés par un système de collecte de fractions intégré au système HPLC. Les différents produits collectés ont ensuite été analysés par chromatographie liquide haute performance couplée à un détecteur spectromètre de masse piège à ions utilisant un mode d'ionisation électrospray en mode positif ESI(+) afin d'identifier la structure de certains de ces produits de dégradation. Le spectre de masse MS a permis d'obtenir un pic majoritaire pour le rapport masse sur charge (m/z) de l'ion moléculaire protoné (aussi appelé ion précurseur) $[M + H]^+$.

Pour certains composés, des standards commerciaux ont été disponibles et l'identification a été menée en comparant leur temps de rétention en HPLC, leur spectre UV et les spectres MS à différents niveaux. Lorsque les standards n'ont pas été disponibles, l'identification des produits de dégradation a été effectuée par l'interprétation des spectres de masse.

IV.3.1. Produits de dégradation de l'imidaclopride

Les spectres de masse MS des différents produits collectés ont tous montré la présence d'un massif isotopique avec deux ions majoritaires pour l'espèce moléculaire (ions $[M + H]^+$), séparés par deux unités m/z. Les abondances relatives mesurées ont été approximativement de 100:35, ce qui est caractéristique d'une molécule monochlorée. Compte tenu de la composition chimique de l'imidaclopride, cette information a indiqué qu'un atome de chlore était présent dans toutes les structures de molécules et que l'attaque de l'ozone sur l'imidaclopride n'a pas affecté cet atome.

Tous les produits de dégradation ont été analysés en utilisant une séquence d'expériences de spectrométrie de masse (MS) et de spectrométrie de masse en tandem (MS/MS) dans le piège à ions. Toutes les valeurs des rapports m/z observées pour les ions précurseurs et fragments des différents composés sont résumées dans le Tableau IV-2.

Tableau IV-2 : Ions précurseurs et ions fragments avec leurs abondances relatives (A, %) en MS, MS² et MS³ pour les produits de dégradation de l'imidaclopride. n.d. : non déterminé.

Composé	MS	MS ²		MS ³	
	m/z $[M + H]^+$	m/z (A,%)	Perte neutre	m/z (A,%)	Perte neutre
DP1	231	→ 169 (100)	n.d.→	151 (100)	n.d.
DP2	142	→ 124 (100) [-H ₂ O]			

DP3	230	→ 186 (100) [-N ₂ O]→ 184 (11) [-NO ₂] 148 (8) [-NO ₂ , -HCl]	169 (100) [-NH ₃]
DP4	288	→ 244 (100) [-N ₂ O]→ 242 (11) [-NO ₂] 207 (11) [-NO ₂ , -Cl] 206 (27) [-NO ₂ , -HCl]	226 (54) [-H ₂ O] 208 (22) [-2 H ₂ O] 186 (14) [-C ₂ H ₂ O ₂] 169 (100) [-C ₂ H ₂ O ₂ , -NH ₃] 144 (38) [-C ₃ H ₄ O ₂ N ₂]
DP5	158	→ 140 (100) [-H ₂ O]	
DP6	209	→ 173 (100) [-HCl] 126 (22)	
DP7	272	→ 228 (100) [-N ₂ O]→ 226 (49) [-NO ₂] 191 (22) [-NO ₂ , -Cl] 190 (50) [-NO ₂ , -HCl]	210 (77) [-H ₂ O] 169 (24) [-C ₂ H ₂ O, -NH ₃] 144 (100) [-C ₃ H ₄ ON ₂] 126 (12) [-C ₃ H ₄ ON ₂ , -H ₂ O]
DP8	240	→ 169 (100) [-C ₂ HO ₂ N] 126 (13) [-C ₃ H ₂ O ₃ N ₂]	
DP9	270	→ 226 (100) [-N ₂ O]→ 224 (8) [-NO ₂] 189 (7) [-NO ₂ , -Cl]	208 (14) [-H ₂ O] 126 (100) [-C ₃ H ₃ N ₂ O ₂] 113 (33) [-Cl(C ₃ H ₄ N)]
DP10	270	→ 226 (15) [-N ₂ O] 224 (4) [-NO ₂] 223 (100) [-HNO ₂]→	140 (100) [-C ₃ H ₆ N ₂ O]

DP11	286	→ 268 (46) [-H ₂ O]	224 (18) [-H ₂ O]
		242 (100) [-N ₂ O] →	199 (13) [-HNCO]
		240 (12) [-NO ₂]	169 (100) [-C ₂ H ₃ O ₂ N]
		239 (13) [-HNO ₂]	126 (27) [-C ₃ H ₄ O ₃ N ₂]
IMI	256	→ 212 (34) [-N ₂ O]	175 (100) [-Cl]
		210 (100) [-NO ₂] →	
		209 (23) [-HNO ₂]	
		175 (21) [-NO ₂ , -Cl]	
DP12	270	→ 226 (100) [-N ₂ O] →	208 (10) [-H ₂ O]
			190 (9) [-HCl]
			169 (10) [-C ₂ H ₃ NO]
			126 (100) [-C ₃ H ₃ N ₂ O ₂]
			114 (57) [-Cl(C ₅ H ₄ N), +H]
			113 (44) [-Cl(C ₅ H ₄ N)]
DP13	143	→ 126 (100) [-NH ₃]	

Le pic collecté au temps de rétention de 13,2 minutes et supposé être l'imidaclopride a été analysé en premier et comparé avec le standard d'imidaclopride. Pour les deux composés, les données obtenues par spectrométrie de masse ont été identiques. Un rapport m/z principal a été obtenu à m/z 256. L'excitation collisionnelle de l'ion à m/z 256 a abouti à différents ions fragments à m/z 212, m/z 210, m/z 209, m/z 175, correspondant à des pertes de 44, 46, 47 et 81 unités de masse par rapport à l'ion précurseur). Les ions fragments à m/z 210 et m/z 209 se sont formés respectivement suite à la perte de radical NO₂ et d'acide nitreux HNO₂ sur l'ion précurseur. La formation de l'ion à m/z 212 a déjà été évoquée dans la littérature [Blasco *et al.*, 2002 ; Liu *et al.*, 2010] mais aucun mécanisme n'a été proposé. Cependant, Blasco et ses collaborateurs ont attribué cette perte à de l'oxyde nitreux N₂O. Selon la structure de

l'imidaclopride, un réarrangement de l'ion en dérivé urée est ici suggéré. Un schéma de fragmentation du groupe nitroguanidine de l'imidaclopride est proposé sur la Figure IV-13. Dans ce qui suit, les pertes de 44, 46 et 47 unités de masse sur l'ion précurseur de l'imidaclopride et des produits de dégradation ont été supposées venir de la fragmentation du groupe nitroguanidine et ont donc été considérées comme des indicateurs de la présence du groupe nitroguanidine dans l'ion précurseur.

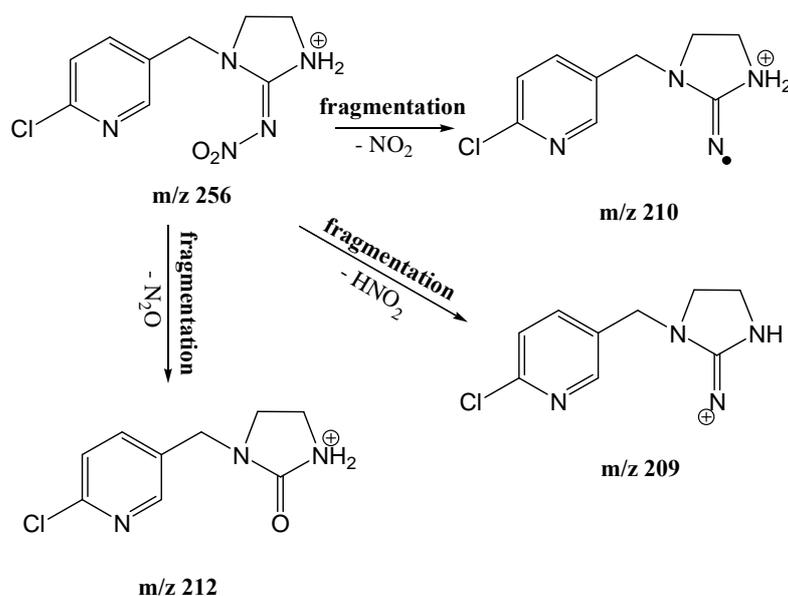


Figure IV-13 : Proposition de voies de fragmentation de l'ion précurseur de l'imidaclopride en différents ions de rapport m/z 212, m/z 210 et m/z 209.

Une différence de 35 unités de masse entre les ions fragments à m/z 210 et m/z 175 a indiqué une perte de radical chlore ³⁵Cl sur le noyau pyridine. Cette information a été confirmée par l'analyse du spectre MS³ de l'ion fragment à m/z 210, montrant un ion fragment à m/z 175 dont la structure est proposée dans la Figure IV-14.

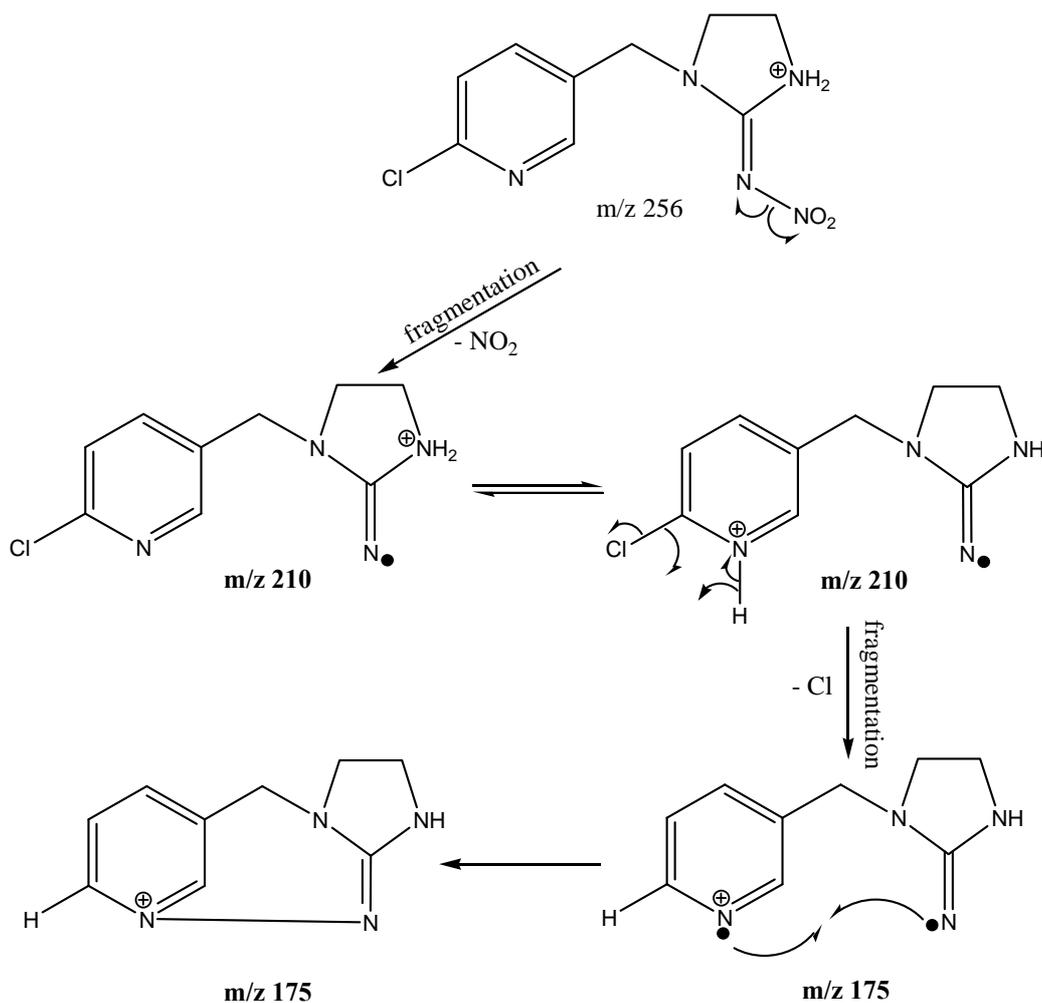


Figure IV-14: Proposition de voies de fragmentation de l'ion moléculaire de l'imidaclopride à m/z 256 en fragments à m/z 210 et m/z 175.

Le spectre de masse ESI(+) du produit **DP1** montre un ion $[M + H]^+$ à m/z 231. La sélection de masse et la fragmentation de l'ion à m/z 231 a conduit à un ion produit majoritaire à m/z 169. Selon la règle de l'azote, le changement de parité par rapport à l'imidaclopride a indiqué un changement dans le nombre d'atomes d'azote dans la molécule, probablement par l'oxydation du groupe nitroguanidine. Cette supposition a été confirmée par l'absence d'ions fragments pour les rapports m/z correspondants à $[DP1 + H - 44]^+$, $[DP1 + H - 46]^+$ et $[DP1 + H - 47]^+$. Cependant, les données obtenues par spectrométrie de masse n'ont pas été suffisante pour identifier ce produit de dégradation.

L'ion $[M + H]^+$ de **DP2** a été détecté à m/z 142. Les données obtenues pour ce produit ont été comparées à celles du 6-chloronicotinaldéhyde (Figure IV-15). Ces deux produits ont présenté des temps de rétention HPLC, des spectres UV similaires. Les deux composés ont également présenté une fragmentation de l'ion précurseur à m/z 142 en ion fragment à m/z 124, correspondant à l'élimination de H_2O . **DP2** a donc été identifié comme étant le 6-chloronicotinaldéhyde.

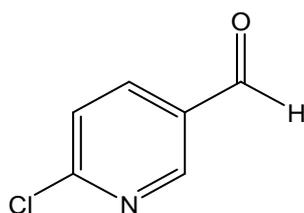


Figure IV-15 : Structure du 6-chloronicotinaldéhyde **DP2**.

L'analyse du produit **DP3** par ESI(+)-MS a permis de détecter un ion $[M + H]^+$ à m/z 230, correspondant au produit formé par l'ouverture du cycle imidazolidine. La structure de ce produit est proposée sur la Figure IV-16.

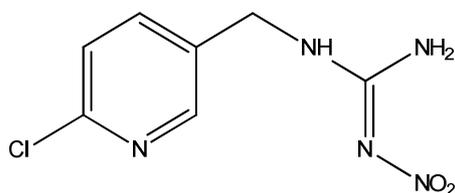


Figure IV-16 : Structure proposée pour le produit **DP3**.

Les expériences de spectrométrie de masse en tandem sur l'ion à m/z 230 ont conduit à la formation d'ions fragments à m/z 186, m/z 184 et m/z 148, correspondant à la perte de N_2O , NO_2 et $NO_2 + HCl$, respectivement. La sélection de masse et la dissociation induite par collision appliquée à l'ion à m/z 186 pour une analyse MS^3 a conduit à un ion produit principal à m/z 169, suite au départ de NH_3 . La structure des ions fragments et la voie de fragmentation de **DP3** sont proposées sur la Figure IV-17.

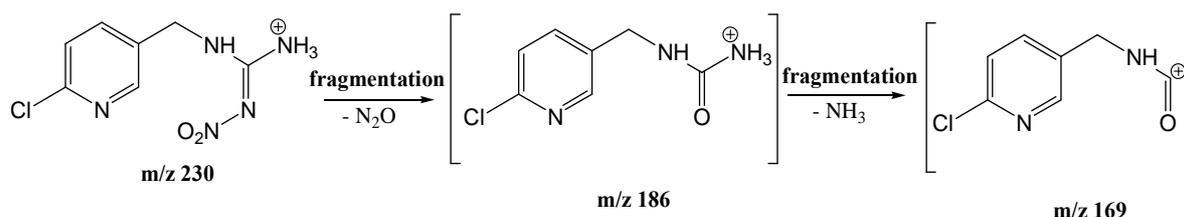


Figure IV-17 : Voie de fragmentation proposée pour le produit **DP3**.

Le spectre de masse MS du produit **DP4** a montré un pic majoritaire $[M + H]^+$ à m/z 288, qui pourrait être attribué à la forme dihydroxylée de l'imidaclopride. Trois structures du produit **DP4**, pouvant correspondre aux produits dihydroxylés, ont été proposées (Figure IV-18).

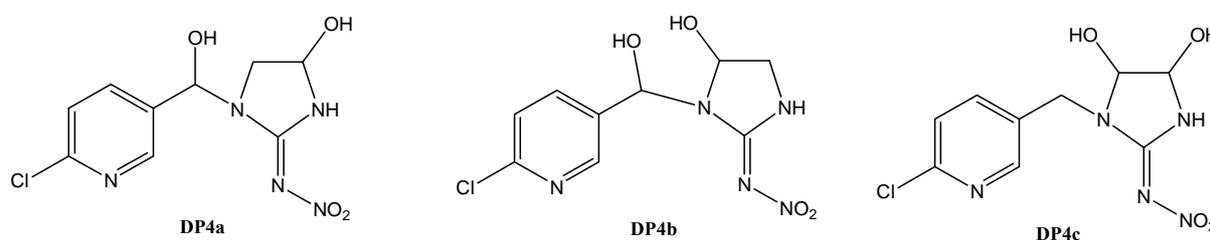


Figure IV-18 : Structures proposées pour le produit de dégradation **DP4**.

La spectrométrie de masse en tandem sur l'ion précurseur a montré une fragmentation menant aux ions de rapport m/z 244 ($[\text{DP4} + \text{H} - \text{N}_2\text{O}]^+$) et m/z 242 ($[\text{DP4} + \text{H} - \text{NO}_2]^+$), correspondant probablement à la fragmentation de la fonction nitroguanidine, et aux ions de rapport m/z 207 et m/z 206, associés à la perte consécutive de NO_2 et de chlore (Tableau IV-3). La fragmentation de l'ion à m/z 244 ($[\text{DP4} + \text{H} - \text{N}_2\text{O}]^+$) a aussi conduit à des ions fragments à m/z 226 ($[\text{DP4} + \text{H} - \text{N}_2\text{O} - \text{H}_2\text{O}]^+$) et à m/z 208 ($[\text{DP4} + \text{H} - \text{N}_2\text{O} - 2 \text{H}_2\text{O}]^+$) (Figure IV-19). Pour cet ion à m/z 208, la possible formation de l'ion $[\text{DP4} + \text{H} - \text{N}_2\text{O} - \text{HCl}]^+$ a été éliminée car les analyses similaires en MS^3 sur l'ion isotopique ^{37}Cl à m/z 290 ont abouti à un ion fragment à m/z 210, indiquant que l'atome de chlore était encore présent sur l'ion fragment. Un ion fragment à m/z 144 a également été observé sur le spectre de masse MS^3 de **DP4**, indiquant que l'imidaclopride a été hydroxylé sur la fonction alkyle en dehors du cycle imidazolidine. La sélection et la fragmentation de l'ion fragment principal à m/z 244 ont conduit aux ions fragments de rapport m/z 186 et m/z 169 -déjà discutés pour le produit **DP3** : ces fragments semblent être préférentiellement formés lors de la fragmentation de

DP4c (Figure IV-19). Les données collectées montrent que le pic collecté pour **DP4** correspondrait à un mélange de trois isomères co-élus **DP4a**, **DP4b** et **DP4c**.

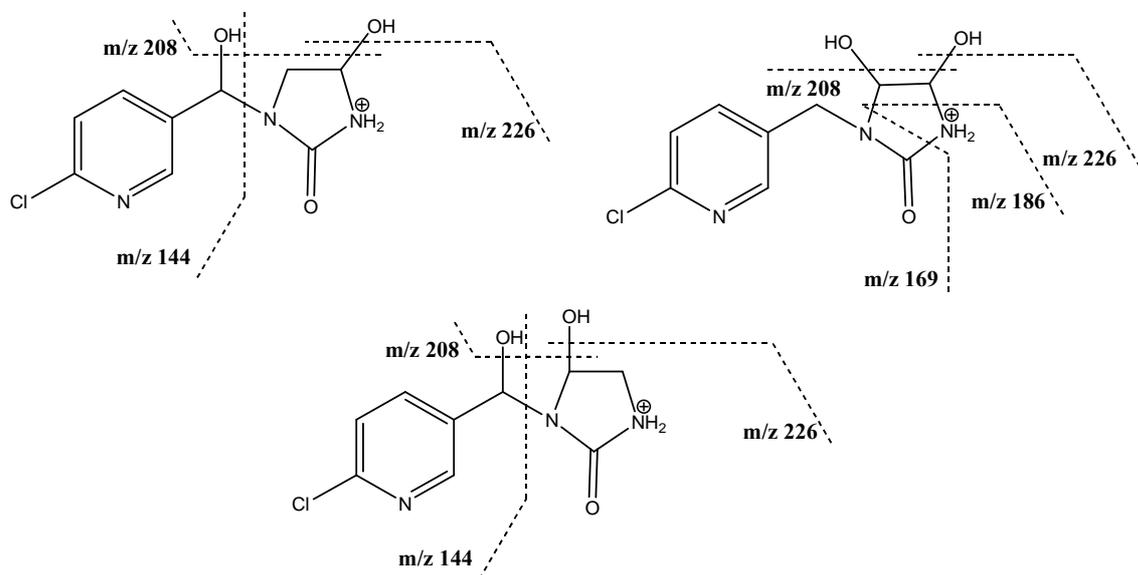


Figure IV-19 : Voies de fragmentations proposées pour les ions à m/z 244 formés à partir des ions parents à m/z 288 de $[\text{DP4a} + \text{H}]^+$ (à gauche), $[\text{DP4b} + \text{H}]^+$ (au centre) et $[\text{DP4c} + \text{H}]^+$ (à droite).

Afin de confirmer la formation des 3 isomères de l'imidaclopride dihydroxylée, il aurait pu être envisagé d'ozoner le dérivé deutéré de l'imidaclopride (IMI-4d, Figure IV-20). Une analyse par spectrométrie de masse de l'échantillon aurait permis de mettre en évidence ou non la formation d'ions moléculaires à m/z 290 et/ou m/z 291. La présence d'ions moléculaires à m/z 290 aurait laissé supposer que le composé a été dihydroxylé sur le cycle imidazolidine tandis que l'ion moléculaire à m/z 291 aurait laissé penser que l'hydroxylation ait eu lieu à la fois sur le cycle imidazolidine et en dehors du cycle (Figure IV-20). Par conséquent, cette expérience aurait été pertinente afin de déterminer la position hydroxylée au cours de l'ozonation et valider ou non la présence des 3 isomères dans la fraction collecté **DP4**.

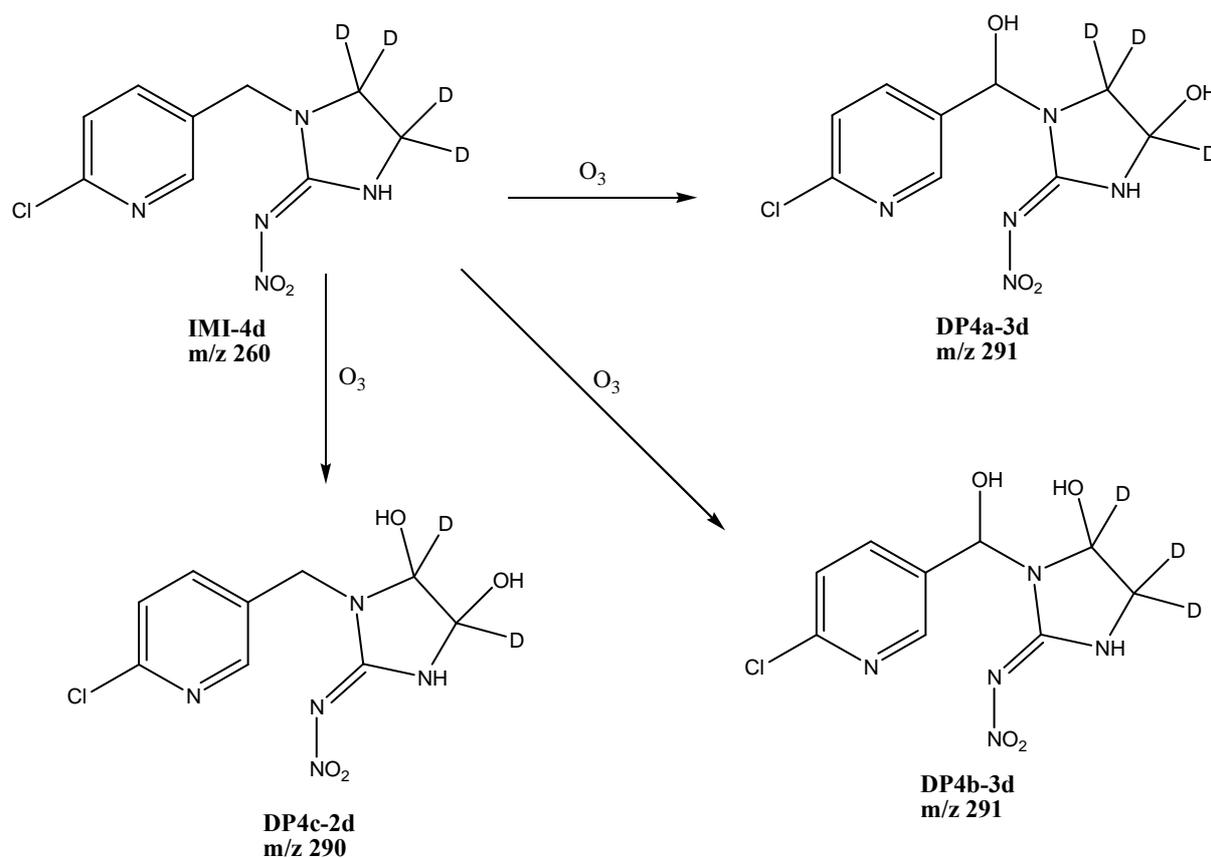


Figure IV-20: Formation de dérivés dihydroxylés deutérés **DP4a-3d**, **DP4b-3d** et **DP4c-2d** par ozonation de l'imidaclopride deutéré.

L'analyse par ESI(+)-MS de **DP5** a conduit à un ion $[M + H]^+$ dont le rapport m/z a été de 158, équivalent à celui de l'acide 6-chloronicotinique (Figure IV-21).

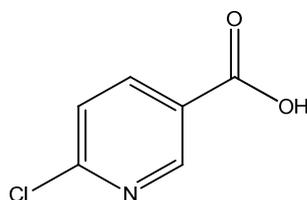


Figure IV-21 : Structure de l'acide 6-chloronicotinique **DP5**.

Le pic collecté et le standard commercial de l'acide 6-chloronicotinique ont montré des temps de rétention HPLC, des spectres UV et MS similaires. En effet, la fragmentation de chacun des ions précurseurs à m/z 158 a donné un ion fragment à m/z 140, correspondant à

une perte de H₂O (Figure IV-22). Par conséquent, le produit **DP5** a été considéré comme étant l'acide 6-chloronicotinique.

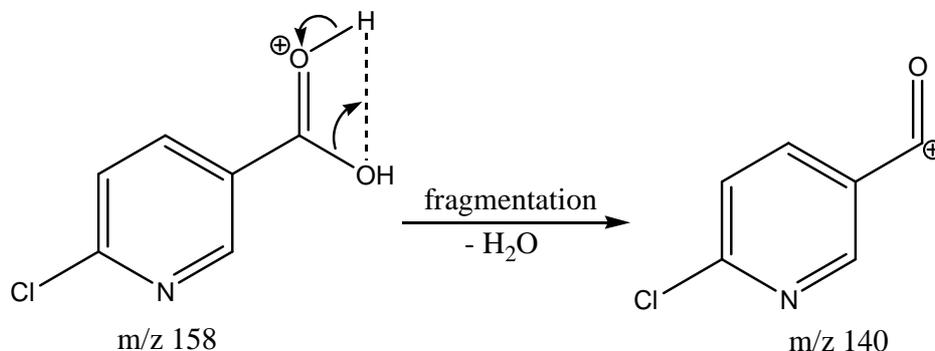


Figure IV-22: Fragmentation de l'ion $[\mathbf{DP5} + \mathbf{H}]^+$ en ion de rapport m/z 140 $[\mathbf{DP5} + \mathbf{H}-18]^+$.

Le spectre de masse MS de **DP6** a montré un ion majoritaire $[\mathbf{DP6} + \mathbf{H}]^+$ à m/z 209. Comme pour tous les autres composés, le modèle isotopique caractéristique des composés monochlorés a été observé, confirmant la présence du pic isotopique ³⁷Cl à m/z 211. L'ion à m/z 209 a été isolé et fragmenté dans le piège à ions. Les ions fragments à m/z 173 et m/z 126 ont été largement prédominant sur le spectre MS². Le changement de parité pour le rapport m/z de l'ion précurseur a indiqué un changement du nombre d'atomes d'azote dans la molécule, probablement *via* une oxydation de la fonction nitroguanidine. De plus, aucune perte de 44, 46 ou 47 unités de masse pour l'ion précurseur n'a été observée, confirmant que le groupe nitroguanidine a probablement été modifié. L'ion fragment à m/z 173 a probablement résulté de l'élimination de HCl sur l'ion parent à m/z 209, tandis que l'ion fragment à m/z 126 pourrait certainement correspondre à la structure présentée sur la Figure IV-23. A partir de ces données, on peut en déduire que la fonction chloro-pyridylmethyl de l'imidacloprid est restée inchangée sur **DP6**, tandis que la structure N-nitro-imidazolidine-2-ylidenamine a probablement subi la perte de la fonction nitro pour donner la structure de type imidazoline-2-ylidenamine. Cependant, ces informations n'ont pas été suffisantes pour valider l'identification de **DP6**.

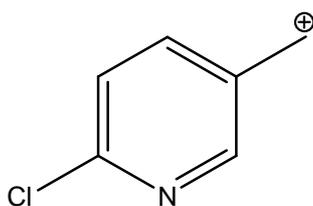


Figure IV-23 : Structure de l'ion fragment à m/z 126.

L'analyse de **DP7** par ESI(+)-MS a permis de mettre en évidence un ion à m/z 272 [$M + H$]⁺. Cet ion pourrait correspondre aux composés formés par hydroxylation de l'imidaclopride. Néanmoins, trois produits ont pu être formés (**DP7a**, **DP7b** et **DP7c**, voir Figure IV-24)

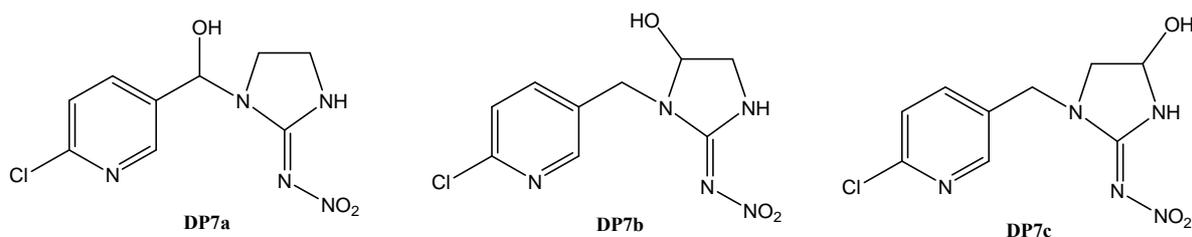


Figure IV-24 : Structures proposées pour le produit de dégradation **DP7**.

Les expériences MS/MS réalisées sur l'ion à m/z 272 ont conduit à des ions fragments à m/z 228 et m/z 226 (par perte de N_2O et NO_2 , respectivement), et à m/z 191 et m/z 190, qui pourrait être attribués à la perte consécutive sur l'ion à m/z 226 de radical chlore et de HCl, respectivement. La sélection de l'ion à 228, suivie de sa fragmentation, a principalement conduit à un ion à m/z 210, par la perte de H_2O , et à l'ion à m/z 144, déjà observé dans le spectre MS^3 de l'imidaclopride dihydroxylé **DP4** (Figure IV-25). La présence de cet ion fragment a indiqué que l'imidaclopride a probablement été hydroxylé sur le groupe alkyle en dehors du cycle imidazolidine (**DP7a**). Cependant, la formation d'ions fragments à m/z 169 et m/z 126 a montré que l'hydroxylation a certainement eu lieu préférentiellement sur le cycle imidazolidine (**DP7b** et **DP7c**). Les données obtenues grâce aux spectres de masse n'ont pas permis de montrer que la réaction d'hydroxylation de l'imidaclopride est régiosélective. Par conséquent, la structure du composé monohydroxylé **DP7** a été proposée selon les 3 formes évoquées précédemment. Ainsi, comme pour les produits dihydroxylés **DP4**, il aurait été

intéressant d'ozoner le dérivé deutéré de l'imidaclopride afin de déterminer si l'hydroxylation a lieu ou non sur le cycle imidazolidine.

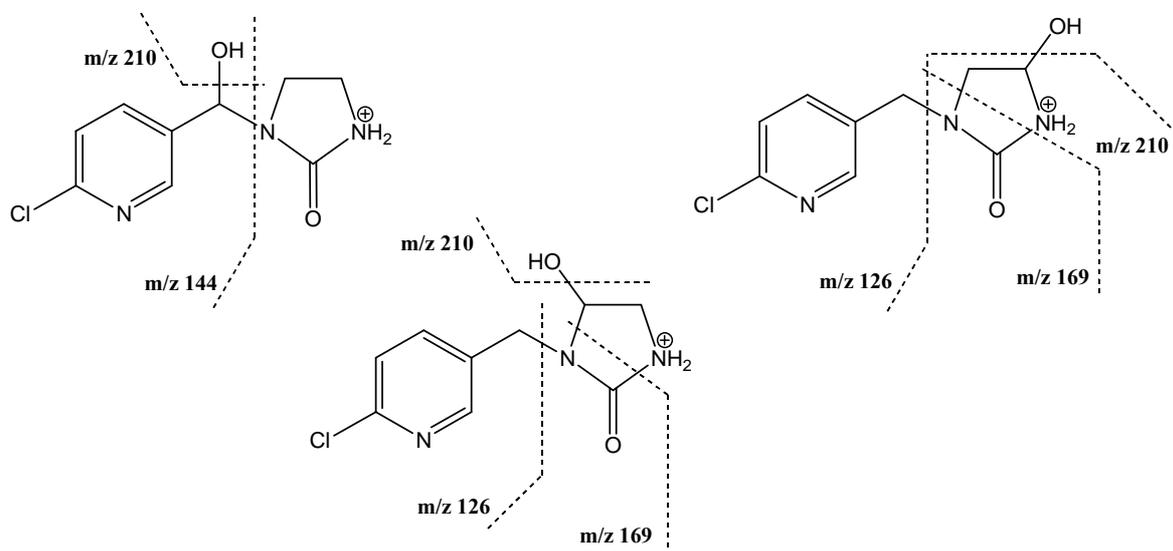


Figure IV-25 : Voies de fragmentations proposées pour les ions à m/z 228 formés à partir des ions parents à m/z 272 de $[DP7a + H]^+$ (à gauche), $[DP7b + H]^+$ (au centre) et $[DP7c + H]^+$ (à droite).

Le spectre de masse de **DP8** a montré un ion fragment $[M + H]^+$ à m/z 240. Après sélection et fragmentation par spectrométrie de masse en tandem, les ions fragments majoritaires ont été observés à m/z 169 et m/z 126 dans le spectre MS^2 résultant. Comme pour certains produits tel que **DP6**, il est important de constater que ce spectre MS^2 n'a pas montré d'ions correspondant à la perte de 44, 46 et 47 unités de masse sur l'ion précurseur, indiquant que la fonction nitroguanidine a probablement été oxydée. La présence de l'ion à m/z 126 a indiqué que le groupement chloro-pyridylméthyl n'a pas été modifié tandis que l'ion à m/z 169 a laissé supposer qu'au moins un groupement carbonyle était présent sur le cycle imidazolidine du composé étudié. Une sélection supplémentaire de l'ion à m/z 169 et une excitation de cet ion n'a donné aucune fragmentation significative. D'après les données spectrales obtenues, un composé avec une fonction de type imidazolidine-2,4,5-trione a pu être proposée comme une possible structure de **DP8** (Figure IV-26).

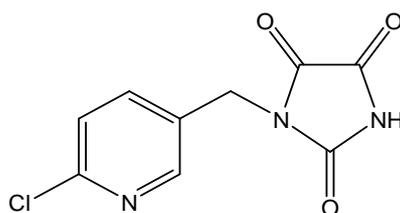


Figure IV-26 : Structure proposée du produit **DP8**.

Les pics collectés **DP9**, **DP10** et **DP12** ont aussi été analysés par ESI(+)-MS. Tous trois ont présenté un ion précurseur $[M + H]^+$ à m/z 270 (Tableau IV-2), qui pourrait correspondre aux formes carbonylées de l'imidaclopride. La sélection et la fragmentation ultérieure de l'ion à m/z 270 ont donné des ions fragments à m/z 226, m/z 224 et/ou m/z 223, probablement associés à la fragmentation du groupe nitroguanidine (par perte de N_2O , NO_2 et HNO_2 , respectivement). Ces informations obtenues à partir des spectres MS^2 n'ont pas été suffisantes pour déterminer la position du groupe carbonyle sur chaque molécule. Par conséquent, les analyses par ESI(+)-MS ont été menées sur les ions fragments majoritaires obtenus à partir des trois produits d'oxydation. La sélection et la dissociation induite par collision de l'ion à m/z 226 du produit **DP9** ont donné un spectre de masse avec un fragment majoritaire à m/z 126 et un fragment à m/z 113 (Tableau IV-2). La présence de l'ion fragment à m/z 113 a pu être expliquée par la perte du groupe pyridine, conduisant à une des structures présentées sur la Figure IV-27. Néanmoins, cet ion fragment à m/z 113 n'a toujours pas permis de déterminer la position du groupe carbonyle sur la molécule.

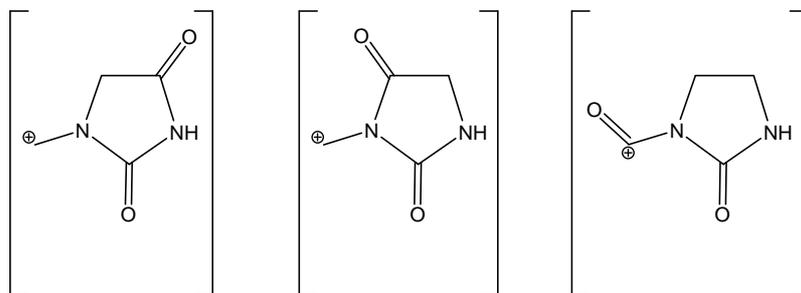


Figure IV-27 : Proposition de structures des fragments à m/z 113.

Cependant, cette information a pu être fournie par la présence ou non d'ions fragments plus spécifiques à m/z 126, m/z 140 et m/z 169 (Figure IV-28).

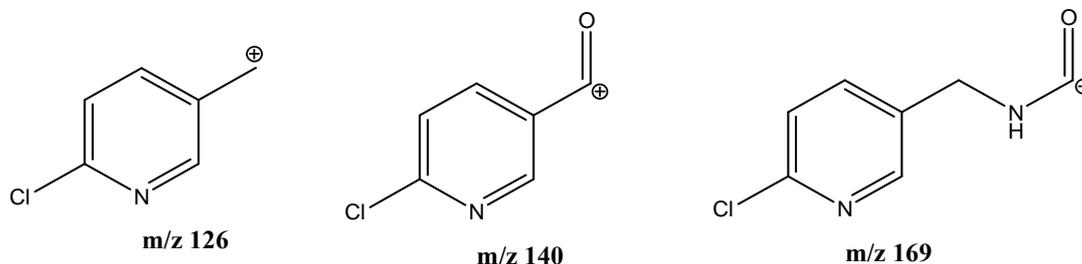


Figure IV-28 : Fragments à m/z 126, m/z 140 et m/z 169 des produits de dégradation **DP9**, **DP10** et **DP12**.

En effet, la présence de l'ion fragment à m/z 140 sur le spectre MS^3 indiquerait que la carbonylation a certainement eu lieu sur la fonction alkyle en dehors du cycle imidazolidine. A l'inverse, la présence de l'ion à m/z 126 couplée à l'absence de l'ion à m/z 140 sur le spectre MS^3 indiqueraient que la fonction carbonyle est présente sur le cycle imidazolidine. Cela a notamment été le cas pour le produit **DP 9**. En revanche, le spectre MS^3 de **DP10** a présenté un ion fragment majoritaire à m/z 140, indiquant que le groupe carbonyle est probablement situé en dehors du cycle imidazolidine. Enfin, le spectre MS^3 de **DP12** a montré trois pics majoritaires à m/z 169, m/z 126 et m/z 113. Le pic à m/z 126 a indiqué que la fonction carbonyle était située sur le cycle imidazolidine. De plus, la présence de l'ion fragment à m/z 169 (Figure IV-28) – absent sur les spectres MS^3 de **DP9** et **DP10** – a été indicatrice d'une carbonylation en position 5 sur le cycle imidazolidine (Figure IV-29). Par conséquent, l'absence de l'ion fragment à m/z 169 dans le spectre MS^3 de **DP9** a permis de déduire que ce composé est probablement carbonylé sur la position 4 du cycle imidazolidine. Suite à ces informations, les structures proposées de **DP9**, **DP10** et **DP12** ont été présentées sur la Figure IV-29.

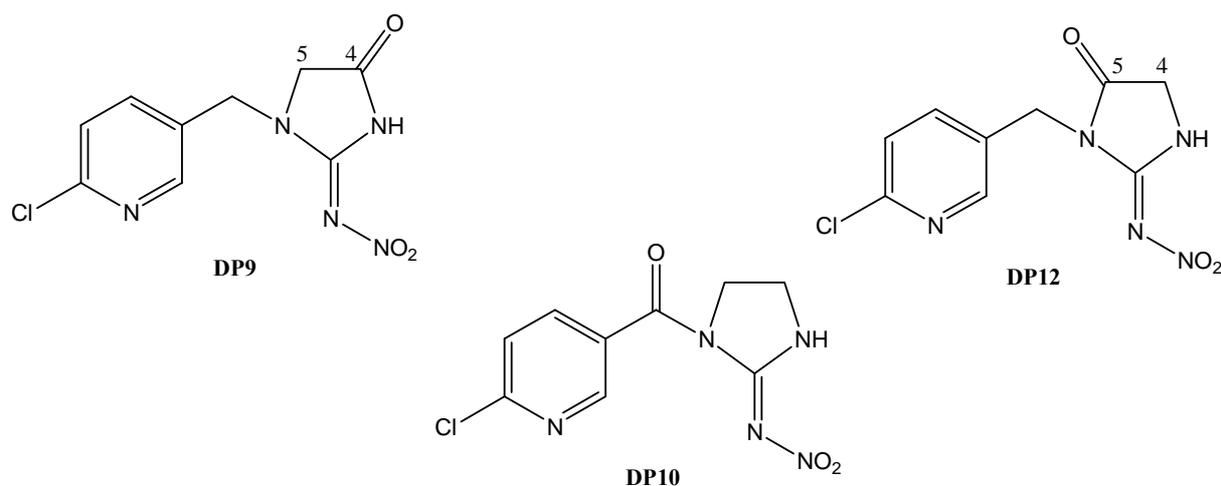


Figure IV-29 : Structures proposées pour les produits **DP9**, **DP10** et **DP12**.

Contrairement aux produits monohydroxylés **DP7**, les produits carbonylés ont pu être séparés par HPLC dans les conditions analytiques développées. En considérant les chromatogrammes des solutions ozonées (Figure IV-4) et en normalisant les coefficients de réponses des 3 dérivés carbonylés de l'imidaclopride, on peut conclure que les produits **DP9** et **DP12**, *i.e.* les dérivés carbonylés sur le cycle imidazolidine, ont été formés dans des proportions bien supérieures au dérivé carbonylé en dehors du cycle **DP10**.

L'analyse de **DP11** par ESI(+)-MS a montré un ion $[M + H]^+$ à m/z 286, qui pourrait correspondre à la présence d'une fonction carbonyle et hydroxyle sur l'imidaclopride. Selon la structure de l'imidaclopride, six structures différentes ont été considérées dans un premier temps (Figure IV-30).

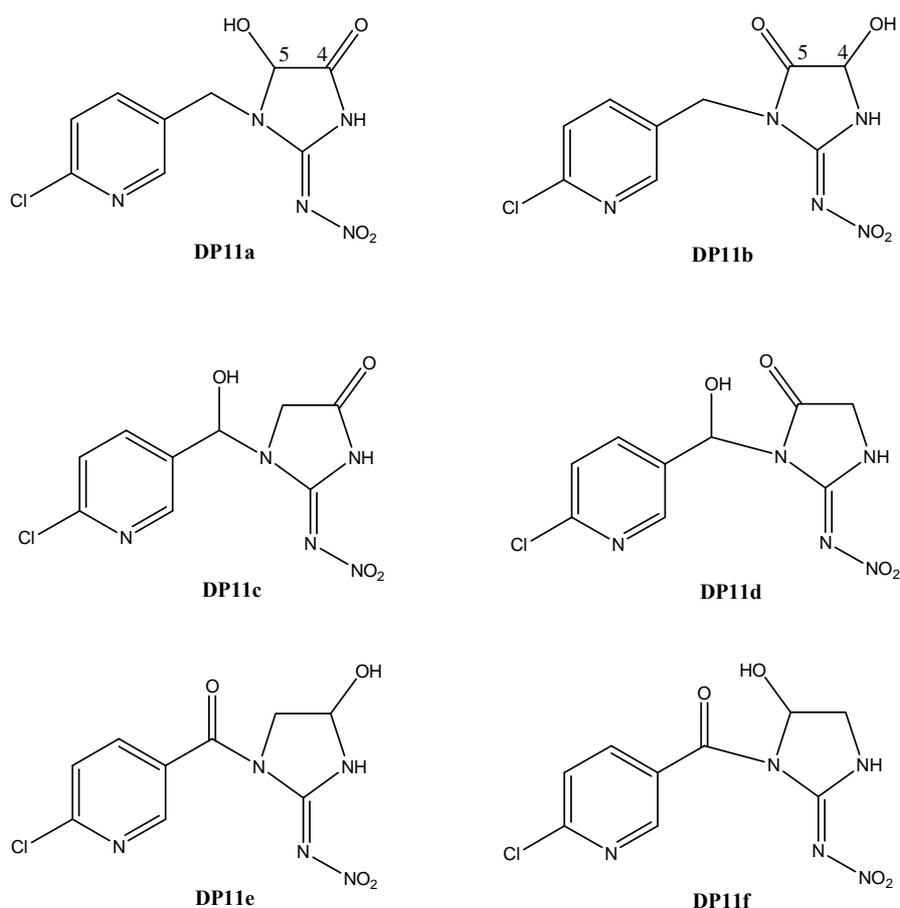


Figure IV-30 : Structures proposées du produit de dégradation **DP11**.

La dissociation induite par collision de l'ion à m/z 286 a donné des ions fragments à m/z 268, m/z 242, m/z 240 et m/z 239. L'ion fragment à m/z 268 a probablement été formé par la perte de H_2O , confirmant ainsi la présence d'un groupe hydroxyle dans la structure de DP11, tandis que les 3 autres ions fragments devraient correspondre à la fragmentation du groupe nitroguanidine, par la perte de N_2O (ion à m/z 242), de NO_2 (ion à m/z 240) et de HNO_2 (ion à m/z 239), indiquant que la fonction nitroguanidine est restée inchangée. La fragmentation MS^3 de l'ion fragment majoritaire à m/z 242 a conduit à des ions fragments à m/z 224, m/z 199, m/z 169 et m/z 126. Le premier ion fragment à m/z 242 a probablement été formé par la perte de H_2O . La présence de l'ion à m/z 126 associée à l'absence des ions à m/z 144 et m/z 140 ont indiqué que la fonctionnalisation de l'imidaclopride (hydroxylation et/ou carbonylation) n'a pas eu lieu sur le groupement méthyle de la partie chloro-pyridylméthyle mais plutôt sur les deux groupes alkyles du cycle imidazolidine. De plus, la présence du

fragment ion à m/z 169 a laissé suggérer que le groupe carbonyle est probablement situé sur la position 5 du cycle imidazolidine et qu'*a fortiori* l'hydroxylation a eu lieu sur la position 4 (**DP11b**). Néanmoins, l'ion fragment à m/z 199, présenté sur la Figure IV-31, a probablement été issu de la fragmentation d'un composé hydroxylé en position 5 et carbonylé en position 4 (**DP11a**). En conséquence, le pic collecté pour **DP11** correspondrait probablement à un mélange de deux isomères co-élusés, à savoir **DP11a** et **DP11b** (Figure IV-30).

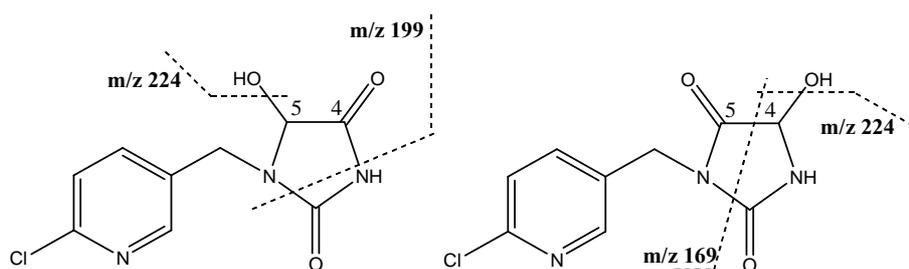


Figure IV-31 : Voies de fragmentations proposées pour les ions à m/z 242 formés à partir des ions parents à m/z 286 de $[\text{DP11a} + \text{H}]^+$ (à gauche), $[\text{DP11b} + \text{H}]^+$ (à droite).

Les paramètres utilisés pour la collecte de pics a permis d'isoler quelques pics de faibles aires mais non quantifiables, notamment le produit **DP13**, caractérisé par un très faible temps de rétention HPLC (1,4 minutes) et par un ion $[\text{M} + \text{H}]^+$ à m/z 143. La fragmentation de cet ion par spectrométrie de masse en tandem a donné un ion fragment à m/z 126. Les données spectrales et les temps de rétention HPLC de **DP13** ont correspondu à ceux du standard commercial du 5-(aminométhyl)-2-chloropyridine. Ainsi, le produit **DP13** a été identifié comme étant le 5-(aminométhyl)-2-chloropyridine (Figure IV-32).

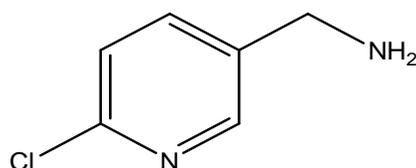


Figure IV-32 : Structure du (6-chloro-3-pyridinyl)-méthanamine **DP13**.

Les structures identifiées sont en accord avec les mécanismes réactionnels énumérés dans la synthèse bibliographique. En effet, l'imidaclopride a, sur son cycle imidazolidine, deux fonctions amines qui peuvent être oxydées par hydroxylation sur les carbones en position α des fonctions amines pour donner l'imidaclopride monohydroxylée **DP7**. La formation de l'imidaclopride monohydroxylée a été mise en évidence, à de nombreuses reprises dans la littérature, notamment lors de transformations microbiennes et métaboliques [Byrne *et al.*, 2003 ; Dai *et al.*, 2007 ; Dai *et al.*, 2006 ; Guez *et al.*, 2003 ; Kagabu *et al.*, 2004 ; Karunker *et al.*, 2009 ; Laurent et Rathahao, 2003 ; Lee Chao et Casida, 1997 ; Nauen *et al.*, 2001 ; Nauen *et al.*, 1999 ; Nauen *et al.*, 1998 ; Schmuck *et al.*, 2001 ; Schulz-Jander et Casida, 2002 ; Schulz-Jander *et al.*, 2002 ; Suchail *et al.*, 2004]. L'imidaclopride monohydroxylée a ensuite pu réagir avec l'ozone de différentes manières :

- par une seconde hydroxylation sur un autre carbone en alpha d'un atome d'azote pour former **DP4**.
- par une oxydation de la fonction alcool pour donner une fonction carbonyle et obtenir les produits oxydés **DP9**, **DP10** et **DP12**. La présence des 3 dérivés carbonylés a donc laissé supposer que l'hydroxylation de l'imidaclopride n'a probablement pas été sélective et a eu lieu sur les trois fonctions alkyles de l'imidaclopride.
- par une oxydation de la fonction alcool et une hydroxylation pour former le composé **DP11**.
- par une N-déalkylation de l'amine pour former le produit issu de l'ouverture du cycle imidazolidine **DP3**.

Les produits N-déalkylés, **DP3** et **DP13**, sont des précurseurs de l'aldéhyde **DP2** respectivement selon les mécanismes décrits par Bailey [Bailey *et al.*, 1968] et par Elmghari-Tabib [Elmghari-Tabib, 1982] (chapitre I.2.4.2.2). L'aldéhyde a ensuite pu être oxydé à son tour en acide carboxylique **DP5**. Les acides carboxyliques étant, en règle générale, difficilement dégradés par l'ozone moléculaire, il apparait donc normal que la concentration

du produit **DP5** ait continué à augmenter tout au long du traitement, comme indiqué dans le paragraphe IV.2.1.1.

Les différentes voies de dégradation de l'imidaclopride et de ses produits d'oxydation sont résumées sur un schéma présentant les produits de dégradation ainsi que les voies de formation de ces produits (Figure IV-33).

Les différentes analyses effectuées par spectrométrie de masse après collecte de fractions ont ainsi permis d'identifier 11 produits de dégradation de l'imidaclopride. Trois autres produits ont été analysés mais seuls leurs rapports masse-sur-charge ont pu être déterminés. Par ailleurs, d'autres produits de dégradation plus polaires, apparaissant en tête de chromatogramme, n'ont pas pu être identifiés par LC-MS. L'identification de ces produits polaires, probablement des acides carboxyliques, aurait pu être réalisée par d'autres techniques d'analyse telles que la GC-MS ou l'HILIC-MS. L'identification aurait également pu être menée par chromatographie échangeuse d'ions (IC); cette technique présente également l'avantage de détecter et quantifier les ions qui pourrait se former lors de la minéralisation de l'imidaclopride par ozonation (ex: nitrate, carbonate, chlorure, ...).

L'identification des structures des produits de dégradation du bitertanol a été menée de manière similaire, par spectrométrie de masse électrospray en mode positif et est présentée dans le paragraphe suivant

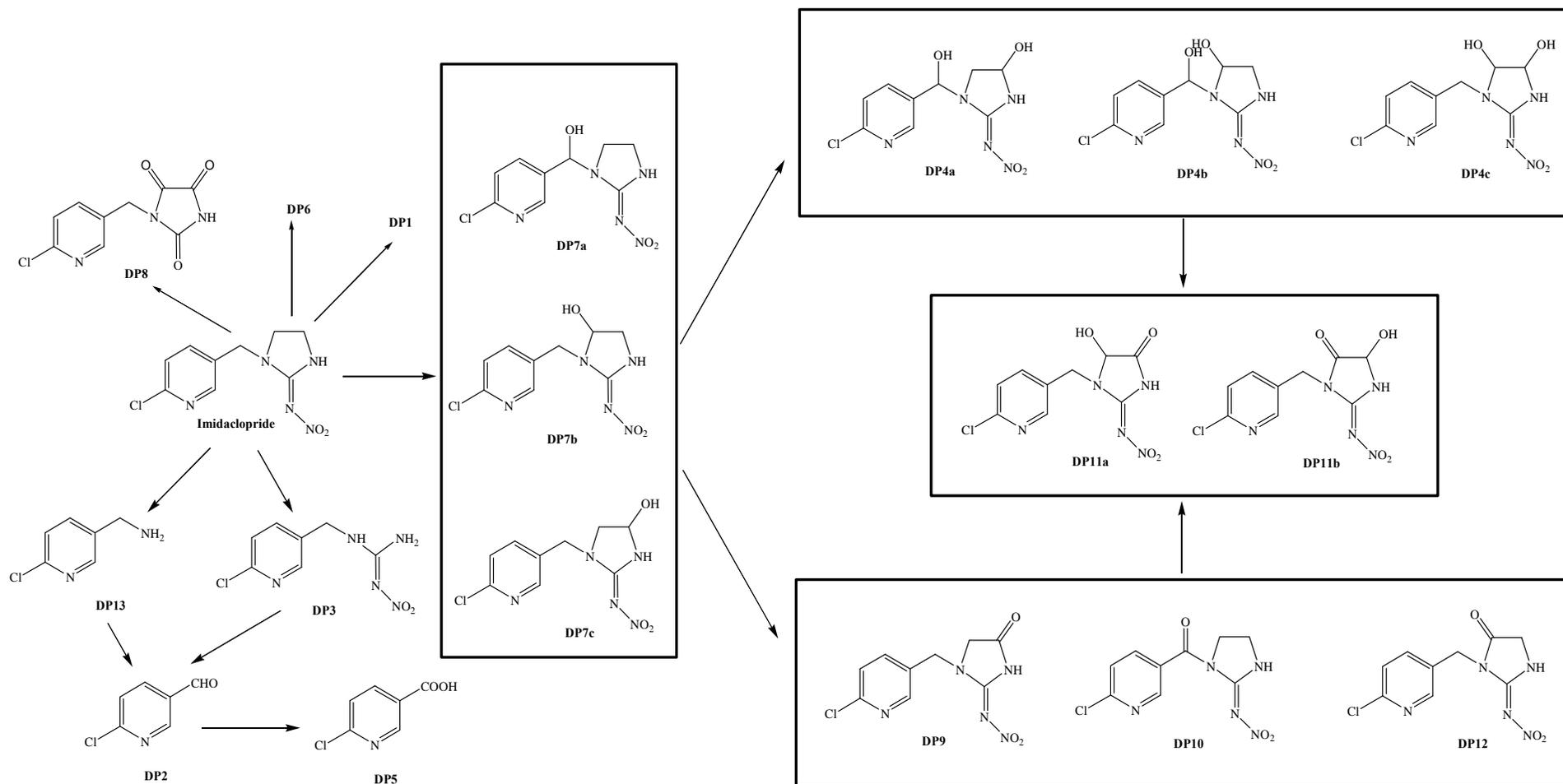


Figure IV-33 : Schéma de dégradation de l'imidaclopride par ozonation.

IV.3.2. Produits de dégradation du bitertanol

Les valeurs des rapports m/z des ions précurseurs et des ions fragments ainsi que leurs abondances relatives sont résumées dans le Tableau IV-3.

Tableau IV-3 : Ions précurseurs et ions fragments avec leurs abondances relatives (A, %) en MS, MS² et MS³ pour les produits de dégradation du bitertanol. n.d. : non déterminé.

Composé	MS		MS ²		MS ³	
	m/z [M + H] ⁺	m/z (A, %)	Perte neutre		m/z (A, %)	Perte neutre
DP14	378	360 (10)	[-H ₂ O]		291 (100)	[-H ₂ O]
		309 (39)	[-C ₂ H ₃ N ₃]→		211 (39)	
		306 (100)	n.d.			
		211 (11)				
DP15	306	288 (7)	[-H ₂ O]		219 (61)	[-H ₂ O]
		237 (100)	[-C ₂ H ₃ N ₃]→		163 (26)	[-H ₂ O,-C ₄ H ₈]
DP16	304	286 (14)	[-H ₂ O]		139 (100)	
		235 (17)	[-C ₂ H ₃ N ₃]→			
		207 (100)	[-C ₂ H ₃ N ₃ ,-CO]			
		163 (20)				
		139 (89)				
		121 (16)				

DP17	336	→ 267 (100) [-C ₂ H ₃ N ₃]→	249 (20) [-H ₂ O]
		249 (10) [-C ₂ H ₃ N ₃ , -H ₂ O]	239 (64) [-CO]
		239 (59) [-C ₂ H ₃ N ₃ , -CO]	211 (100) [-C ₄ H ₈]
		211 (24) [-C ₂ H ₃ N ₃ , -C ₄ H ₈]	183 (25) [-CO, -C ₄ H ₈]
		183 (17) [-C ₂ H ₃ N ₃ , -CO, -C ₄ H ₈]	
		171 (64)	
BIT	338	→ 269 (100) [-C ₂ H ₃ N ₃]	→ 251 (100) [-H ₂ O]
		251 (17) [-C ₂ H ₃ N ₃ , -H ₂ O]	

Le bitertanol **BIT**, dont le temps de rétention a été de 46,2 min, a tout d'abord été analysé. Son analyse par spectrométrie de masse électrospray en mode positif a donné un ion moléculaire à m/z 338 (Tableau IV-3). Le spectre de masse MS^2 de ce pic a abouti à la formation d'un fragment à m/z 269, soit une perte de masse de 69, caractéristique de la perte du cycle triazole de la molécule. L'ion fragment à m/z 269 a lui-même été fragmenté pour donner, sur le spectre de masse MS^3 , un fragment majoritaire à m/z 251, soit une perte de masse de 18 correspondant à une déshydratation du fragment. Cette perte de 18 unités provient de la présence d'une fonction alcool sur la molécule de bitertanol. Un autre fragment à m/z 171 a été identifié et est présenté sur la Figure IV-34.

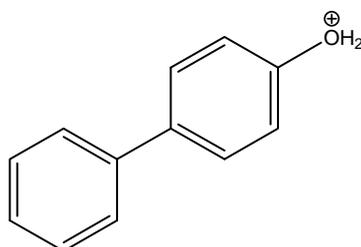


Figure IV-34 : Fragment à m/z 171.

Le produit **DP14** a été analysé et a présenté un ion précurseur [**DP14** + H]⁺ avec un rapport m/z de 378. Une structure de ce produit a été proposée sur la Figure IV-35 et pourrait être le

produit initial avec 3 fonctions aldéhydes ajoutées sur le groupement tert-butyl et la fonction alcool oxydée en cétone.

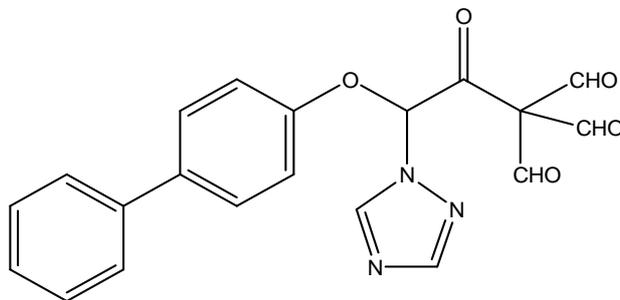


Figure IV-35 : Structure proposée du produit **DP14**.

La fragmentation de cet ion a donné différents pics de rapport m/z 360, m/z 309, m/z 306 et m/z 211. Le fragment à m/z 360 pourrait provenir d'un départ d'une molécule d'eau tandis que l'ion à m/z 309 est le fragment obtenu après perte de triazole. Le fragment à m/z 306, majoritaire sur le spectre MS^2 , n'a toutefois pas pu être identifié. L'ion obtenu à m/z 211, rencontré dans le spectre de masse MS^2 , a également été retrouvé dans le spectre MS^3 de l'ion identifié à m/z 309, en compagnie d'un ion fragment à m/z 291. Le schéma de fragmentation de l'ion précurseur à m/z 378 de l'ion à m/z 309 est présenté sur la Figure IV-36.

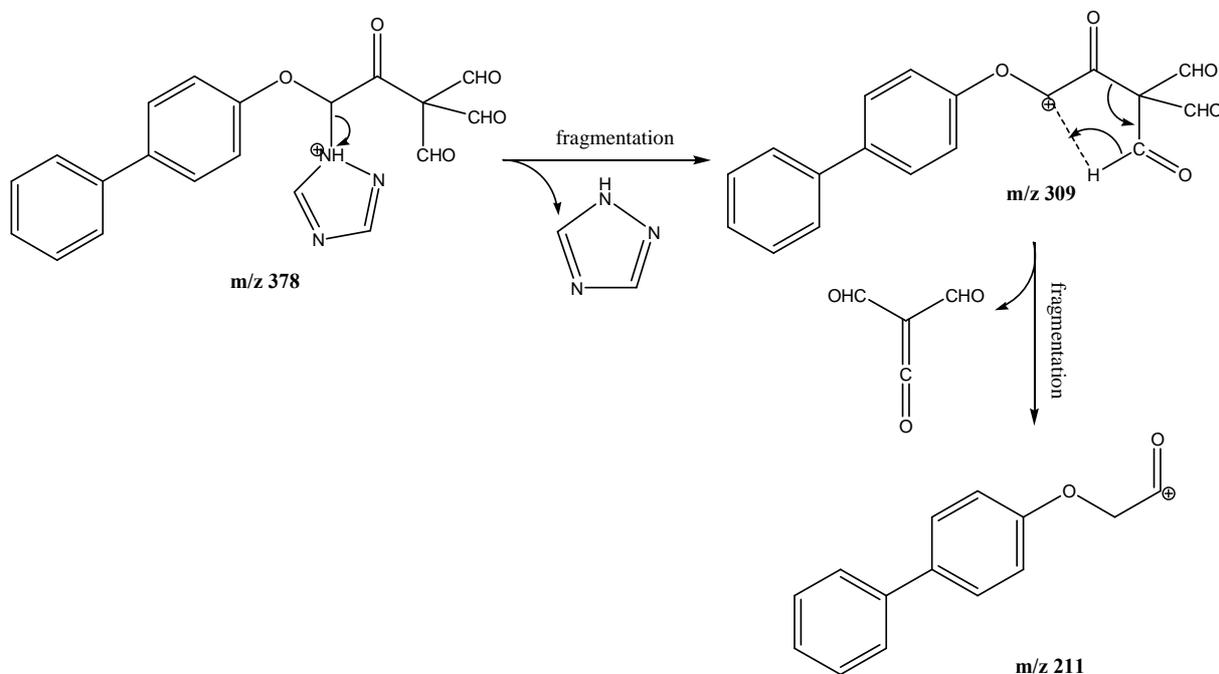


Figure IV-36 : Fragmentation de l'ion précurseur de **DP14** et des ions fragments identifiés à m/z 309 et m/z 211.

L'ion à m/z 211 a donc été formé par fragmentation de l'ion à m/z 309, suite à la perte de la fonction tert-butyle oxydée.

L'analyse par spectrométrie de masse du produit **DP15** a donné un spectre de masse MS avec un ion moléculaire protoné à m/z 306 [**DP15** + H]⁺. Une structure de ce produit est proposée sur la Figure IV-37. Cette proposition de structure est basée sur les travaux de Copeland et de ses collaborateurs [Copeland *et al.*, 1960 ; Copeland *et al.*, 1961] qui ont étudié l'ozonation de composés aromatiques comme le biphényl. Ils ont constaté que l'ozonation de ce composé aboutissait à la formation d'acide carboxylique et notamment à l'acide benzoïque.

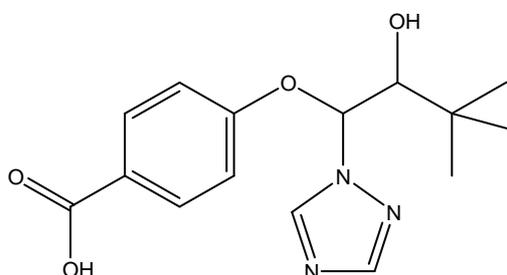


Figure IV-37 : Structure proposée du produit de dégradation **DP15**.

Cet ion à m/z 306 s'est probablement fragmenté en MS² pour donner deux fragments à m/z 237 (par perte de cycle triazole) et à m/z 288 (par déshydratation). L'analyse supplémentaire du fragment à m/z 237 a donné également deux pics : le premier pic à m/z 219, correspondant à une déshydratation, a montré la présence de la fonction alcool sur la molécule et le second pic à m/z 163 a été formé par déshydratation et départ de la fonction tert-butyle par perte d'isobutène. Cette dernière information a été confirmée par l'analyse par MS⁴ du fragment à m/z 219 qui a aussi donné un pic à m/z 163 (Figure IV-38). L'absence de fragment à m/z 171 pourrait confirmer l'oxydation du cycle biphényl au cours de l'ozonation.

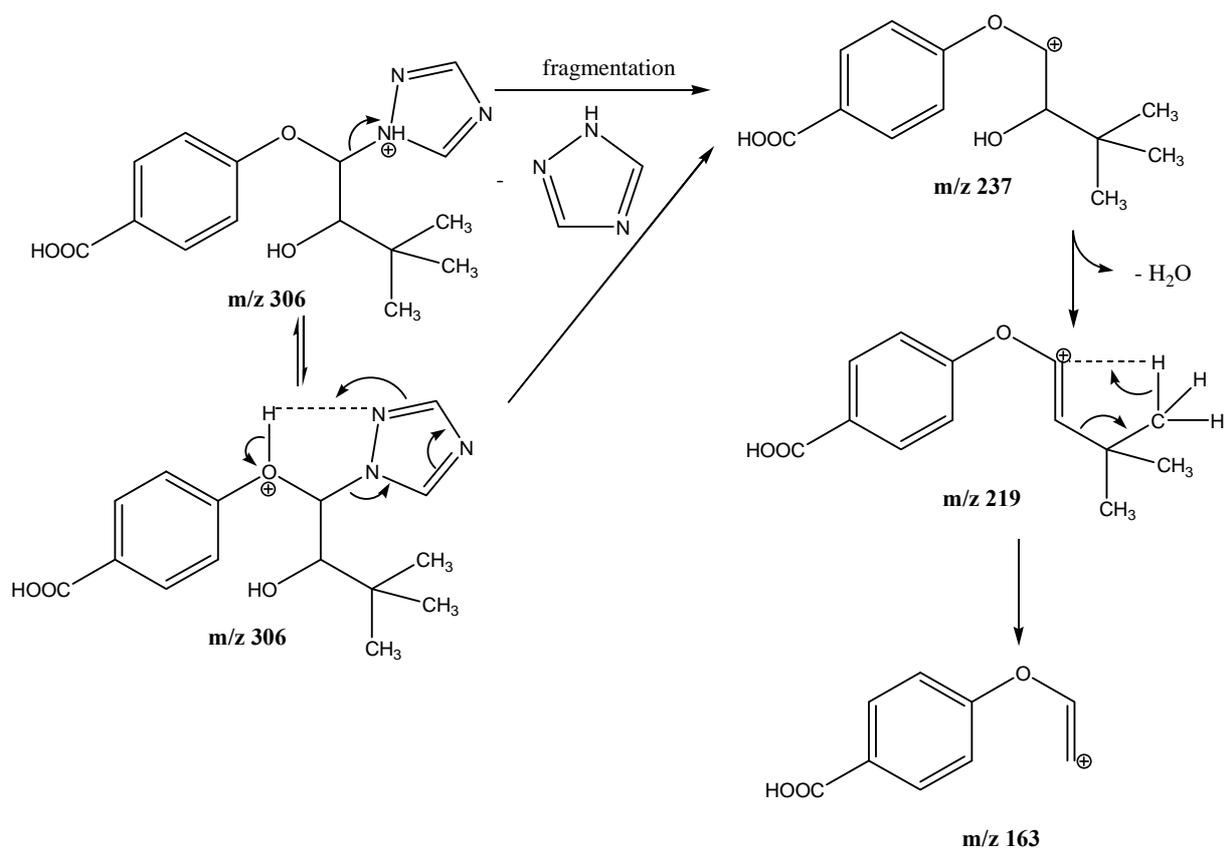


Figure IV-38 : Voies de fragmentations du produit **DP15** en ions de rapport m/z 237, m/z 219 et m/z 163.

L'analyse par spectrométrie de masse du produit de dégradation **DP16** a donné un spectre MS avec un ion précurseur à m/z 304. Ce produit, dont la structure est présentée sur la Figure IV-39, a été formé par oxydation de la fonction alcool du bitertanol en cétone et par clivage de la liaison phényl-phényl pour donner un dérivé acide benzoïque.

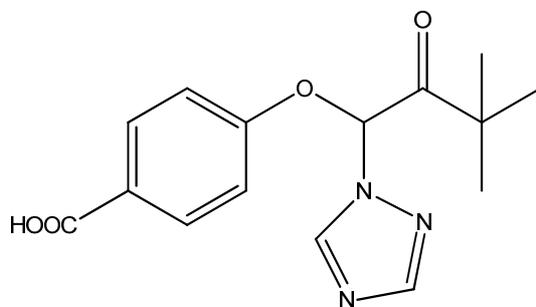


Figure IV-39 : Structure proposée pour le produit de dégradation **DP16**.

L'analyse par MS² de ce composé a donné plusieurs pics, notamment deux identifiés à m/z 207 et m/z 235. Ce dernier a été formé par perte du cycle triazole tandis que le fragment à m/z 207 a été formé par perte successive du cycle triazole et de monoxyde de carbone CO. Un autre fragment majoritaire à m/z 139 a également été trouvé dans le spectre MS² mais aussi dans le spectre MS³ du fragment à m/z 235. La structure de ce fragment, présentée sur la Figure IV-40, a permis de confirmer de manière plus certaine que le produit **DP16** a certainement été oxydé au niveau du groupement biphenyl pour donner un acide carboxylique.

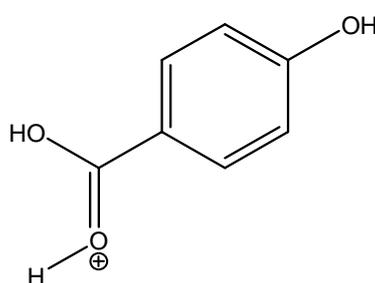


Figure IV-40 : Fragment à m/z 139.

Le produit de dégradation **DP17** a donné un spectre de masse MS avec un ion précurseur à m/z 336 [**DP17** + H]⁺. La structure du produit a été présentée sur la Figure IV-41 et correspond à la cétone analogue du bitertanol.

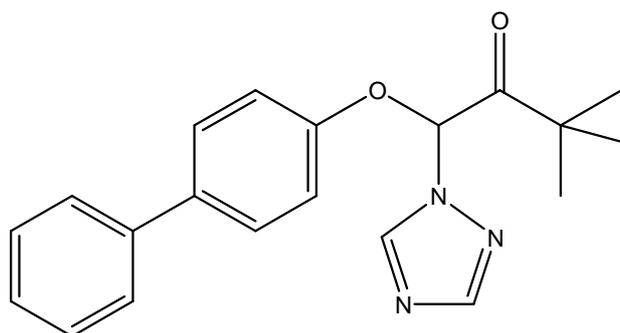


Figure IV-41 : Structure proposée du produit de dégradation **DP17**.

L'analyse en MS² a abouti à la formation de différents ions fragments dont ceux à m/z 267 [**DP17** + H - 69]⁺, m/z 249 [**DP17** + H - 87]⁺, m/z 239 [**DP17** + H - 97]⁺, m/z 211 [**DP17** + H - 125]⁺, m/z 183 [**DP17** + H - 153]⁺ et m/z 171 [**DP17** + H - 165]⁺. Le premier fragment a

été issu de la perte du cycle triazole tandis que le fragment à m/z 171 a été le fragment présenté sur la Figure IV-34. L'analyse du fragment à m/z 267 par MS^3 a montré la présence des fragments à m/z 239, m/z 211 et m/z 183 et, par conséquent, que ceux-ci ont été issus de la fragmentation du fragment à m/z 267, respectivement après la perte de monoxyde de carbone, après la perte d'isobutène et après la perte conjointe de monoxyde de carbone et d'isobutène.

En conclusion, le bitertanol semble s'être dégradé en deux produits différents : **DP15**, issu de l'oxydation de la partie biphényle en carboxyphényle, et **DP17**, par oxydation de la fonction alcool en cétone. Ces deux produits ont aussi été dégradés pour donner, au final, le même produit **DP16**. Le produit **DP17** a apparemment été oxydé à son tour sur les trois fonctions méthyles pour donner 3 fonctions aldéhydes (produit **DP14**). Cependant, il est apparu étonnant de ne retrouver aucun intermédiaire, à savoir les produits avec une ou deux fonctions aldéhyde.

Les différentes voies de dégradation du bitertanol par ozonation sont résumées sur la Figure IV-42.

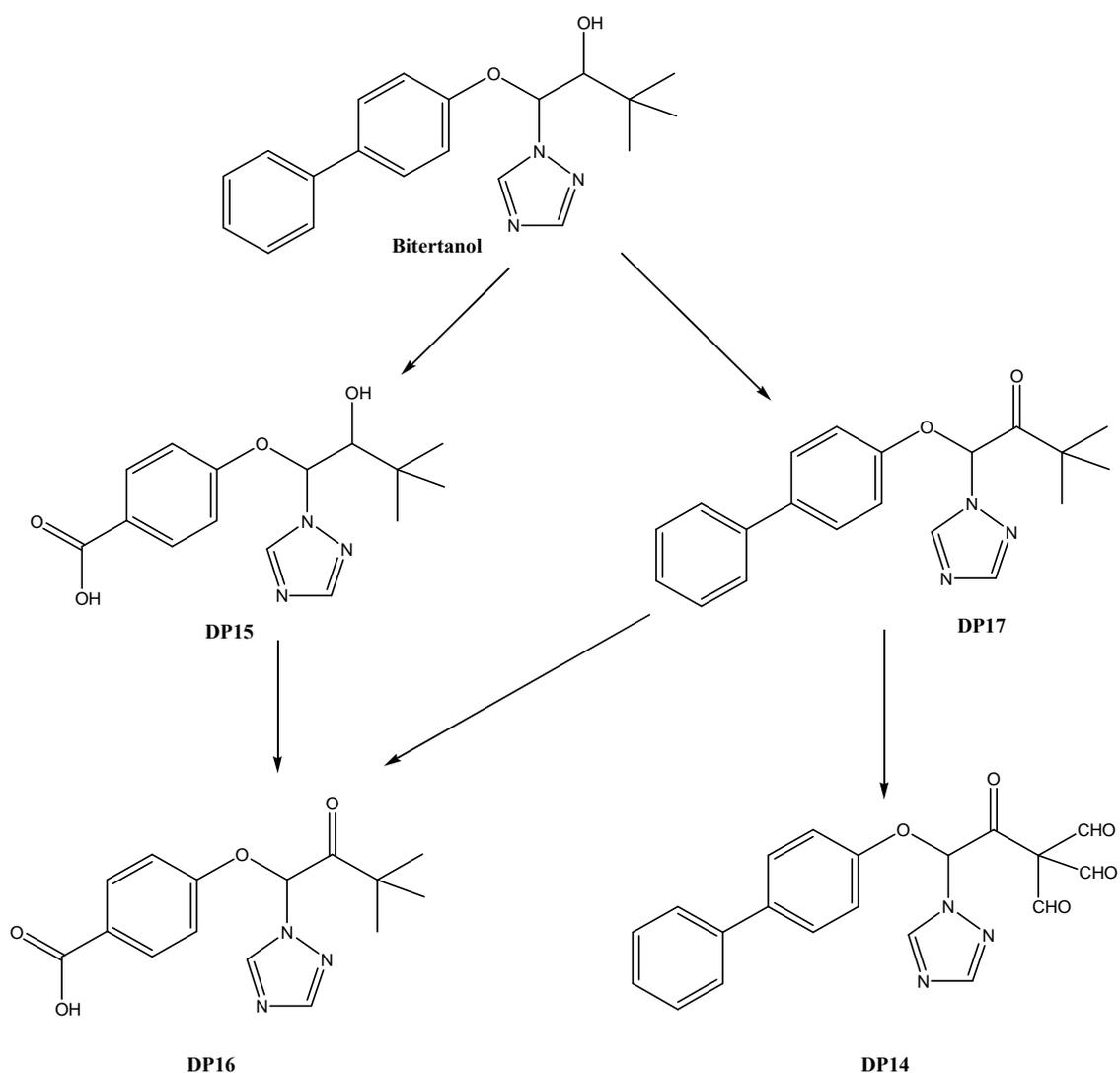


Figure IV-42 : Schéma de dégradation du bitertanol par ozonation.

L'analyse par spectrométrie de masse électrospray en mode positif a donc permis de caractériser la structure des 4 produits de dégradation purifiés du bitertanol.

IV.4. CONCLUSION

A l'issue de ce chapitre, nous avons déterminé certains paramètres de transfert de l'ozone dans les conditions d'ozonation étudiées, c'est-à-dire dans un mélange eau-acétonitrile (99:1, v/v) dans un réacteur gaz-liquide semi-continu agité.

Par ailleurs, la cinétique de dégradation des composés a montré que les ordres des réactions ont été de 1 pour l'ozone et le composé. Les constantes cinétiques ont ainsi pu être calculées ($3,21 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ pour l'imidaclopride et $4,65 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ pour le bitertanol) et le régime de fonctionnement du réacteur a été défini comme cinétique pour les deux réactions.

Il a été également montré que, suite à l'ozonation, de nombreux produits de dégradation ont été formés. Treize produits ont été identifiés pour l'ozonation de l'imidaclopride et quatre pour celle du bitertanol. La structure de la plupart de ces produits a été déterminée par spectrométrie de masse ESI(+)-MS. Suite à cela et compte tenu de la réactivité chimique de l'ozone, un schéma des différentes voies de dégradation pour les deux composés a pu être défini.

Ainsi, l'étude en solution dans un réacteur agité constitue une étape importante en vue d'une ozonation sur semences enrobées. Elle permet notamment d'appréhender les phénomènes de transfert de l'ozone dans la solution ainsi que les cinétiques de dégradation sous différentes conditions. En outre, cette étude fournit des renseignements importants pour une transposition de la réaction en solution à une réaction d'ozonation sur semences enrobées.

Chapitre V:
Etude de l'ozonation de
pesticides sur semences
enrobées

L'étude de la dégradation des pesticides sur les semences enrobées constitue la dernière étape du projet de thèse. Les précédentes expériences d'ozonation en solution ayant été réalisées sur les produits phytosanitaires présents dans la solution d'enrobage Gaucho Blé[®], les expériences d'ozonation sur semences enrobées ont donc été menées dans un réacteur en lit fixe sur des semences de blé tendre enrobées avec du Gaucho Blé[®].

La première partie a consisté à déterminer s'il existe un intérêt ou non à humidifier les semences avant ozonation pour favoriser le transfert de l'ozone gazeux vers les pesticides enrobés. D'autres paramètres, tels que le débit de gaz et la concentration en ozone dans le gaz, ont également fait l'objet de notre étude afin d'établir une loi cinétique de dégradation des composés.

Une fois l'influence des paramètres déterminée, un plan d'expériences a été réalisé afin d'évaluer l'effet de chaque facteur lors de l'ozonation et de caractériser les conditions nécessaires pour une dégradation optimale des pesticides.

La fin de ce chapitre sera consacrée, d'une part, à l'application du procédé à d'autres semences enrobées, donc à d'autres molécules actives et, d'autre part, à la réalisation d'expériences d'ozonation dans un nouveau réacteur, appelé réacteur à plateau vibrant.

V.1. INFLUENCE DES PARAMETRES D'OZONATION

V.1.1. Effet de l'humidification sur la dégradation des pesticides

Afin d'étudier l'influence de la teneur en eau ajoutée sur la décomposition des pesticides contenus dans les enrobages, les semences ont été préalablement humidifiées avec de l'eau ultrapure (teneur en eau ajoutée comprise entre 0 et 10% de la masse de grains initiale) avant d'être placées dans le réacteur lit fixe où elles ont été ozonées pendant 30 minutes avec un débit de gaz de 60 L.h^{-1} et une concentration en ozone dans le gaz introduit de $46,5 \text{ g.m}^{-3}$ CNTP. Une surpression de 400 mbar est maintenue dans le réacteur tout au long de la réaction.

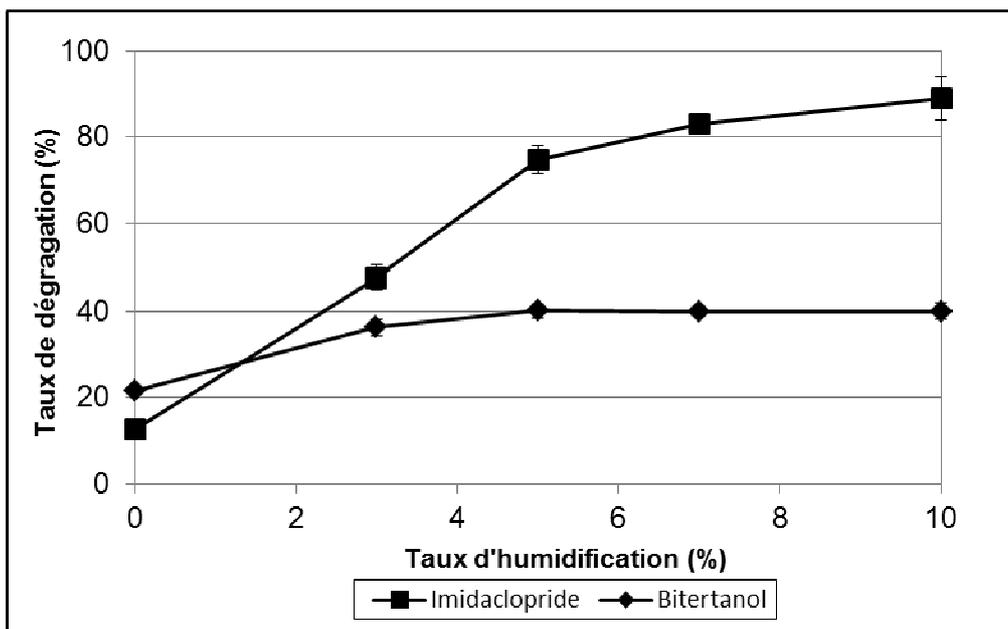


Figure V-1: Influence du taux d'humidification des semences sur les taux de dégradation de l'imidaclopride et du bitertanol.

La Figure V-1 montre l'importance d'humidifier les semences avant l'étape d'ozonation. En effet, lorsque les semences n'ont pas été préalablement humidifiées, les taux de dégradation des pesticides sur les semences ont été très faibles (respectivement 10 et 20 % pour l'imidaclopride et le bitertanol). Dans des conditions similaires, les dégradations ont été quasiment complètes après un temps de traitement de 30 minutes en solution aqueuse (paragraphe IV.2.1, page 104). La réaction directe entre l'ozone gazeux et le produit phytosanitaire solide présent dans l'enrobage a donc semblé très ralentie. Par conséquent, de l'eau a été ajoutée aux semences enrobées pour favoriser le transfert de l'ozone vers la molécule cible ; l'humidité relative des grains n'ayant pas suffi.

Sur le domaine étudié, une humidification de plus en plus importante a entraîné une augmentation du taux de dégradation des produits phytosanitaires. En effet, pour 10 % d'humidification, des taux de dégradation de 88,9 % pour l'imidaclopride et de 40,0 % pour le bitertanol ont été atteints après 30 minutes.

Les deux courbes de la Figure V-1 montrent que l'ajout d'eau sur les semences a eu un effet beaucoup plus important sur la dégradation de l'imidaclopride : son taux de dégradation a été multiplié par 7 entre 0 et 10 % d'humidification tandis qu'il a été « seulement » multiplié par deux pour le bitertanol.

Néanmoins, il a été constaté que, pour une humidification de 7 %, les taux de dégradation des composés étudiés (83,2 % pour l'imidaclopride et 39,8 % pour le bitertanol) ont été significativement peu différents des taux de dégradation maximaux (pour une humidification de 10 %). Par conséquent, dans l'optique du dimensionnement d'un réacteur efficace et économiquement viable, les taux d'humidification des semences de blé tendre enrobées ont généralement été pris égaux à 7 % pour les réactions d'ozonation suivantes.

L'ajout d'eau sur les semences a eu un rôle important dans la dégradation des pesticides sur les enrobages : on peut considérer que l'eau ajoutée a formé un film aqueux autour de la semence, créant ainsi un milieu réactionnel. L'ozone gazeux va se solubiliser dans le film aqueux avant d'oxyder les produits phytosanitaires mais aussi d'autres composés présents dans l'enrobage (pelliculants, colorants, etc.) ou dans la semence (amidon, protéines, lipides, vitamines, etc.). Toutefois, il est apparu que le taux de dégradation des pesticides a atteint un palier lorsque le taux d'humidification a dépassé une certaine valeur. En effet, en augmentant le taux d'humidification, l'épaisseur du film aqueux s'accroît et la durée nécessaire à l'ozone dissous pour être transféré jusqu'aux composés à oxyder sur les enrobages augmente donc sensiblement ; du même coup, la décomposition de l'ozone dans le film aqueux est nettement plus avancée. Par conséquent, le film aqueux a un rôle important sur le transfert de l'ozone et sur la cinétique d'ozonation.

V.1.2. Effet du débit de gaz sur la dégradation des pesticides

L'influence du débit de gaz entrant a été mise en évidence par l'ozonation de semences de blé tendre enrobé de Gaucho Blé dans le réacteur lit fixe. Les semences ont été préalablement humidifiées par ajout d'eau ultrapure à hauteur de 7 % par rapport à la masse initiale de semences. Les semences ont ensuite été traitées avec un mélange oxygène-ozone avec une concentration en ozone dans le gaz entrant de 78 g.m^{-3} CNTP pendant 30 minutes. Une surpression de 400 mbar a été maintenue dans le réacteur. Le débit de gaz entrant Q_{ge} a été étudié pour des valeurs comprises entre 20 et 100 L.h^{-1} .

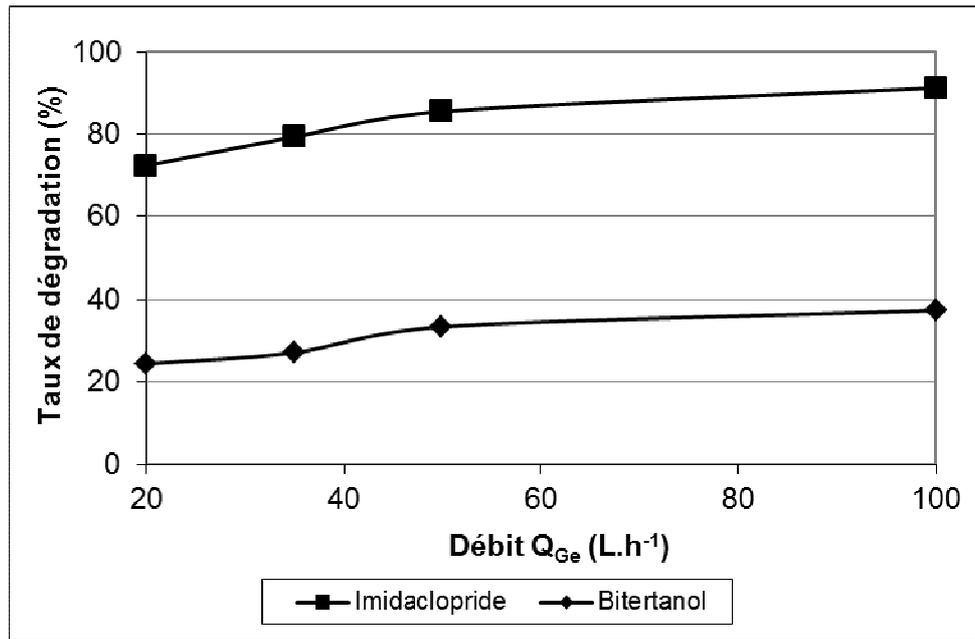


Figure V-2: Influence du débit de gaz sur le taux de dégradation des pesticides.

La Figure V-2 montre donc l'évolution du taux de dégradation de l'imidaclopride et du bitertanol en fonction du débit de gaz entrant Q_{ge} . Le taux de décomposition de l'imidaclopride a augmenté avec le débit de gaz (de 72 % pour 20 L.h⁻¹ à 91 % pour 100 L.h⁻¹). De même, pour le bitertanol, son taux de dégradation a augmenté de la même manière, passant respectivement de 24 % pour un débit de 20 L.h⁻¹ à 37 % pour un débit de 100 L.h⁻¹. Par conséquent, il a été constaté que, de manière générale, plus le débit de gaz entrant était élevé, plus les taux de dégradation augmentaient. Néanmoins, à un débit de 50 L.h⁻¹, les taux de dégradation ont été de 85 % pour l'imidaclopride et 33 % pour le bitertanol : les taux de dégradations ont donc peu évolué pour un débit supérieur Q_{ge} supérieur à 50 L.h⁻¹.

Par conséquent, au-delà de 50 L.h⁻¹, l'influence du débit est très faible, ce qui signifie qu'à partir de 50 L.h⁻¹, la quantité d'ozone entrant dans le réacteur est suffisante pour renouveler l'ozone réagissant dans le film aqueux. Ainsi, pour les débits élevés, l'étape limitante n'a pas été le transfert de l'ozone de la phase gazeuse vers les composés à oxyder mais plutôt la réaction ozone-pesticides. Le régime de fonctionnement du réacteur a donc été cinétique.

V.1.3. Effet de la concentration en ozone dans le gaz et étude de la cinétique d'ozonation des pesticides

Suite à l'étude des deux paramètres, débit de gaz et humidification du grain, la cinétique de décomposition des pesticides sur semences a été étudiée. Les résultats précédents pour l'ozonation des semences de blé tendre traitées au Gaucho Blé ont montré que la dégradation de l'imidaclopride et du bitertanol atteint un palier pour des valeurs d'humidification supérieures à 7%. L'étude de la cinétique de dégradation des deux pesticides se faisant sur des durées et des débits relativement élevés (respectivement 192 minutes de durée maximale et 100 L.h⁻¹), un séchage du grain a pu être constaté au cours du traitement. En effet, des essais ont été réalisés pour des semences de blé tendre enrobées Gaucho Blé[®] humidifiées à 10 % puis ozonées avec un débit de gaz entrant de 100 L.h⁻¹. Après 192 minutes de traitement, les semences ont été récupérées et pesées. La masse pesée a été nettement inférieure à la masse initiale, correspondant à une humidification initiale de 6,7 %.

Cela pourrait poser problème sur le traitement car un séchage trop important serait équivalent à une humidification moindre. Or, il a été constaté que, pour des valeurs d'humidification faible, la dégradation des produits phytosanitaires a été beaucoup plus faible. Cela poserait également le problème de l'inhomogénéité du traitement, à savoir une ozonation qui serait de moins en moins efficace au fur et à mesure du traitement.

Par conséquent, afin de compenser un séchage du grain trop important et limiter la perte d'efficacité du traitement, le taux d'humidification avant l'ozonation a été fixée à 10 % de la masse initiale de semences.

Une fois humidifiées, les semences ont ensuite été placées dans le réacteur lit fixe où elles ont été ozonées pour des durées comprises entre 0 et 192 minutes, à un débit de gaz entrant Q_{ge} de 100 L.h⁻¹ avec une légère surpression de 400 mbar pour favoriser la dissolution de l'ozone dans le film aqueux. La cinétique de dégradation des produits phytosanitaires a été suivie pour deux concentrations en ozone dans le flux gazeux $[O_3]_{ge}$ (une concentration élevée à 78 g.m⁻³ CNTP et une concentration moyenne à 39 g.m⁻³ CNTP) afin de voir également l'effet de la concentration en ozone dans le flux gazeux sur la dégradation.

V.1.3.1 ETUDE DE LA CINETIQUE POUR UNE CONCENTRATION EN OZONE ELEVEE (78 G.M³ CNTP)

L'ozonation des semences de blé tendre traitées au Gaucho Blé dans les conditions très oxydantes (concentration en ozone dans le gaz entrant de 78 g.m⁻³ CNTP) a été menée pour des durées comprises entre 0 et 96 minutes. Les taux de dégradation de l'imidaclopride et du bitertanol en fonction de la durée de traitement sont représentés sur la Figure V-3.

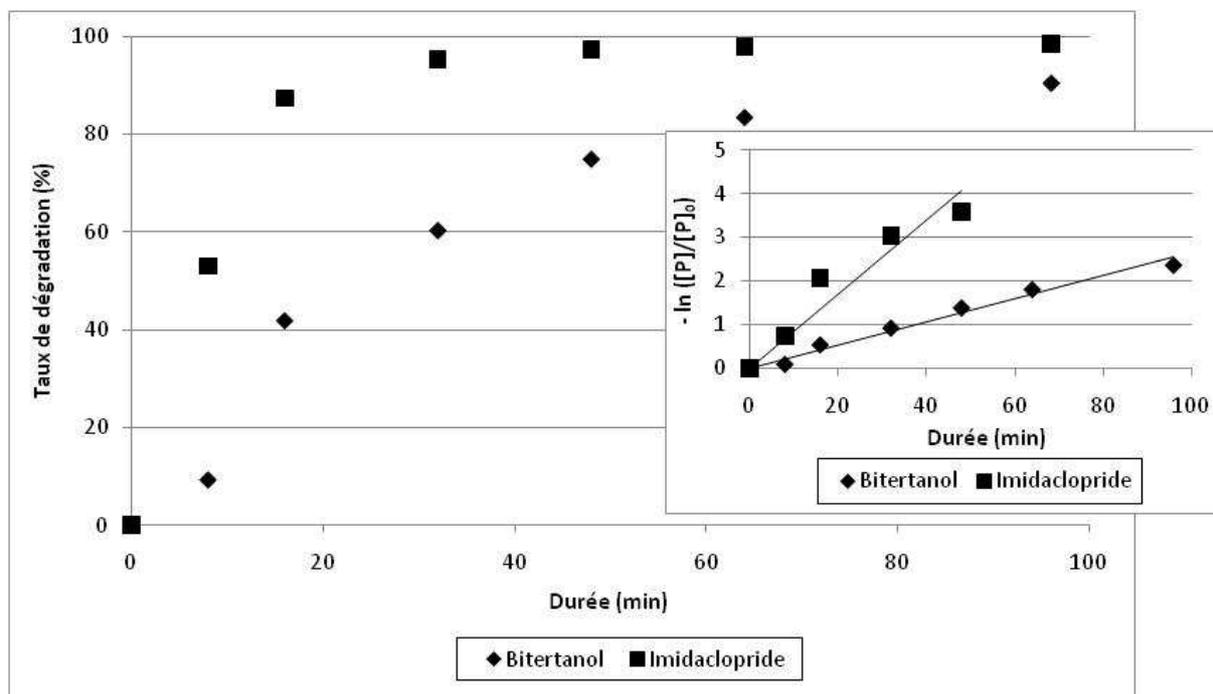


Figure V-3: Evolution du taux de dégradation de l'imidaclopride et du bitertanol en fonction de la durée de traitement à l'ozone pour une concentration en ozone dans le gaz entrant élevée. Encadré : illustration de la cinétique d'ordre 1 pour la dégradation des pesticides. $[O_3]_{ge} = 78 \text{ g.m}^{-3} \text{ CNTP}$ et $Q_{ge} = 100 \text{ L.h}^{-1}$.

Dans ces conditions, les deux pesticides étudiés ont réagi dès le début du traitement. Après 8 minutes, les taux de dégradation de l'imidaclopride et du bitertanol ont respectivement été de 53,0 et 9,3 %. L'imidaclopride a été quasiment complètement dégradé après 32 minutes d'ozonation (95,2 % de dégradation). Au-delà de 32 minutes, le taux de dégradation de l'imidaclopride a peu évolué (98,4 % après 96 minutes). La cinétique de dégradation de l'imidaclopride a donc été beaucoup plus rapide que celle du bitertanol dont le taux de

dégradation a été de 60,4 % après 32 minutes et a atteint 90,6 % après 96 minutes d'ozonation.

Considérant que la dissolution de l'ozone dans le film aqueux a été rapide et que la concentration en ozone dans le milieu aqueux a été très supérieure à celle des pesticides, la concentration en ozone dissous a été considérée constante au cours de la réaction. Le pseudo-ordre de la réaction pour les pesticides a pu être déterminé. Ainsi, l'encadré de la Figure V-3 a illustré que la réaction de décomposition des pesticides a été de pseudo-ordre 1. En effet, les courbes représentant $-\ln ([P]/[P]_0)$, avec $[P]_0$ la concentration initiale en composé P et $[P]$ sa concentration à l'instant t, en fonction du temps ont présenté un profil linéaire en début de réaction : le coefficient de détermination, pour le bitertanol, a été de 98,1 % pour les 96 premières minutes ; il a été de 95,6 % pour l'imidaclopride, lors des 32 premières minutes. Au-delà de 32 minutes, le profil de la courbe de l'imidaclopride n'a plus été linéaire car la concentration en imidaclopride dans le milieu est devenue très faible et il devient difficile pour l'ozone de rencontrer les dernières molécules d'imidaclopride.

Les constantes cinétiques des réactions d'ozonation de pseudo-ordre 1 par rapport aux produits P ont été déterminées graphiquement en tant que pentes des courbes $-\ln ([P]/[P]_0)$ sur le domaine de linéarité. Les constantes cinétiques ont donc été respectivement de $0,026 \text{ min}^{-1}$ pour le bitertanol (entre 0 et 96 minutes) et de $0,101 \text{ min}^{-1}$ pour l'imidaclopride (entre 0 et 32 minutes).

V.1.3.2 ETUDE DE LA CINÉTIQUE POUR UNE CONCENTRATION EN OZONE MOYENNE (39 G.M^{-3} CNTP)

L'ozonation des semences de blé tendre traitées au Gaucho Blé[®] pour une concentration en ozone moyenne ($[\text{O}_3]_{\text{ge}} = 39 \text{ g.m}^{-3}$ CNTP) a été menée pour des durées comprises entre 0 et 192 minutes. Les taux de dégradation de l'imidaclopride et du bitertanol en fonction de la durée de traitement sont représentés sur la Figure V-4.

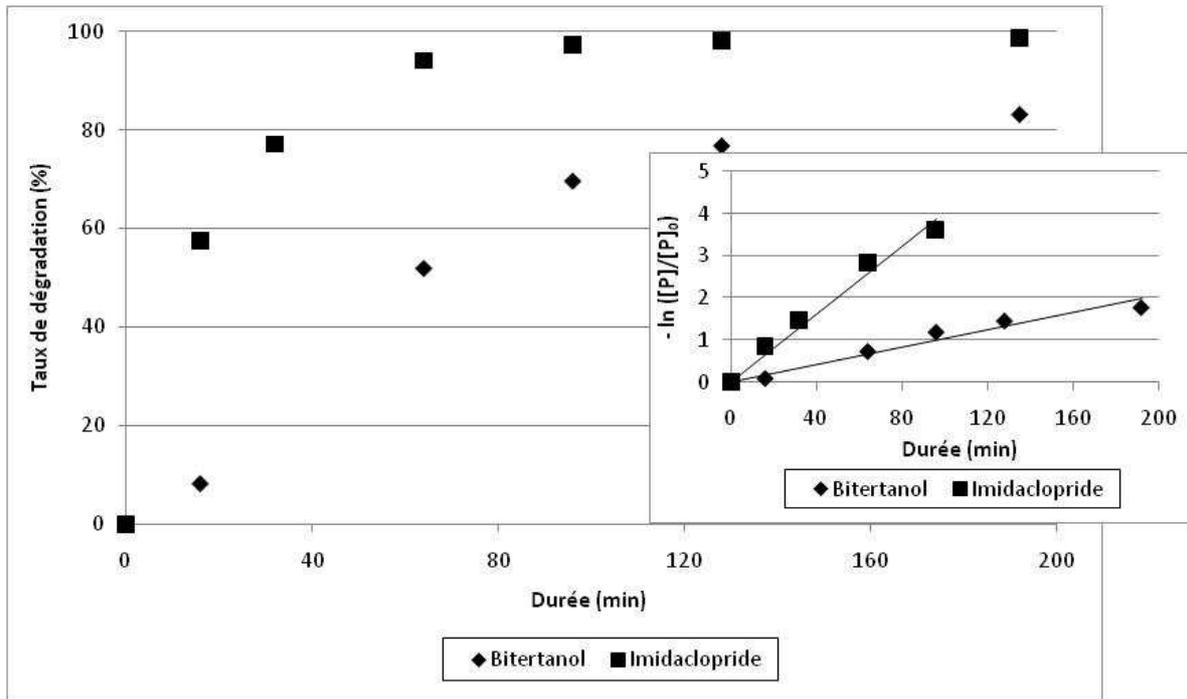


Figure V-4: Evolution du taux de dégradation de l'imidaclopride et du bitertanol en fonction de la durée de traitement à l'ozone pour une concentration en ozone dans le gaz entrant moyenne. Encadré : illustration de la cinétique d'ordre 1 pour la dégradation des pesticides. $[O_3]_{ge} = 39 \text{ g.m}^{-3} \text{ CNTP}$ et $Q_{ge} = 100 \text{ L.h}^{-1}$.

Les deux pesticides ont été dégradés dès le début de l'ozonation. Après 16 minutes de traitement, les taux de dégradation ont respectivement été de 8,3 et 57,6 % pour le bitertanol et l'imidaclopride. Ce dernier a été quasiment complètement dégradé au bout de 96 minutes d'ozonation (97,3 % de dégradation). Après 96 minutes, le taux de dégradation de l'imidaclopride a peu évolué (98,7 % de dégradation après 192 minutes). En revanche, le taux de dégradation du bitertanol a nettement augmenté au cours du traitement : il a été de 51,9 % après 64 minutes et a atteint 83,1 % au bout de 192 minutes.

Comme précédemment, la dissolution de l'ozone dans la phase aqueuse a été considérée rapide et la concentration en ozone dissous a été supposée très supérieure à celle des pesticides. La concentration en ozone a donc été considérée comme constante. Le pseudo-ordre de la réaction de dégradation des pesticides a ainsi pu être déterminé.

L'encadré de la Figure V-4 montre que la réaction d'ozonation des produits phytosanitaires a été de pseudo-ordre 1. En effet, le profil des courbes représentant $-\ln([P]/[P]_0)$, avec $[P]_0$ la

concentration initiale en composé P et [P] sa concentration à l'instant t, en fonction du temps a été linéaire en début de réaction : le coefficient de détermination pour le bitertanol a été de 95,8 % pour les 192 premières minutes ; il a été de 99,5 % pour la courbe de l'imidaclopride lors des 64 premières minutes. Après 96 minutes, le profil de la courbe de l'imidaclopride n'a plus été linéaire du fait de la difficulté pour l'ozone de rencontrer les dernières molécules d'imidaclopride. Les constantes cinétiques des réactions d'ozonation de pseudo-ordre 1 par rapport aux produits P ont été déterminées graphiquement en tant que pentes des courbes $-\ln([P]/[P]_0)$ sur le domaine de linéarité. Les constantes cinétiques ont donc été respectivement de $0,010 \text{ min}^{-1}$ pour le bitertanol (entre 0 et 192 minutes) et de $0,045 \text{ min}^{-1}$ pour l'imidaclopride (entre 0 et 64 minutes).

V.1.3.3 BILAN DE L'ETUDE DES CINETIQUES

L'étude de la cinétique d'ozonation de l'imidaclopride et du bitertanol a montré, quelque soit la concentration dans le gaz entrant, que la réaction a été de pseudo-ordre 1 par rapport au pesticide.

Par ailleurs, en comparant les résultats obtenus pour les deux concentrations étudiées, il a été observé que plus la concentration en ozone dans le gaz a été élevée, plus les constantes cinétiques calculées ont été élevées. Il apparaît même que, pour une concentration en ozone dans le gaz entrant doublée, les constantes cinétiques de pseudo-ordre 1 ont également été doublées. Par conséquent, les réactions d'ozonation des pesticides ont également été d'ordre 1 par rapport à l'ozone.

Tous ces résultats ont été en accord avec les réactions d'ozonation des pesticides en solution aqueuse. En effet, pour rappel, il avait également été observé, pour la réaction entre l'ozone et chaque produit phytosanitaire, une réaction d'ordre global 2 (ordre partiel égal à 1 pour chaque espèce).

Pour toutes les réactions d'ozonation de semences enrobées avec le produit Gaucho Blé[®], la dégradation du bitertanol a toujours été bien plus lente que celle de l'imidaclopride. Ce résultat est contraire à ce qui s'était passé lors de l'ozonation de pesticides en solution (paragraphe IV.2.1, page 104).

Dans des conditions d'ozonation proches en solution ($[O_3]_{ge} = 90 \text{ g.m}^{-3}$ CNTP ; surpression : 200 mbar) et sur semences enrobées ($[O_3]_{ge} = 78 \text{ g.m}^{-3}$ CNTP ; surpression : 400 mbar), les constantes cinétiques de pseudo-ordre 1 de l'ozonation d'imidaclopride ont été proches ($0,129 \text{ min}^{-1}$ en solution et $0,101 \text{ min}^{-1}$ sur les semences enrobées). En revanche, pour l'ozonation du bitertanol, la constante cinétique de pseudo-ordre 1 pour la réaction sur semences enrobées a été beaucoup plus faible ($0,026 \text{ min}^{-1}$) que celle obtenue pour la réaction en solution ($0,187 \text{ min}^{-1}$). En conséquence, comme pour l'ozonation en solution, l'ozonation du bitertanol sur semences enrobées a semblé être ralentie par les composés présents sur l'enrobage (pelliculants, agents d'enrobage, colorants, etc.) et dans la semence.

Les informations obtenues précédemment ont notamment permis d'identifier l'influence de paramètres tels que le débit de gaz entrant, la durée de traitement et la concentration en ozone dans le gaz entrant sur les taux de dégradation des pesticides. Les effets combinés de chacun des facteurs étudiés ainsi que la détermination de conditions optimales pour la dégradation des pesticides ont, par la suite, été étudiée.

V.2. OPTIMISATION DE LA REACTION D'OZONATION SUR LES TAUX DE DEGRADATION DES PESTICIDES

Afin d'optimiser la réaction d'ozonation de ces composés et d'évaluer l'importance de différents paramètres d'ozonation et leurs interactions, un plan d'expériences (PEX) à 3 variables (le débit de gaz entrant, la durée de traitement et la concentration en ozone dans le gaz entrant) a été composé. Pour cela, un plan d'expérience de type Box-Behnken a été choisi. Ce plan est couramment utilisé pour les modèles à surface de réponses car il permet de créer un modèle précis du second ordre pour les réponses, à partir d'un nombre réduit d'expériences [Box et Behnken, 1960].

V.2.1. Détermination des domaines expérimentaux de 3 facteurs (durée, concentration en ozone dans le gaz, débit)

Avant d'aborder l'optimisation des conditions expérimentales, le domaine expérimental de chacun des trois paramètres étudiés a du être défini.

Détermination du domaine expérimental pour le débit de gaz entrant:

L'étude du débit de gaz entrant sur les taux de dégradation a été effectuée sur une plage de débits compris entre 20 et 100 L.h⁻¹. Ceci avait permis de valider qu'au-delà d'une certaine valeur de débit, le taux de dégradation des composés a peu évolué. Le domaine étudié pour le plan d'expériences a été le même (20-100 L.h⁻¹).

Détermination du domaine expérimental pour la concentration en ozone dans le gaz entrant

Les précédentes expériences ont montré que les dégradations des produits phytosanitaires par l'ozone étaient des réactions d'ordre global 2 (ordre partiel égal à 1 pour l'ozone et 1 pour le produit phytosanitaire). Par conséquent, les taux de dégradation ont été fortement dépendants de la concentration en ozone. Il est donc apparu intéressant d'étudier l'influence de la concentration en ozone sur un domaine étendu. La valeur maximale a été déterminée par le générateur d'ozone qui a imposé une concentration maximale de l'ozone dans le gaz entrant de 97,5 g.m⁻³ CNTP. Pour des raisons techniques imposées par le générateur d'ozone, un courant d'oxygène à faible débit (ici fixé à 20 L.h⁻¹ dans le domaine expérimental pour le débit de gaz) doit être ozoné avec une puissance électrique minimale pour fonctionner sans variation de concentration au cours du temps. La concentration minimale du domaine a donc été définie à 19,5 g.m⁻³ CNTP.

Détermination du domaine expérimental pour la durée de traitement

La valeur maximale de la durée d'ozonation pour le plan d'expériences a été fixée à 50 minutes. En effet, l'étude des cinétiques dans le paragraphe V.1.3.1 a montré qu'entre 48 et 64 minutes d'ozonation à forte concentration d'ozone, la faible quantité de molécules

d'imidaclopride restantes dans l'enrobage commençait à être limitante pour la réaction entre l'ozone et l'imidaclopride. La durée minimale des expériences du PEX a été fixée à 10 minutes.

Les valeurs des domaines expérimentaux pour les trois paramètres étudiés sont résumées dans le Tableau V-1.

Tableau V-1: Domaine expérimental des facteurs étudiés

Variable	Facteurs		Niveau -1	Niveau 0	Niveau +1
X ₁	Durée de la réaction	(min)	10	30	50
X ₂	Concentration en ozone dans le gaz entrant	(g.m ⁻³ CNTP)	19,5	58,5	97,5
X ₃	Débit de gaz entrant	(L.h ⁻¹)	20	60	100

Une fois que les domaines expérimentaux ont été établis, les expériences ont pu être menées selon le plan d'expériences établi.

V.2.2. Mise en place du plan d'expériences

La réaction a été conduite de la manière suivante: les semences de blé tendre traitées aux Gaucho Blé[®] ont été humidifiées avec la quantité suffisante d'eau ultrapure pour obtenir des taux de dégradation optimaux, c'est-à-dire 7 %. La surpression a été maintenue fixe à 400 mbar dans le ciel gazeux en sortie de réacteur afin de favoriser la dissolution de l'ozone dans le film aqueux.

Les expériences menées au cours de ce PEX sont présentées dans le Tableau V-2.

Tableau V-2 : Expériences du PEX selon le plan de Box-Behnken à 3 facteurs.

Essai n°	X ₁	Durée de la réaction (min)	X ₂	Concentration en ozone (g.m ⁻³ CNTP)	X ₃	Débit de gaz entrant (L.h ⁻¹)
1	0	30	0	58,5	0	60
2	0	30	-1	19,5	-1	20
3	1	50	0	58,5	-1	20
4	0	30	1	97,5	-1	20
5	-1	10	0	58,5	-1	20
6	-1	10	-1	19,5	0	60
7	1	50	-1	19,5	0	60
8	1	50	1	97,5	0	60
9	-1	10	1	97,5	0	60
10	0	30	-1	19,5	1	100
11	1	50	0	58,5	1	100
12	0	30	1	97,5	1	100
13	-1	10	0	58,5	1	100
14	0	30	0	58,5	0	60
15	0	30	0	58,5	0	60

Suite à l'ozonation des différents échantillons de semences de blé tendre enrobées avec le Gaucho Blé[®], les différents taux de dégradation des produits ont été définis comme les réponses à étudier:

- ✓ Le taux de dégradation de l'imidaclopride sur le blé tendre enrobé Gaucho Blé (Y₁),
- ✓ Le taux de dégradation du bitertanol sur le blé tendre enrobé Gaucho Blé (Y₂).

Chaque réponse a été représentée par une fonction mathématique du second degré:

$$Y_i = f(X_1, X_2, X_3) = a_0 + a_1 \cdot X_1 + a_2 \cdot X_2 + a_3 \cdot X_3 + a_{12} \cdot X_1 \cdot X_2 + a_{13} \cdot X_1 \cdot X_3 + a_{23} \cdot X_2 \cdot X_3 + a_{11} \cdot X_1^2 + a_{22} \cdot X_2^2 + a_{33} \cdot X_3^2$$

avec :

Y_i : réponse (taux de dégradation de chacun des pesticides)

X_1 : durée de la réaction (min)

X_2 : concentration en ozone dans le gaz entrant ($\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$ CNTP)

X_3 : débit de gaz entrant ($\text{L} \cdot \text{h}^{-1}$)

Les valeurs des coefficients de chaque équation ont été calculées par régression multilinéaire sur les données obtenues expérimentalement.

Les résultats des différentes ozonations sur les semences étudiées sont résumés dans le Tableau V-3.

Tableau V-3 : Réponses obtenues dans le cadre du PEX pour l'ozonation des semences.

Essai n°	Taux de dégradation Imidaclopride	Taux de dégradation Bitertanol
1	90,1%	42,0%
2	51,2%	16,3%
3	87,9%	40,2%
4	88,7%	42,2%
5	55,4%	18,9%
6	55,4%	15,4%
7	86,3%	24,3%
8	95,8%	79,2%
9	72,4%	22,5%
10	79,5%	22,1%
11	93,3%	59,2%
12	87,8%	55,9%
13	72,8%	19,8%
14	89,9%	40,3%
15	89,2%	34,3%

Les taux de dégradation maximaux ont respectivement été de 95,8 et 79,2 % pour l'imidaclopride et le bitertanol. Ces taux de décomposition maximaux ont été obtenus dans les conditions de l'essai n°8 (50 min, 97,5 g.m⁻³CNTP et 60 L.h⁻¹).

L'analyse des résultats obtenus par le plan d'expériences a permis de calculer les 10 coefficients pour chacune des réponses (Tableau V-4).

Tableau V-4: Coefficients des équations du second degré pour chaque réponse lors de l'ozonation des semences

Coefficients	Taux de dégradation Imidaclopride	Taux de dégradation Bitertanol
a0	89,7%	38,9%
a1	13,4%	15,8%
a2	9,0%	15,2%
a3	6,3%	4,9%
a12	-1,9%	11,9%
a13	-3,0%	4,5%
a23	-7,3%	2,0%
a11	-5,9%	-1,6%
a22	-6,4%	-1,9%
a33	-6,5%	-2,8%

Les différents coefficients calculés permettent d'obtenir deux équations polynomiales de second ordre pour les réponses Y_1 et Y_2 .

En appliquant les valeurs de X_1 , X_2 et X_3 dans les deux équations polynomiales, des valeurs dites prédites ont été obtenues pour les 2 taux de dégradation (\hat{Y}_1 et \hat{Y}_2) et comparées avec les valeurs obtenues expérimentalement (Figure V-5). Les valeurs mesurées et les valeurs prédites par le modèle ont semblé être relativement proches. Ceci sera vérifié, dans ce qui suit par une analyse de variance du modèle.

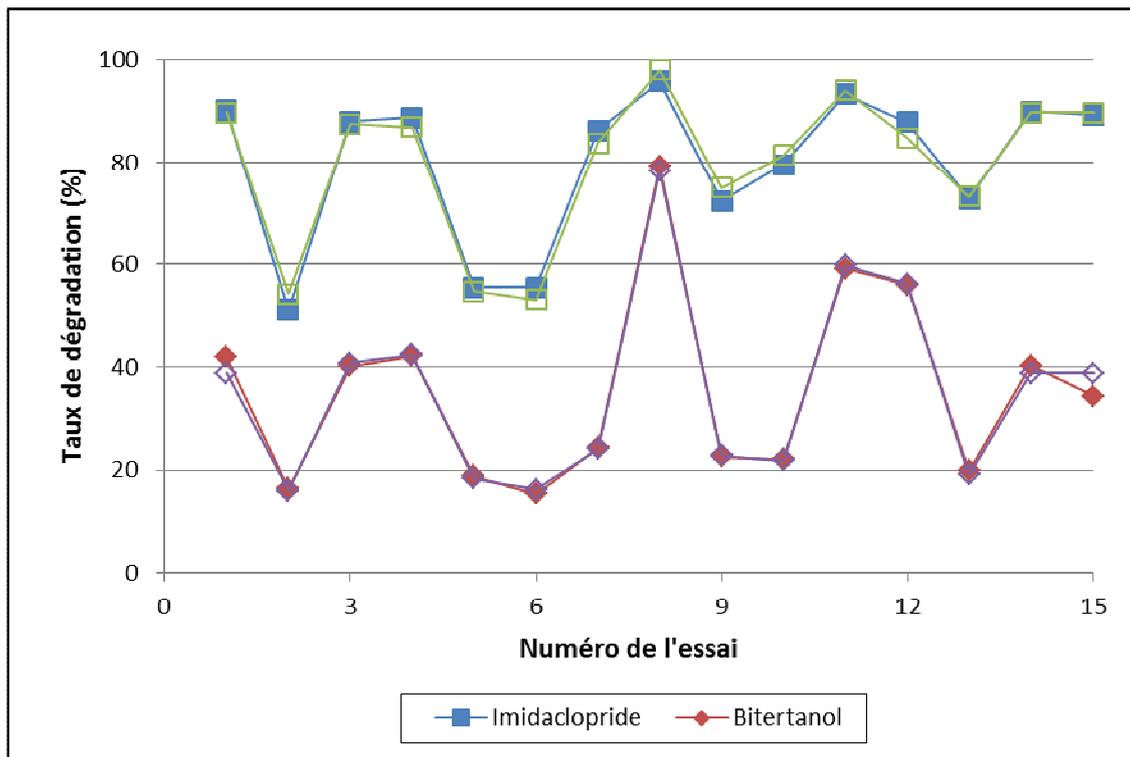


Figure V-5: Comparaison des valeurs expérimentales et des valeurs calculées pour les taux de dégradation de l'imidaclopride (carré) et du bitertanol (losange) dans le blé tendre enrobé Gaucho Blé. Les symboles pleins représentent les résultats expérimentaux et les symboles vides représentent les valeurs prédites.

V.2.3. Analyse des variances

Comme il a été observé précédemment, il existe, pour chacune des réponses mesurées expérimentalement et des réponses calculées, une différence entre ces deux valeurs appelée résidu r_i . Ainsi, on peut écrire la relation suivante:

$$Y_i = \hat{Y}_i + r_i$$

avec :

- Y_i : réponse mesurée expérimentalement pour l'imidaclopride (i=1) ou pour le bitertanol (i=2),
- \hat{Y}_i : réponse calculée pour l'imidaclopride (i=1) ou pour le bitertanol (i=2),
- r_i : résidu pour l'imidaclopride (i=1) ou pour le bitertanol (i=2).

Les analyses classiques de variance ne font pas intervenir les réponses mais les différences entre les réponses et leurs moyennes \bar{Y}_i , c'est-à-dire $(Y_i - \bar{Y}_i)$ et $(\hat{Y}_i - \bar{Y}_i)$. Ces différences sont respectivement appelées, par la suite, réponses mesurées corrigées à la moyenne et réponses calculées corrigées à la moyenne.

En reprenant l'équation précédente et en soustrayant \bar{Y}_i de chaque côté, on obtient la relation suivante:

$$Y_i - \bar{Y}_i = \hat{Y}_i - \bar{Y}_i + r_i$$

On admet, par la suite, en élevant les termes au carré et prenant la somme de tous les éléments, la relation suivante :

$$\sum (Y_i - \bar{Y}_i)^2 = \sum (\hat{Y}_i - \bar{Y}_i)^2 + \sum r_i^2$$

L'élément de gauche représente la somme des carrés des écarts à la moyenne des réponses mesurées. Les deux autres éléments représentent la somme des carrés à l'écart à la moyenne des réponses calculées avec le modèle et la somme des carrés des résidus (Tableau V-5).

Pour la variation du modèle corrigé de la moyenne, le degré de liberté (ddl) correspond au nombre de coefficients calculés moins un, soit 9. Pour la variation des résidus, le degré de liberté est égal au nombre de réponses obtenues moins le nombre de coefficients, soit 5.

La variance de chaque élément, aussi appelé carré moyen, se définit comme le rapport de la somme des carrés sur le degré de liberté.

Suite au calcul des variances, un test statistique (F test ou test de Fisher) est réalisé pour confirmer que le modèle statistique est représentatif de la réalité. Généralement, la valeur du F test est définie comme le rapport de la variance connue sur la variance inconnue, correspondant ici au rapport de la variance du modèle sur la variance des résidus. A partir de la valeur du F test, la valeur p, correspondant à la probabilité d'accepter la valeur du modèle

alors qu'elle est fautive, est déterminée par des courbes de distribution. Par conséquent, plus la valeur p est faible, plus le résultat proposé est significatif.

Tableau V-5: Analyse de la variance du modèle.

Source de variations	ddl	Taux de dégradation Imidaclopride (Y ₁)				Taux de dégradation Bitertanol (Y ₂)			
		Somme des Carrés	Carré Moyen	F test	Valeur p	Somme des Carrés	Carré Moyen	F test	Valeur p
Modèle	9	30,5 %	3,38 %	34,0	0,0006	47,5 %	5,3 %	72,5	<0,0001
Résidus	5	0,5 %	0,1 %			0,4 %	0,1%		
Total	14	31,0 %				47,9 %			

L'analyse de variance (aussi appelée ANOVA, acronyme anglais pour ANalysis Of VAriance) pour le modèle quadratique de surface de réponses est présentée dans le Tableau V-5. Le modèle quadratique proposé a été significatif puisque les valeurs p pour les taux de dégradation de l'imidaclopride et du bitertanol ont toutes été inférieures à 0,06 %. Par conséquent, les valeurs des réponses calculées par le modèle ont été statistiquement significatives.

De la même manière, l'analyse de variance a été effectuée sur les coefficients calculés pour le modèle afin de déterminer les coefficients significatifs (Tableau V-6).

Tableau V-6 : Analyse de variance (ANOVA) pour le modèle quadratique de surface de réponse obtenu avec le plan d'expériences.

Source de variations	ddl	Taux de dégradation Imidaclopride (Y ₁)			Taux de dégradation Bitertanol (Y ₂)		
		Somme des Carrés	F test	Valeur p	Somme des Carrés	F test	Valeur p
a ₀	9	30,5 %	34,0	0,0006	47,5 %	72,5	<0,0001
a ₁	1	14,4 %	144,3	<0,0001	19,9%	273,8	<0,0001
a ₂	1	6,5 %	65,5	0,0005	18,5%	254,2	<0,0001
a ₃	1	3,2 %	31,6	0,0025	1,9%	26,6	0,0036
a ₁₂	1	0,1 %	1,4	0,2884	5,7%	78,4	0,0003
a ₁₃	1	0,4 %	3,6	0,1159	0,8%	11,2	0,0202
a ₂₃	1	2,1 %	21,4	0,0057	0,2%	2,1	0,2031
a ₁₁	1	1,3 %	12,7	0,0162	0,1%	1,2	0,3176
a ₂₂	1	1,5 %	15,2	0,0114	0,1%	1,9	0,2220
a ₃₃	1	1,6 %	15,8	0,0106	0,3%	3,9	0,1043

Concernant les différents termes des modèles, lorsque leurs valeurs p ont été inférieures à 0,05, ces termes ont pu être considérés comme significatifs. Pour le modèle de la dégradation de l'imidaclopride, seuls les termes X₁₂ et X₁₃ sont peu significatifs. En revanche, dans le cas de la dégradation du bitertanol, les termes non significatifs sont X₂₃, X₁₁, X₂₂ et X₃₃.

Aucun coefficient de premier ordre (a₁, a₂ et a₃) n'a été statistiquement non significatif. Par conséquent, tous les facteurs (durée, concentration en ozone dans le gaz, durée) ont été statistiquement significatifs.

Les équations peuvent donc être simplifiées de la sorte :

$$Y_1 = 0,897 + 0,134.X_1 + 0,090.X_2 + 0,063.X_3 - 0,073.X_2.X_3 - 0,059.X_1^2 - 0,064.X_2^2 - 0,065.X_3^2$$

$$Y_2 = 0,389 + 0,158.X_1 + 0,152.X_2 + 0,049.X_3 + 0,119.X_1.X_2 + 0,045.X_1.X_3$$

Les effets de chaque facteur seront décrits, par la suite, grâce au tracé des courbes de surface de réponse.

V.2.4. Illustration de l'effet des facteurs sur les réponses

Les surfaces de réponse en 3 dimensions ont été générées pour étudier les effets des différents facteurs et visualiser les effets combinés des facteurs sur les réponses des taux de dégradation de l'imidaclopride et du bitertanol. Les effets des différents facteurs sur les taux de dégradation sont représentés sur les surfaces de réponse (Figure V-6). Lorsque l'effet de deux facteurs a été tracé, le troisième facteur a été fixé à sa valeur codée égale à 0, c'est-à-dire : durée de 30 min, concentration en ozone de 58,5 g.m⁻³ CNTP et débit de 60 L.h⁻¹.

Concernant la dégradation de l'imidaclopride, les taux de dégradation ont été les plus faibles lorsque les valeurs codées des facteurs ont été fixées à -1. Les courbes de niveau ont présenté un profil de pic signifiant qu'il existe un maximum pour le taux de dégradation de l'imidaclopride. Les effets combinés de chaque paire de facteurs ont montré que les optima ont été prédits pour des valeurs codées proches de +1 pour la durée et la concentration en ozone dans le gaz et une valeur proche de 0 pour le débit de gaz. Les Figure V-6 b et c, correspondant respectivement aux couples débit-durée et débit-concentration en ozone, montrent que, pour une valeur fixe de durée ou de concentration en ozone, le taux de dégradation de l'imidaclopride évolue peu quelque soit le débit entrant dans le réacteur. Ces résultats confirment que le débit a très peu d'influence sur le taux de dégradation. En revanche, le profil de la courbe correspondant au couple durée-concentration en ozone dans le gaz (Figure V-6 a) a confirmé l'influence importante de ces deux coefficients sur le taux de dégradation de l'imidaclopride.

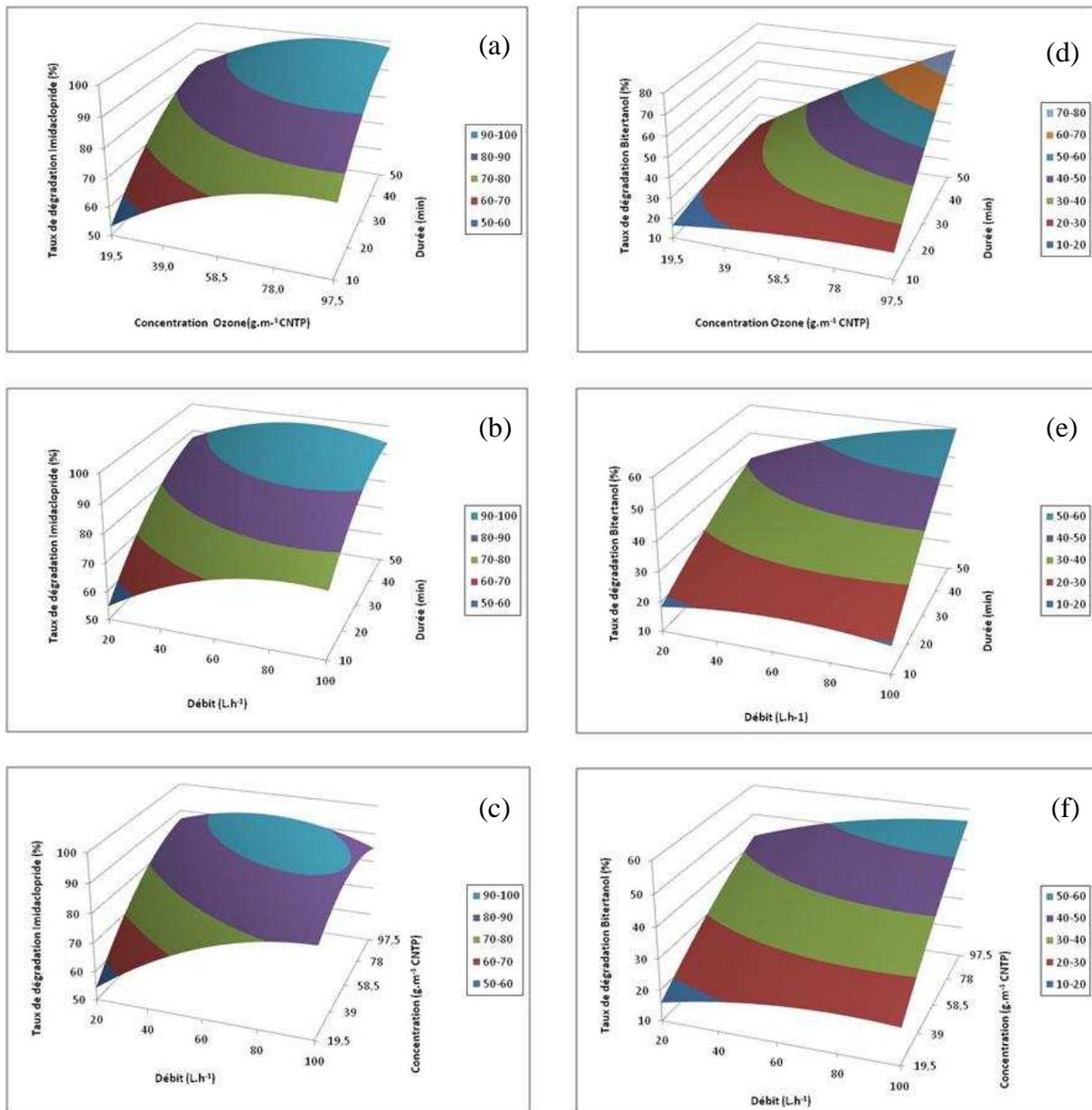


Figure V-6 : Surfaces de réponse représentant l'effet des facteurs sur les taux de dégradation de l'imidaclopride ((a), (b) et (c)) et du bitertanol (courbes de droite : (d), (e) et (f)).

En ce qui concerne la dégradation du bitertanol, le profil des courbes correspondant aux couples durée-concentration en ozone dans le gaz (d), durée-débit (e), concentration en ozone dans le gaz-débit (f) a été analysé. Pour la courbe (d), le minimum de dégradation est obtenu pour des valeurs codées de -1 pour le débit et la concentration en ozone dans le gaz. Par ailleurs, lorsque la valeur codée d'un des 2 facteurs est fixe à -1, le taux de dégradation évolue très peu quelque soit la valeur codée de l'autre facteur. En revanche, lorsque la valeur codée

des facteurs augmente conjointement, le taux de dégradation du bitertanol augmente très fortement. Par conséquent, cette courbe montre qu'il existe un effet combiné de la durée de traitement et de la concentration en ozone dans le gaz sur le taux de dégradation du bitertanol. Le profil des courbes (e) et (f) est assez proche de celui de (d), si ce n'est que, pour une valeur codée fixe à -1 pour le débit, le taux de dégradation du bitertanol augmente à mesure que la valeur codée des autres facteurs tend vers +1. Ceci montre que le débit a un effet beaucoup plus faible que les deux autres facteurs sur le taux de dégradation du bitertanol. Néanmoins, lorsque les valeurs codées des facteurs augmentent conjointement, le taux de dégradation du bitertanol augmente de manière très significative. Par conséquent, les 3 facteurs étudiés ont donc des effets combinés et il existe bien un maximum pour des valeurs codées de +1 pour les 3 facteurs. Ce maximum est toutefois local puisqu'il est à la limite des domaines expérimentaux.

Tableau V-7 : Valeurs prédites par le modèle et valeurs mesurées expérimentalement pour le taux de dégradation de l'imidaclopride et du bitertanol dans les conditions optimales déterminées par le plan d'expérience.

Variables	Taux de dégradation de l'imidaclopride (Y ₁)			Taux de dégradation du bitertanol (Y ₂)		
	Conditions de traitement	Valeur prédite	Valeur expérimentale	Conditions de traitement	Valeur prédite	Valeur expérimentale
Durée (X ₁)	51,4 min			50 min		
Concentration en ozone dans le gaz (X ₂)	82,3 g.m ⁻³ CNTP	99,4 %	98,9 %	97,5 g.m ⁻³ CNTP	87,0 %	87,8 %
Débit (X ₃)	55,6 L.h ⁻¹			100 L.h ⁻¹		

Les conditions optimales pour la dégradation de l'imidaclopride ont été déterminées au moyen du logiciel JMP (version 9.0.0). Le Tableau V-7 montre que le taux de dégradation de l'imidaclopride maximum prévu par l'analyse statistique est de 99,4 % pour une durée de 51,4 min, une concentration en ozone dans le gaz de 82,3 g.m⁻³ CNTP et un débit de 55,6 L.h⁻¹. L'optimum est légèrement en dehors du domaine expérimental. En conséquence, son

extrapolation reste encore possible d'autant plus que le facteur en dehors du domaine expérimental, la durée de traitement, est potentiellement modifiable. Le taux de dégradation du bitertanol maximal prédit par le modèle est de 87,0 % pour les conditions de traitement suivantes : une durée de 50 minutes, une concentration en ozone dans le gaz de 97,5 g.m⁻³ CNTP et un débit de 100 L.h⁻¹. Ces valeurs prédites ont ensuite été comparées avec les valeurs expérimentales mesurées. Ces dernières ont correspondu aux valeurs prédites.

Les résultats obtenus pour ce plan d'expérience ont montré que les 3 facteurs ont une influence sur les taux de dégradation des composés. Cependant, la durée de traitement et la concentration en ozone dans le gaz sont des facteurs beaucoup plus significatifs. Par ailleurs, il a été constaté que ces trois facteurs peuvent avoir des effets combinés pour accélérer la cinétique de dégradation des pesticides.

Les conditions d'ozonation appliquées sur les semences de blé tendre enrobées avec du Gaucho Blé[®] ont permis de dégrader, en règle générale, une grande partie des pesticides contenus dans les enrobages. En conséquence, certaines de ces conditions ont été étudiées, par la suite, pour le traitement d'autres semences enrobées.

V.3. APPLICATION DU TRAITEMENT A D'AUTRES SEMENCES ENROBEES

Le procédé d'ozonation développé dans le réacteur lit fixe s'est montré efficace pour le traitement de l'imidaclopride et du bitertanol : il a donc paru nécessaire de voir si cet outil peut être transposé à d'autres types de semences enrobées qui pourrait se retrouver en grand nombre dans le circuit des semences déclassées. Ainsi, deux autres types de semences enrobées ont été étudiés. Il s'agit de semences de blé tendre traitées avec de l'Austral Plus[®] et des semences de maïs traitées avec de l'Influx XL[®] qui ont déjà présentées au Paragraphe III.5 dans le Tableau III-4. Les principes actifs contenus dans l'enrobage Austral Plus[®] sont un fongicide, le fludioxonil, et un insecticide, le téfluthrine tandis que ceux contenus dans l'enrobage Influx XL[®] sont le fludioxonil et un insecticide, le métalaxyl-M. Les structures chimiques de ces trois composés sont présentées dans la Figure V-7. Le fludioxonil est une molécule commune aux deux enrobages. Par conséquent, au-delà de l'étude de la dégradation

de nouvelles molécules, il apparaît intéressant de comparer les taux de dégradation d'une même molécule sur deux espèces différentes.

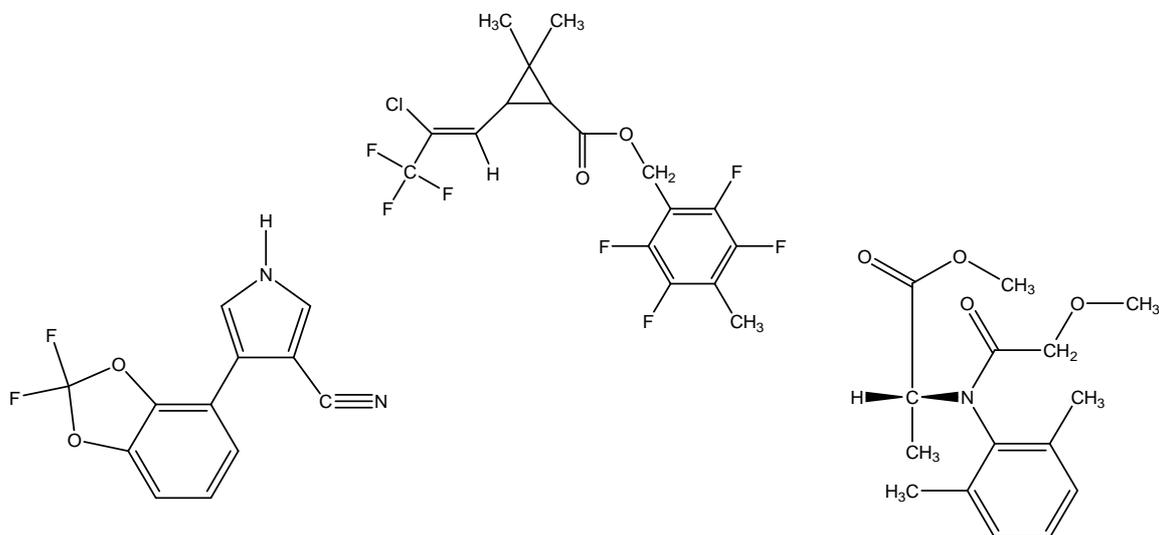


Figure V-7 : Structures chimiques du fludioxonil (à gauche), du téfluthrine (au centre) et du métalaxyl-M (à droite).

Les semences ont donc été ozonées selon 3 conditions déjà appliquées lors du plan d'expériences, dans le but de comparer les taux de dégradation des nouvelles molécules avec ceux de l'imidaclopride et du bitertanol. En effet, les conditions A, B et C correspondent respectivement aux conditions utilisées lors des essais n°6, 1 et 8 du plan d'expériences (Tableau V-8).

Tableau V-8 : Conditions d'ozonation pour l'ozonation du fludioxonil, du téfluthrine et du métalaxyl-M sur semences enrobées.

Conditions	Durée (min)	Concentration en ozone dans le gaz (g.m ⁻³ CNTP)	Débit (L.h ⁻¹)
A	10	19,5	60
B	30	58,5	60
C	50	97,5	60

Les semences ont été humidifiées avant ozonation à hauteur de 10 % par rapport à la masse de semences (le taux d'humidification a été réduit à 5 % pour le maïs car cette espèce absorbe

peu d'eau). Les semences ont ensuite été placées dans le réacteur lit fixe où elles ont été ozonées selon les conditions présentées dans le Tableau V-8.

Les taux de dégradation des différentes molécules sont résumés dans le Tableau V-9.

Tableau V-9 : Taux de dégradations du fludioxonil, du téfluthrine et du métalaxyl-M selon différentes conditions d'ozonation.

Conditions	Blé tendre Austral Plus®		Maïs Influx XL	
	Fludioxonil (%)	Téfluthrine (%)	Fludioxonil (%)	Métalaxyl-M (%)
A	79,0	39,8	82,2	25,8
B	96,8	71,0	94,2	51,2
C	98,0	75,8	97,0	74,9

Le Tableau V-9 montre que le réacteur d'ozonation en lit fixe a permis de dégrader tous les pesticides étudiés. En effet, même dans les conditions les moins oxydantes (conditions A), les taux de dégradations ont tous été d'au moins 25,8 % (métalaxyl-M) et le taux de dégradation du fludioxonil sur maïs enrobés a même atteint 82,2 %. Par ailleurs, dans les conditions où la durée de traitement et la concentration en ozone dans le gaz ont augmenté, les taux de dégradation de tous les pesticides ont logiquement augmenté. Dans les conditions les plus oxydantes (conditions C), les taux de dégradation ont été les plus importants : celui du fludioxonil a été supérieure à 97,0 % sur les deux types de semences étudiées tandis que les taux de dégradation du téfluthrine et du métalaxyl-M ont été proches de 75 %.

Par ailleurs, les taux de dégradation du fludioxonil sur le maïs enrobé Influx XL® et sur le blé tendre enrobé Austral Plus® ont été similaires, quelles que soient les conditions de traitement. Aucun effet matrice dû à la variété de la semence n'a été constaté.

Les résultats obtenus sur quelques molécules, contenus dans les enrobages de deux espèces de céréales, montrent que ce procédé est capable de dégrader chacune des molécules étudiées. Par conséquent, ce procédé a très certainement un fort potentiel pour dégrader les différentes semences enrobées déclassées. Néanmoins, la taille de ce réacteur limite considérablement la quantité de semences qui peut y être traitée. Par conséquent, un nouveau réacteur a été conçu afin d'ozoner une quantité plus importante de semences enrobées.

V.4. ESSAIS D'OZONATION SUR UN REACTEUR A PLATEAU VIBRANT

Un second réacteur d'ozonation, décrit sur la Figure II-5, a été conçu, au cours de la thèse, par une équipe du Département Génie productique de l'Institut Catholique des Arts et Métiers de Toulouse (ICAM Toulouse). Ce réacteur a été dimensionné pour traiter entre 2 et 5 kg de semences enrobées. Les semences, préalablement humidifiées, sont placées dans un plateau perforé, lui-même situé sous une cloche en acier inoxydable qui assure une étanchéité du système. Au cours de l'ozonation, le plateau est mis à vibrer afin de permettre aux graines d'être légèrement agitées. Le problème du réacteur en lit fixe étant que les graines immobiles sont constamment en contact entre elles ou avec la surface en verre du réacteur. Par conséquent, certaines zones des graines ont un contact moins important avec l'ozone. L'intérêt de l'agitation des graines est donc de permettre à toute la surface de la graine d'être en contact avec l'ozone et d'avoir un traitement homogène sur toute la surface de grain.

Les essais d'ozonation sur ce réacteur ont été réalisés sur 2 kg de semences enrobées préalablement humidifiées et traitées pendant 30 minutes avec un débit de gaz de 250 L.h^{-1} et une concentration en ozone dans le gaz de $97,5 \text{ g.m}^{-3}$ CNTP. Une surpression de 200 mbar est maintenue dans le réacteur afin de favoriser la dissolution de l'ozone dans le film aqueux.

Les taux de dégradation des différents pesticides ont été comparés avec ceux obtenus en réacteur lit fixe avec des durées de traitement et des concentrations en ozone dans le gaz identiques et un débit de 60 L.h^{-1} (Tableau V-10). En revanche, la surpression a été maintenue à 400 mbar dans le réacteur en lit fixe.

Tableau V-10 : Taux de dégradation des produits phytosanitaires sur semences enrobées par ozonation dans le réacteur en lit fixe et dans le réacteur à plateau vibrant. Imi. : Imidaclopride ; Bit. : Bitertanol ; Flu. : Fludioxonil ; Téf. : Téfluthrine ; Mét. : Métalaxyl-M.

	Blé tendre Gaucho Blé®		Blé tendre Austral Plus®		Maïs Influx XL®	
	Imi. (%)	Bit. (%)	Flu. (%)	Téf. (%)	Mét. (%)	Flu. (%)
Réacteur lit fixe	88,7	42,2	96,1	71,8	58,5	95,5
Réacteur pilote	67,2	22,2	86,7	51,8	46,8	87,0

Le Tableau V-10 montre que tous les produits phytosanitaires ont été dégradés lorsque l'ozonation a été effectuée dans le réacteur à plateau vibrant. Les taux de dégradation des pesticides ont été compris entre 22,2 et 87,0 % pour une ozonation dans le réacteur à plateau vibrant alors qu'ils ont été compris entre 42,2 et 96,1 % dans le réacteur en lit fixe. Le bitertanol a été le produit le moins dégradé quelque soit le réacteur utilisé. Le fludioxonil a eu le taux de dégradation le plus élevé (environ 87 % dans le réacteur à plateau vibrant et environ 96 % dans le réacteur en lit fixe) et son taux de dégradation a peu varié d'une semence à une autre.

En revanche, les taux de dégradation de tous les pesticides ont été significativement inférieurs lors de l'ozonation dans le réacteur à plateau vibrant malgré l'agitation. Par conséquent, d'autres paramètres sont sans doute limitant lors de l'ozonation dans le réacteur à plateau vibrant. La diminution de la surpression maintenue dans le réacteur a certainement été à l'origine de la diminution des taux de dégradation lors de la transposition de la réaction en lit fixe vers le réacteur à plateau vibrant. En effet, la surpression qui était de 400 mbar dans le réacteur en lit fixe a dû être diminuée à 200 mbar lors du passage vers le réacteur à plateau vibrant du fait de la fragilité des joints en silicone pour des surpressions élevées. En diminuant de la sorte la pression d'utilisation du réacteur, la pression partielle de l'ozone dans le gaz a également diminué. Cela a donc entraîné une diminution de la concentration en ozone dissous dans le film aqueux et, du même coup, de la cinétique de dégradation des pesticides enrobés. Par conséquent, l'outil développé pour la réaction d'ozonation de semences enrobées

sur plateau vibrant ne semble donc pas être véritablement adapté pour un traitement rapide et efficace.

V.5. CONCLUSION

L'étude de la dégradation par l'ozone de produits phytosanitaires (imidaclopride et bitertanol) présents dans les enrobages a notamment permis de montrer, dans un premier temps, la nécessité d'humidifier les semences avant le traitement. En effet, dans les conditions dites sèches, c'est-à-dire sans humidification préalable, la dégradation des molécules actives est rendue difficile par le fait que le transfert est limitant entre l'ozone gazeux et les molécules à oxyder. Une étape d'humidification de la graine, avant l'ozonation, a donc été rajoutée afin de former un film aqueux autour de la semence dans lequel l'ozone s'est solubilisé. Cette étape a donc favorisé la réaction entre l'ozone dissous dans le film aqueux et les pesticides. Cependant, au-delà d'un certain taux d'humidification (7 % de la masse initiale de graines), la cinétique n'a apparemment pas été accélérée. Par conséquent, le taux d'humidification de la graine est un paramètre très favorable à la dégradation des pesticides, notamment entre 7 et 10 %. En revanche, les travaux sur le débit de gaz ont montré que ce facteur a eu peu d'influence sur les taux de dégradation dans le domaine expérimental étudié.

Par la suite, les cinétiques de dégradation de l'imidaclopride et du bitertanol ont été suivies pour deux concentrations différentes. Comme pour la dégradation de ces composés en solution, une loi cinétique a été établie et montre que, pour chaque pesticide, l'ordre global de la réaction est de 2, avec des ordres partiels de 1 pour l'ozone et de 1 pour le pesticide.

La mise en place d'un plan d'expériences a permis de confirmer l'effet de certains paramètres (durée de traitement, concentration en ozone dans le gaz et débit). Ainsi, cette étude a permis de confirmer que le débit de gaz a eu beaucoup moins d'influence sur les taux de dégradations que les deux autres facteurs. Cependant, des effets combinés ont été observés lorsque les facteurs ont été appliqués à des valeurs élevées. Ce plan d'expériences a notamment permis de déterminer des conditions opératoires pour une dégradation optimale de l'imidaclopride et du bitertanol.

Par ailleurs, l'ozonation avec le réacteur en lit fixe a été appliquée à d'autres semences enrobées (blé tendre et maïs). Les résultats ont montré que l'outil utilisé a pu dégrader tous les pesticides étudiés. Par ailleurs, pour un même pesticide (le fludioxonil) présent sur deux types de semences enrobées (Austral Plus[®] et Influx XL[®]), les taux de dégradation ont été similaires. Par conséquent, il semble que ce procédé soit applicable à toutes sortes de semences enrobées déclassées.

Compte tenu de la faible capacité du réacteur en lit fixe, des essais ont été menés sur différentes semences enrobées dans un réacteur à plateau vibrant de plus grande capacité. Les composés étudiés ont également tous été dégradés dans ce réacteur. Comme pour les essais d'ozonation en lit fixe, le fludioxonil, présent sur deux types de semences enrobées, a eu des taux de dégradation similaires quelque soit la variété de la semence. Cependant, pour tous les produits phytosanitaires, les taux de dégradation ont tous été inférieurs à ceux obtenus avec le réacteur en lit fixe. Ces résultats peuvent être expliqués par le fait que l'ozonation dans le réacteur à plateau vibrant a été effectuée dans des conditions défavorables à la cinétique : les caractéristiques physiques du réacteur ont imposé une surpression maximale de 200 mbar dans l'enceinte du réacteur, ce qui a limité la dissolution de l'ozone dans le film et *a fortiori* sa réactivité. Par conséquent, le réacteur mis au point n'a pas permis d'atteindre des taux de dégradation aussi bons que le réacteur en lit fixe. Il a toutefois permis de montrer que le traitement par ozonation de semences enrobées peut être accomplie à des échelles supérieures et a offert des perspectives intéressantes pour une transposition à l'échelle industrielle.

Conclusion générale

L'objectif de cette thèse était de mettre en œuvre un procédé d'ozonation pour la dégradation de produits phytosanitaires sur des semences enrobées déclassées. Quatre axes de recherche ont guidé l'étude présentée dans ce mémoire :

- ✓ Une étude bibliographique complète a notamment permis de mieux connaître les composés présents dans les enrobages. Cette étude a également été nécessaire à la compréhension des mécanismes réactionnels et des phénomènes inhérents à la mise en œuvre d'une réaction d'ozonation en solution aqueuse.
- ✓ Une méthode d'extraction de pesticides présents sur des semences enrobées a été développée dans le but de quantifier et de suivre la teneur de ces pesticides au cours du traitement.
- ✓ Une investigation expérimentale préliminaire de l'ozonation de pesticides en solution aqueuse dans un réacteur agité a permis de connaître le comportement cinétique de l'imidaclopride et du bitertanol mais aussi d'identifier les différents produits de dégradation par l'ozone de ces deux pesticides.
- ✓ Enfin, l'application de la réaction d'ozonation aux pesticides sur semences enrobées a conduit à examiner différents paramètres déterminants et à valider le procédé.

Mise au point d'une méthode d'extraction de pesticides sur semences enrobées

Cette partie a permis de mettre au point et de développer une méthode pour extraire les pesticides sur un lot de semences enrobées, ce qui n'avait jamais été décrit dans la littérature. Ainsi, deux méthodes d'extraction différentes ont été retenues, l'extraction par ultrasons et l'extraction par liquide pressurisé.

La nature du solvant et de la température d'extraction ont été étudiés. Ainsi, l'acétonitrile a été considéré comme le meilleur solvant extractant. Par ailleurs, l'augmentation de la température pour la méthode d'extraction par liquide pressurisé a montré son effet positif sur les taux de recouvrement.

L'application sur les semences enrobées a montré que la température a d'autant plus d'influence lorsque les semences enrobées contiennent des agents polymériques pouvant limiter les taux de recouvrement des pesticides. Ainsi, la méthode d'extraction retenue pour les pesticides sur les semences enrobées a été l'extraction par liquide pressurisé avec l'acétonitrile à 120 °C.

Mise en œuvre de l'ozonation de pesticides en solution aqueuse

La réaction d'ozonation en solution aqueuse, mélange eau-acétonitrile (99:1, v/v), a été étudiée dans un réacteur liquide-gaz semi-continu agité. En absence de réaction chimique, l'étude du transfert de l'ozone et de sa décomposition a montré que les valeurs des paramètres de transfert ont été similaires avec les valeurs généralement admises dans l'eau ultrapure.

Les cinétiques d'ozonation des pesticides ont été étudiées pour une solution de standard d'imidaclopride ou de bitertanol et une solution d'enrobage diluée contenant ces deux pesticides. L'ordre des réactions par rapport aux pesticides ont été égaux à 1. Des expériences complémentaires d'ozonation à différentes concentrations d'ozone dans le gaz ont permis de déterminer l'ordre 1 de la réaction par rapport à l'ozone. Plusieurs produits de dégradation ont été identifiés et quantifiés. Pour la plupart, leurs concentrations ont augmenté pendant les 20 premières minutes de réaction puis ont diminué jusqu'à la fin de l'ozonation (90 minutes). Par ailleurs, les cinétiques se sont avérées plus lentes dans les solutions d'enrobage, notamment pour le bitertanol. La raison évoquée a été l'effet des radicaux sur la dégradation. Cela a été mis en évidence par l'ozonation de standards en solution en présence de tert-butanol (composé piègeur de radicaux) : les cinétiques ont été semblables à celles obtenues dans la solution d'enrobage. Une fois, les lois cinétiques des réactions d'ozonation établies, le régime réactionnel a été caractérisé comme étant uniquement cinétique.

Enfin, les produits de dégradation de l'imidaclopride et du bitertanol par ozonation ont été collectés à la sortie du système HPLC avant d'être analysés par ESI(+)-MS afin de déterminer leurs structures. Ainsi, 11 produits de dégradation de l'imidaclopride et 4 produits de dégradation du bitertanol ont été caractérisés. Un schéma des voies de dégradation a été proposé pour chacun des pesticides.

Application du traitement à l’ozone sur les semences enrobées

La réaction d’ozonation de pesticides sur semences enrobées (250 g) a été mise en œuvre dans un réacteur en lit fixe.

Dans un premier temps, l’influence du taux d’humidification sur les taux de dégradation a été étudiée et s’est avéré être un paramètre important. Les taux de dégradation ont augmenté à mesure que le taux d’humidification de la graine a augmenté, ce qui a permis d’émettre l’hypothèse suivante : lors de l’humidification, il s’est formé un film aqueux dans lequel l’ozone a pu se solubiliser et réagir avec les composés enrobés. Ainsi, sans humidification préalable, les taux de dégradation des pesticides ont été très faibles pour l’imidaclopride et le bitertanol. Néanmoins, au-delà de 7 %, le taux de dégradation n’a pas évolué. En effet, en augmentant le taux d’humidification, l’épaisseur du film aqueux s’accroît. Par conséquent, la probabilité que l’ozone dissous se décompose dans le film aqueux avant d’oxyder les molécules cibles s’accroît.

Les cinétiques de dégradation de l’imidaclopride et du bitertanol sur semences enrobées ont été suivies pour deux concentrations différentes d’ozone dans le gaz. Comme pour l’ozonation en solution aqueuse, les ordres partiels de la réaction ont été de 1 pour l’ozone et de 1 pour chacun des pesticides.

Par ailleurs, la mise en place d’un plan d’expériences avec 3 facteurs (durée de traitement, concentration en ozone dans le gaz et débit de gaz) a permis de mettre en évidence l’influence de chacun des facteurs sur les taux de dégradations de l’imidaclopride et du bitertanol. Ainsi, l’analyse des réponses obtenues pour le plan d’expériences et la construction d’un modèle mathématique de prévision des résultats a montré que le débit avait peu d’influence sur les taux de dégradation, contrairement à la concentration en ozone dans le gaz et la durée de traitement. Des effets combinés entre tous les facteurs ont toutefois été constatés. Les conditions optimales de la réaction dans le domaine expérimental ont été les suivantes :

- ✓ Pour l’imidaclopride : 51,4 min ; 82,3 g.m⁻³ CNTP ; 55,6 L.h⁻¹,
- ✓ Pour le bitertanol : 50 min ; 97,5 g.m⁻³ CNTP ; 100 L.h⁻¹.

Le procédé d'ozonation des pesticides sur semences enrobées a ensuite été utilisé pour la dégradation d'autres produits phytosanitaires présents sur d'autres semences enrobées et s'est avéré très efficace sur tous les pesticides étudiés. Par ailleurs, la dégradation d'un même produit phytosanitaire, le fludioxonil, présents sur deux espèces végétales différentes (blé tendre et maïs) a présenté des taux équivalents. Par conséquent, ce procédé en réacteur en lit fixe peut être appliqué à un grand nombre de semences enrobées. Des essais ont été effectués, par la suite, avec un réacteur à plateau vibrant, d'une capacité de 2 kg. Bien que les taux de dégradation aient été inférieurs à ceux obtenus avec le réacteur en lit fixe, probablement à cause de la diminution de la surpression appliquée dans le réacteur (200 mbar contre 400 mbar), ce réacteur a permis de dégrader en grande partie tous les produits phytosanitaires des semences enrobées.

Perspectives

Les perspectives ouvertes par ces travaux s'orientent vers l'industrialisation du procédé d'ozonation de pesticides sur semences enrobées. Ainsi, selon les estimations sur les semences déclassées, l'objectif est de créer un outil, au fonctionnement continu, capable de traiter l'ensemble des semences déclassées françaises, soit environ 15 000 tonnes par an. Une difficulté persiste, la nature du réacteur continu à mettre en œuvre, devant permettre la circulation d'un solide (le grain) et du gaz à contre-courant (oxygène + ozone) tout en assurant une étanchéité absolue. En effet le gaz doit être traité (décomposition thermique de l'ozone) avant d'être rejeté à l'atmosphère.

Table des illustrations

LISTES DES TABLEAUX

Tableau I-1: Principales caractéristiques physico-chimiques et toxicologiques de l'imidaclopride..... 13

Tableau I-2: Principales caractéristiques physico-chimiques et toxicologiques du bitertanol. 15

Tableau I-3 : Principales caractéristiques physico-chimiques et toxicologiques de l'anthraquinone..... 17

Tableau I-4 : Principales constantes physiques et thermodynamiques de l'ozone. 26

Tableau I-5: Potentiel d'oxydation relatif par rapport au potentiel de l'électrode standard à hydrogène [Bigda, 1995 ; Hunsberger, 1977]. 27

Tableau I-6 : Solubilité de l'ozone dans l'eau. 28

Tableau I-7: Constantes cinétiques de certains composés organiques 38

Tableau I-8: Expressions de la valeur de $k_{L,a}$ 52

Tableau III-1: Caractéristiques des deux conditions analytiques étudiées..... 84

Tableau III-2 : Résolutions des produits phytosanitaires étudiés pour les deux systèmes chromatographiques. 86

Tableau III-3: Matrices et pesticides étudiés ainsi que les teneurs en pesticides des semences pour les tests de recouvrement. 87

Tableau III-4: Matrices étudiées avec les enrobages et les teneurs en pesticides des semences enrobées..... 92

Tableau III-5: Taux de recouvrement (Rec.) et répétabilités (RSD) pour l'extraction des pesticides sur semences enrobées assistée par ultrasons. 93

Tableau III-6: Taux de recouvrement (Rec.) et répétabilités (RSD) pour l'extraction des pesticides sur semences enrobées par liquide pressurisé. 94

Tableau IV-1 : Calcul des valeurs du critère de Hatta pour l'ozonation de l'imidaclopride et du bitertanol..... 118

Tableau IV-2 : Ions précurseurs et ions fragments avec leurs abondances relatives (A, %) en MS, MS² et MS³ pour les produits de dégradation de l'imidaclopride. n.d. : non déterminé. 120

Tableau IV-3 : Ions précurseurs et ions fragments avec leurs abondances relatives (A, %) en MS, MS² et MS³ pour les produits de dégradation du bitertanol. n.d. : non déterminé. 140

Tableau V-1: Domaine expérimental des facteurs étudiés..... 164

Tableau V-2 : Expériences du PEX selon le plan de Box-Behnken à 3 facteurs. 165

Tableau V-3 : Réponses obtenues dans le cadre du PEX pour l'ozonation des semences.	167
Tableau V-4: Coefficients des équations du second degré pour chaque réponse lors de l'ozonation des semences.....	168
Tableau V-5: Analyse de la variance du modèle.....	171
Tableau V-6 : Analyse de variance (ANOVA) pour le modèle quadratique de surface de réponse obtenu avec le plan d'expériences.	172
Tableau V-7 : Valeurs prédites par le modèle et valeurs mesurées expérimentalement pour le taux de dégradation de l'imidaclopride et du bitertanol dans les conditions optimales déterminées par le plan d'expérience.	175
Tableau V-8 : Conditions d'ozonation pour l'ozonation du fludioxonil, du téfluthrine et du métalaxyl-M sur semences enrobées.....	177
Tableau V-9 : Taux de dégradations du fludioxonil, du téfluthrine et du métalaxyl-M selon différentes conditions d'ozonation.....	178
Tableau V-10 : Taux de dégradation des produits phytosanitaires sur semences enrobées par ozonation dans le réacteur en lit fixe et dans le réacteur à plateau vibrant. Imi. : Imidaclopride ; Bit. :Bitertanol ; Flu. : Fludioxonil ; Téf. : Téfluthrine ; Mét. : Métalaxyl-M.	180

LISTE DES FIGURES

Figure I-1: Formule chimique de l'imidaclopride	12
Figure I-2: Formule chimique du bitertanol.....	14
Figure I-3 : Formule chimique de l'antraquinone.....	16
Figure I-4 : Colorant utilisé dans les solutions d'enrobage.....	18
Figure I-5 : Formule chimique de l'agent polymérique polyoxyethylene oleyl ether.	18
Figure I-6 : Schéma d'un générateur d'ozone par décharge électrique Corona	22
Figure I-7: Photographie représentant deux générateurs d'ozone utilisés pour le traitement des eaux.	23
Figure I-8: Spectre d'absorption de l'ozone entre 200 et 300 nm [Calvert et Pitts, 1966].	25
Figure I-9: Formes mésomères de l'ozone [Bailey, 1978]	28

Figure I-10: Mécanisme de cycloaddition 1,3-dipolaire sur une liaison éthylénique en solution aqueuse	29
Figure I-11: Mécanisme de cycloaddition 1,3-dipolaire sur un composé benzénique.....	30
Figure I-12: Mécanisme général d'insertion 1,3-dipolaire de l'ozone dans une liaison C-H ...	31
Figure I-13: Insertion 1,3-dipolaire: cas des alcools primaires	31
Figure I-14: Insertion 1,3-dipolaire: cas des alcools secondaires	32
Figure I-15: Insertion 1,3-dipolaire: cas des aldéhydes	32
Figure I-16: Substitution électrophile sur composés aromatiques	33
Figure I-17: Formation d'une amine hydroxylée par ozonation d'amine.	34
Figure I-18: Ozonation de l'intermédiaire amine hydroxylée [Bailey et al., 1968].	35
Figure I-19: Formation d'amine-N-oxyde et d'hydroxylamine par ozonation d'une amine.	35
Figure I-20: Formation d'acide carboxylique par ozonation d'amine primaire et de son dérivé hydroxylamine [Elmghari-Tabib, 1982].	36
Figure I-21: Formation de nitroalcane par ozonation d'amine primaire.....	37
Figure I-22: Schéma du réacteur d'ozonation de grains Oxygreen® [Yvin et al., 2001].....	44
Figure I-23: Transfert de l'ozone dans le grain de blé selon Feillet [Feillet, 2000]	47
Figure I-24: Modèle du double film de Lewis (Lewis, 1924).....	49
Figure II-1: Schéma de principe de la collecte de fraction sur le passeur d'échantillons WPS-3000TFC.....	70
Figure II-2 : Installation d'ozonation.	72
Figure II-3: Schéma du réacteur gaz-liquide semi-continu agité.	74
Figure II-4: Réacteur gaz-solide à lit fixe.	75
Figure II-5: Réacteur solide-gaz à plateau vibrant.	77
Figure III-1: Chromatogrammes d'un mélange des différents standards de pesticides obtenus dans les conditions analytiques définies dans le Tableau III-1 avec (a) la colonne Turbo ODS 80 et (b) la colonne Luna C18(2). Pics: *, anthraquinone; 1, imidaclopride; 2, métalaxyl-M; 3, fludioxonil; 4, bitertanol; 5, téfluthrine.	85
Figure III-2: Effet de la nature du solvant sur l'extraction de pesticides contenus dans les enrobages (a) de blé tendre et (b) de maïs.....	88
Figure III-3: Effet de la température sur l'efficacité de l'extraction par liquide pressurisé (a) pour le blé et (b) pour le maïs. Conditions d'extraction: acétonitrile (flush 60 %), 2 cycles, 5 minutes de préchauffage, 5 minutes de temps statique.	90

Figure IV-1: Décomposition de l'ozone dissous à l'arrêt du gaz pour une ozonation préalable avec $[O_3]_{ge} = 90 \text{ g.m}^{-3}$ CNTP. Encadré: Illustration de l'ordre 1 de réaction pour la décomposition de l'ozone dissous 100

Figure IV-2: Evolution de $[O_3]_l$ durant l'ozonation du solvant eau-acétonitrile (99:1, v/v). Encadré: Détermination du paramètre global de transfert $k_{L.a}$ 101

Figure IV-3: Evolution de la dégradation de l'imidaclopride par l'ozone dans une solution de standard (losange) et une solution de Gaucho Blé® diluée (triangle) en fonction du temps. L'encadré montre la transformation de $\ln ([IMI]/[IMI]_0)$ en fonction du temps. $[IMI]_0 = 39 \mu\text{g.mL}^{-1}$ 105

Figure IV-4: Chromatogrammes de solutions d'imidaclopride ozonées obtenus à une longueur d'onde de 254 nm. (a), (b) et (c) représentent les chromatogrammes d'une solution de standard d'imidaclopride respectivement après une durée d'ozonation de 0, 25 et 90 minutes. (d), (e) et (f) représentent les chromatogrammes de la solution d'enrobage diluée après une durée de traitement de 0, 25 et 90 minutes. $[IMI]_0 = 39 \mu\text{g.mL}^{-1}$ 106

Figure IV-5: Evolution de l'aire des pics des produits de dégradation par ozonation de l'imidaclopride détectés à 254 nm en fonction de la durée d'ozonation. 107

Figure IV-6 : Evolution de la dégradation du bitertanol par l'ozone dans une solution de standard (triangle) et une solution de Gaucho Blé® diluée (carré) en fonction du temps. L'encadré montre la transformation de $\ln ([BIT]/[BIT]_0)$ en fonction du temps. $[BIT]_0 = 8,4 \mu\text{g.mL}^{-1}$ 108

Figure IV-7 : Chromatogrammes des solutions de bitertanol ozonées obtenus à une longueur d'onde de 254 nm. (a), (b) et (c) représentent les chromatogrammes d'une solution de standard de bitertanol respectivement après une durée d'ozonation de 0, 15 et 90 minutes. (d), (e) et (f) représentent les chromatogrammes de la solution d'enrobage diluée après une durée de traitement de 0, 25 et 90 minutes. $[BIT]_0 = 8,4 \text{ mg.L}^{-1}$ 110

Figure IV-8 : Evolution de l'aire des pics des produits de dégradation détectés à 254 nm en fonction de la durée d'ozonation pour une solution de standard de bitertanol. 111

Figure IV-9 : Détermination des cinétiques d'ozonation de l'imidaclopride (losange) et du bitertanol (carré) en présence de tert-butanol (TBA). $[IMI]_0 = 39 \mu\text{g.mL}^{-1}$; $[BIT]_0 = 8,4 \mu\text{g.mL}^{-1}$; $[TBA]_0 = 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ 112

Figure IV-10: Evolution de la dégradation de l'imidaclopride dans une solution d'enrobage Gaucho Blé® diluée pour trois concentrations en ozone différentes dans le gaz entrant: 90 g.m^{-3}

³ CNTP (triangle), 45 g.m ⁻³ CNTP (carré), 22,5 g.m ⁻³ CNTP (cercle). L'encadré montre la transformation linéaire de $\ln ([IMI]/[IMI]_0)$ en fonction du temps pour les trois concentrations.....	114
Figure IV-11 : Evolution de la dégradation du bitertanol dans une solution d'enrobage Gaucho Blé [®] diluée pour trois concentrations en ozone différentes dans le gaz entrant: 90 g.m ⁻³ CNTP (triangle), 45 g.m ⁻³ CNTP (carré), 22,5 g.m ⁻³ CNTP (cercle). L'encadré montre la transformation linéaire de $\ln ([BIT]/[BIT]_0)$ en fonction du temps pour les trois concentrations.....	116
Figure IV-12: Evolution de la concentration en ozone en entrée (rond), en sortie (carré) de réacteur et dans la phase liquide (triangle) lors de l'ozonation d'une solution de Gaucho Blé [®] diluée avec une concentration en ozone dans le gaz entrant fixée à 90 g.m ⁻³ CNTP.....	119
Figure IV-13 : Proposition de voies de fragmentation de l'ion précurseur de l'imidaclopride en différents ions de rapport m/z 212, m/z 210 et m/z 209.....	123
Figure IV-14: Proposition de voies de fragmentation de l'ion moléculaire de l'imidaclopride à m/z 256 en fragments à m/z 210 et m/z 175.	124
Figure IV-15 : Structure du 6-chloronicotinaldéhyde DP2	125
Figure IV-16 : Structure proposée pour le produit DP3	125
Figure IV-17 : Voie de fragmentation proposée pour le produit DP3	126
Figure IV-18 : Structures proposées pour le produit de dégradation DP4	126
Figure IV-19 : Voies de fragmentations proposées pour les ions à m/z 244 formés à partir des ions parents à m/z 288 de $[DP4a + H]^+$ (à gauche), $[DP4b + H]^+$ (au centre) et $[DP4c + H]^+$ (à droite).	127
Figure IV-20: Formation de dérivés dihydroxylés deutérés DP4a-3d , DP4b-3d et DP4-2d par ozonation de l'imidaclopride deutéré.....	128
Figure IV-21 : Structure de l'acide 6-chloronicotinique DP5	128
Figure IV-22: Fragmentation de l'ion $[DP5 + H]^+$ en ion de rapport m/z 140 $[DP5 + H-18]^+$	129
Figure IV-23 : Structure de l'ion fragment à m/z 126.....	130
Figure IV-24 : Structures proposées pour le produit de dégradation DP7	130
Figure IV-25 : Voies de fragmentations proposées pour les ions à m/z 228 formés à partir des ions parents à m/z 272 de $[DP7a + H]^+$ (à gauche), $[DP7b + H]^+$ (au centre) et $[DP7c + H]^+$ (à droite).	131

Figure IV-26 : Structure proposée du produit DP8	132
Figure IV-27 : Proposition de structures des fragments à m/z 113.....	132
Figure IV-28 : Fragments à m/z 126, m/z 140 et m/z 169 des produits de dégradation DP9 , DP10 et DP12	133
Figure IV-29 : Structures proposées pour les produits DP9 , DP10 et DP12	134
Figure IV-30 : Structures proposées du produit de dégradation DP11	135
Figure IV-31 : Voies de fragmentations proposées pour les ions à m/z 242 formés à partir des ions parents à m/z 286 de [DP11a + H] ⁺ (à gauche), [DP11b + H] ⁺ (à droite).	136
Figure IV-32 : Structure du (6-chloro-3-pyridinyl)-méthanamine DP13	136
Figure IV-33 : Schéma de dégradation de l'imidaclopride par ozonation.	139
Figure IV-34 : Fragment à m/z 171.....	141
Figure IV-35 : Structure proposée du produit DP14	142
Figure IV-36 : Fragmentation de l'ion précurseur de DP14 et des ions fragments identifiés à m/z 309 et m/z 211.	142
Figure IV-37 : Structure proposée du produit de dégradation DP15	143
Figure IV-38 : Voies de fragmentations du produit DP15 en ions de rapport m/z 237, m/z 219 et m/z 163.	144
Figure IV-39 : Structure proposée pour le produit de dégradation DP16	144
Figure IV-40 : Fragment à m/z 139.....	145
Figure IV-41 : Structure proposée du produit de dégradation DP17	145
Figure IV-42 : Schéma de dégradation du bitertanol par ozonation.	147
Figure V-1: Influence du taux d'humidification des semences sur les taux de dégradation de l'imidaclopride et du bitertanol.....	154
Figure V-2: Influence du débit de gaz sur le taux de dégradation des pesticides.	156
Figure V-3: Evolution du taux de dégradation de l'imidaclopride et du bitertanol en fonction de la durée de traitement à l'ozone pour une concentration en ozone dans le gaz entrant élevée. Encadré : illustration de la cinétique d'ordre 1 pour la dégradation des pesticides. $[O_3]_{ge} = 78$ $g.m^{-3}$ CNTP et $Q_{ge} = 100 L.h^{-1}$	158
Figure V-4: Evolution du taux de dégradation de l'imidaclopride et du bitertanol en fonction de la durée de traitement à l'ozone pour une concentration en ozone dans le gaz entrant moyenne. Encadré : illustration de la cinétique d'ordre 1 pour la dégradation des pesticides. $[O_3]_{ge} = 39 g.m^{-3}$ CNTP et $Q_{ge} = 100 L.h^{-1}$	160

Figure V-5: Comparaison des valeurs expérimentales et des valeurs calculées pour les taux de dégradation de l'imidaclopride (carré) et du bitertanol (losange) dans le blé tendre enrobé Gaucho Blé. Les symboles pleins représentent les résultats expérimentaux et les symboles vides représentent les valeurs prédites. 169

Figure V-6 : Surfaces de réponse représentant l'effet des facteurs sur les taux de dégradation de l'imidaclopride ((a), (b) et (c)) et du bitertanol (courbes de droite : (d), (e) et (f))...... 174

Figure V-7 : Structures chimiques du fludioxonil (à gauche), du téfluthrine (au centre) et du métalaxyl-M (à droite). 177

Références bibliographiques

AHMED N. E., KANAN H. O., INANAGA S., MA Y. Q., SUGIMOTO Y., **2001**, *Impact of pesticide seed treatments on aphid control and yield of wheat in the Sudan*, *Crop Prot.*, 20, 929-934.

ALLEN B., WU J., DOAN H., **2003**, *Inactivation of Fungi Associated with Barley Grain by Gaseous Ozone*, *J. Environ. Sci. Health, Part B: Pestic., Food Contam., Agric. Wastes*, 38, 617 - 630.

AMÉZQUETA S., GONZALEZ PEÑAS E., LIZARRAGA T., MURILLO-ARBIZU M., DE CERAIN A. L., **2008**, *A Simple Chemical Method Reduces Ochratoxin A in Contaminated Cocoa Shells*, *J. Food Prot.*, 71, 1422-1426.

ANDREWS T., TAIT P. G., **1860**, *On the Volumetric Relations of Ozone and the Action of the Electrical Discharge on Oxygen and Other Gases*, *Philosoph. Trans.*, 113-132.

BADER H., **1982**, *Determination of Ozone In Water By The Indigo Method: A Submitted Standard Method*, *Ozone: Sci. & Eng.*, 4, 169 - 176.

BADER H., HOIGNÉ J., **1981**, *Determination of ozone in water by the indigo method*, *Water Res.*, 15, 449-456.

BAILEY P. S., **1978**, *Ozonation in Organic Chemistry: Olefinic Compounds*, Academic Press, Inc., New York.

BAILEY P. S., **1982**, *Ozonation in Organic Chemistry: Nonolefinic Compounds*, Academic Press, Inc., New York.

BAILEY P. S., KELLER J. E., **1968**, *Ozonation of amines. III. tert-Butylamine*, *J. Org. Chem.*, 33, 2680-2684.

BAILEY P. S., MICHARD D. A., KASHHAB A.-I. Y., **1968**, *Ozonation of amines. II. Competition between amine oxide formation and side-chain oxidation*, *J. Org. Chem.*, 33, 2675-2680.

BALLINGER C. A., CUETO R., SQUADRITO G., COFFIN J. F., VELSOR L. W., PRYOR W. A., POSTLETHWAIT E. M., **2005**, *Antioxidant-mediated augmentation of ozone-induced membrane oxidation*, *Free Radical Biol. Med.*, 38, 515-526.

BELTRAN-HEREDIA J., TORREGROSA J., DOMINGUEZ J. R., PERES J. A., **2001**, *Kinetics of the reaction between ozone and phenolic acids present in agro-industrial wastewaters*, *Water Research*, 35, 1077-1085.

BELTRÁN F. J., GARCÍA-ARAYA J. F., ÁLVAREZ P. M., RIVAS J., **1998**, *Aqueous degradation of atrazine and some of its main by-products with ozone/hydrogen peroxide*, *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 71, 345-355.

BENSEN S. W., **1959**, "Kinetic Considerations of Efficiency of Ozone Production in Gas Discharges", in *Ozone Chemistry and Technology, Advances in Chemistry*, Vol 21, American Chemical Society, Washington, DC, 43.

- BIGDA R. J., **1995**, *Consider Fenton's Chemistry for Wastewater Treatment*, Chem. Eng. Progr., 12, 62-66.
- BIN A. K., ROUSTAN M., **2000**, *Mass transfer in ozone reactor*, Proceeding of International specialised symposium IOA 2000, Fundamental and engineering concepts for ozone reactor design, 1-3 Mars, Toulouse.
- BLASCO C., FERNANDEZ M., PICO Y., FONT G., MAÑES J., **2002**, *Simultaneous determination of imidacloprid, carbendazim, methiocarb and hexythiazox in peaches and nectarines by liquid chromatography–mass spectrometry*, Anal. Chim. Acta, 461, 109-116.
- BLASCO C., FONT G., PICO Y., **2005**, *Analysis of pesticides in fruits by pressurized liquid extraction and liquid chromatography-ion trap-triple stage mass spectrometry*, J. Chromatogr. A, 1098, 37-43.
- BOITEAU G., OSBORN W. P. L., DREW M. E., **1997**, *Residual Activity of Imidacloprid Controlling Colorado Potato Beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) and Three Species of Potato Colonizing Aphids (Homoptera: Aphidae)*, J. Econ. Entomol., 90, 309-319.
- BORNHOLDT J., DYBDAHL M., VOGEL U., HANSEN M., LOFT S., WALLIN H., **2002**, *Inhalation of ozone induces DNA strand breaks and inflammation in mice*, Mutation Research-Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 520, 63-72.
- BOURGIN M., BIZE M., DURAND S., ALBET J., VIOLLEAU F., **2009**, *Development of a Rapid Determination of Pesticides in Coated Seeds Using a High-Performance Liquid Chromatography-UV Detection System*, J. Agric. Food Chem., 57, 10032-10037.
- BOX G. E. P., BEHNKEN D. W., **1960**, *Some New Three Level Design for the Study of Quantitative Variables*, Technometrics, 2, 455-475.
- BULLERMAN L. B., BIANCHINI A., **2007**, *Stability of mycotoxins during food processing*, International Journal of Food Microbiology, 119, 140-146.
- BYRNE F. J., CASTLE S., PRABHAKER N., TOSCANO N. C., **2003**, *Biochemical study of resistance to imidacloprid in B biotype Bemisia tabaci from Guatemala*, Pest Manag. Sci., 59, 347-352.
- BYRNE F. J., OETTING R. D., BETHKE J. A., GREEN C., CHAMBERLIN J., **2010**, *Understanding the dynamics of neonicotinoid activity in the management of Bemisia tabaci whiteflies on poinsettias*, Crop Prot., 29, 260-266.
- CALVERT J. G., PITTS J. N., **1966**, *Photochemistry*, John Wiley & Sons, Inc., New York.
- CANADAS D., **2006**, *Evaluation du procédé Oxygreen® pour son potentiel de décontamination en ochratoxine A du blé. Les effets toxiques liés à une exposition sub-chronique à l'ochratoxine A sont-ils atténués?*, PhD Thesis, Institut National Polytechnique de Toulouse.
- CHARPENTIER J.-C., **1981**, "Mass-Transfer Rates in Gas-Liquid Absorbers and Reactors", in *Advances in Chemical Engineering*, Vol 11, Academic Press, 1-133.

- COPELAND P. G., DEAN R. E., MCNEIL D., **1960**, *The ozonolysis of polynuclear aromatic hydrocarbons. Part I*, Journal of the Chemical Society (Resumed), 3230-3234.
- COPELAND P. G., DEAN R. E., MCNEIL D., **1961**, *The ozonolysis of polycyclic hydrocarbons. Part II*, Journal of the Chemical Society (Resumed), 1232-1238.
- CRIEGEE R., **1975**, *Mechanism of Ozonolysis*, Angew. Chem., 87, 745-752.
- CULLEN P. J., TIWARI B. K., O'DONNELL C. P., MUTHUKUMARAPPAN K., **2009**, *Modelling approaches to ozone processing of liquid foods*, Trends in Food Science & Technology, 20, 125-136.
- DAI Y.-J., CHEN T., GE F., HUAN Y., YUAN S., ZHU F.-F., **2007**, *Enhanced hydroxylation of imidacloprid by Stenotrophomonas maltophilia upon addition of sucrose*, Appl. Microbiol. Biotechnol., 74, 995-1000.
- DAI Y.-J., YUAN S., GE F., CHEN T., XU S.-C., NI J.-P., **2006**, *Microbial hydroxylation of imidacloprid for the synthesis of highly insecticidal olefin imidacloprid*, Appl. Microbiol. Biotechnol., 71, 927-934.
- DANCKWERTS P. V., **1951**, *Significance of Liquid-Film Coefficients in Gas Absorption*, Industrial & Engineering Chemistry, 43, 1460-1467.
- DE LUCCA A. J., **2007**, *Harmful fungi in both agriculture and medicine*, Rev. Iberoam. Micol., 24, 3-13.
- DECORET C., ROYER J., LEGUBE B., DORE M., **1984**, *Experimental and Theoretical Studies of the Mechanism of the Initial Attack on Some Aromatics in Aqueous Medium*, Environmental Technology Letters, 5, 207-218.
- DESVIGNES C., CHAURAND M., DUBOIS M., SADOUDI A., ABECASSIS J., LULLIEN-PELLERIN V., **2008**, *Changes in common wheat grain milling behavior and tissue mechanical properties following ozone treatment*, Journal of Cereal Science, 47, 245-251.
- DHILLON B., WIESENBORN D., DHILLON H., WOLF-HALL C., **2010**, *Development and Evaluation of a Fluidized Bed System for Wheat Grain Disinfection*, J. Food Sci., 75, 372-378.
- DOBBINS W. E., **1956**, "Mechanism of gas absorption by turbulent liquids", in *Advances in water pollution research*, Vol 2, Pergamon Press, Ltd., New York, 61-96.
- DOHAN J. M., MASSCHELEIN W. J., **1987**, *The Photochemical Generation of Ozone : Present State-of-the-Art*, Ozone: Sci. & Eng., 9, 315 - 334.
- DUBOIS M., COSTE C., DESPRES A. G., EFSTATHIOU T., NIO C., DUMONT E., PARENT-MASSIN D., **2006**, *Safety of Oxygreen® , an ozone treatment on wheat grains. Part 2. Is there a substantial equivalence between Oxygreen-treated wheat grains and untreated wheat grains?*, Food Additives and Contaminants, 23, 1 - 15.
- EBERHARDT W. H., **1946**, *The structure of Ozone*, J. Chem. Phys., 14, 525-530.

- EL-HAMADY S. E., KUBIAK R., DERBALAH A. S., **2008**, *Fate of imidacloprid in soil and plant after application to cotton seeds*, Chemosphere, 71, 2173-2179.
- ELMGHARI-TABIB M., **1982**, *Ozonation Reaction Patterns of Alcohols and Aliphatic Amines*, Ozone: Sci. & Eng., 4, 195 - 205.
- ERDMAN H. E., **1980**, *Ozone toxicity during ontogeny of two species of flour beetles, Tribolium confusum and T. castaneum*, Environmental Entomology, 9, 16-17.
- ESTER A., DE PUTTER H., VAN BILSEN J. G. P. M., **2003**, *Filmcoating the seed of cabbage (Brassica oleracea L. convar. Capitata L.) and cauliflower (Brassica oleracea L. var. Botrytis L.) with imidacloprid and spinosad to control insect pests*, Crop Prot., 22, 761-768.
- ESTER A., DE VOGEL R., BOUMA E., **1997**, *Controlling Thrips tabaci (Lind.) in leek by film-coating seeds with insecticides*, Crop Prot., 16, 673-677.
- FEILLET P., **2000**, *Le grain de blé, composition et utilisation*, INRA, Paris.
- FERNANDEZ-ALBA A. R., VALVERDE A., AGÜERA A., CONTRERAS M., CHIRON S., **1996**, *Determination of imidacloprid in vegetables by high-performance liquid chromatography with diode-array detection*, J. Chromatogr. A, 721, 97-105.
- FOEGEDING P. M., **1985**, *Ozone inactivation of Bacillus and Clostridium spore populations and the importance of the spore coat to resistance*, Food Microbiology, 2, 123-134.
- FUNG F., CLARK R. F., **2004**, *Health Effects of Mycotoxins: A Toxicological Overview*, Clinical Toxicology, 42, 217-234.
- GAOU I., DUBOIS M., PFOHL-LESZKOWICZ A., COSTE C., DE JOUFFREY S., PARENT-MASSIN D., **2005**, *Safety of Oxygreen® , an ozone treatment on wheat grains. Part I. A four-week toxicity study in rats by dietary administration of treated wheat*, Food Additives and Contaminants, 22, 1113 - 1119.
- GEORGOPAPADAKOU N. H., **1998**, *Antifungals: mechanism of action and resistance, established and novel drugs*, Current Opinion in Microbiology, 1, 547-557.
- GHAIEB J., **1990**, *Elimination des métaux en solution par l'ozone: Etude des cinétiques et des transferts de matière*, PhD thesis, INP Toulouse.
- GOLDSTEIN E., **1903**, *Ueber Ozonbildung*, Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, 36, 3042-3046.
- GRAHAM D. M., **1997**, *Use of ozone for food processing*, Food Technol., 51, 72-75.
- GRAY S. M., BERGSTROM G. C., VAUGHAN R., SMITH D. M., KALB D. W., **1996**, *Insecticidal control of cereal aphids and its impact on the epidemiology of the barley yellow dwarf luteoviruses*, Crop Prot., 15, 687-697.
- GUEZ D., BELZUNCES L. P., MALESZKA R., **2003**, *Effects of imidacloprid metabolites on habituation in honeybees suggest the existence of two subtypes of nicotinic receptors*

differentially expressed during adult development, Pharmacology Biochemistry and Behavior, 75, 217-222.

GUZSVANY V., CSANADI J., GAAL F., **2006**, *NMR Study of the Influence of pH on the Persistence of Some Neonicotinoids in Water*, Acta Chim. Slov, 53, 52-57.

HARRIES C., **1910**, *Über die Einwirkung des Ozons auf organische Verbindungen. [Zweite Abhandlung.]*, Justus Liebigs Annalen der Chemie, 374, 288-368.

HENBEST H. B., STRATFORD M. J. W., **1964**, *Amine oxidation. Part VIII. The reaction of tri-n-butylamine with ozone*, J. Chem. Soc., 711-714.

HIEMSTRA M., DE KOK A., **2007**, *Comprehensive multi-residue method for the target analysis of pesticides in crops using liquid chromatography–tandem mass spectrometry*, J. Chromatogr. A, 1154, 3-25.

HIGBIE R., **1935**, *The rate of absorption of a pure gas into a still liquid during short periods of exposure*, Am. Inst. Chem. Eng. J., 31, 365-388.

HOIGNÉ J., BADER H., **1976**, *The role of hydroxyl radical reactions in ozonation processes in aqueous solutions*, Water Res., 10, 377-386.

HOIGNÉ J., BADER H., **1983a**, *Rate constants of reactions of ozone with organic and inorganic compounds in water--I: Non-dissociating organic compounds*, Water Res., 17, 173-183.

HOIGNÉ J., BADER H., **1983b**, *Rate constants of reactions of ozone with organic and inorganic compounds in water--II: Dissociating organic compounds*, Water Res., 17, 185-194.

HORNER L., SCHAEFER H., LUDWIG W., **1958**, *Ozonisierung von tertiären Aminen (Phosphinen und Arsinen) sowie Thioäthern und Disulfiden*, Chem. Ber., 91, 75-81.

HUIJBREGTS A. W. M., GIJSSEL P. D., HEIJBROEK W., **1995**, *Fungicides and insecticides applied to pelleted sugar-beet seeds - I. Dose, distribution, stability and release patterns of active ingredients*, Crop Prot., 14, 355-362.

HUISGEN R., **1963**, *1,3-Dipolar Cycloadditions. Past and Future*, Angewandte Chemie International Edition in English, 2, 565-598.

HUMPF H. U., VOSS K. A., **2004**, *Effects of thermal food processing on the chemical structure and toxicity of fumonisin mycotoxins*, Molecular Nutrition & Food Research, 48, 255-269.

HUNSBERGER J. F., **1977**, "Standard reduction potentials", in *Handbook of Chemistry and Physics*, 58th ed. , Vol 141-144, CRC Press, Ohio,

HUNT T. J., **1848**, Am. J. Sci., 6, 171.

IBANOGLU S., **2001**, *Influence of tempering with ozonated water on the selected properties of wheat flour*, Journal of Food Engineering, 48, 345-350.

- IBANOGLU S., **2002**, *Wheat washing with ozonated water: effects on selected flour properties*, International Journal of Food Science & Technology, 37, 579-584.
- ISIKBER A. A., ÖZTEKIN S., **2009**, *Comparison of susceptibility of two stored-product insects, Ephestia kuehniella Zeller and Tribolium confusum du Val to gaseous ozone*, Journal of Stored Products Research, 45, 159-164.
- JOSEPH-HORNE T., HOLLOMON D. W., **1997**, *Molecular mechanisms of azole resistance in fungi*, FEMS Microbiol. Lett., 149, 141-149.
- JUAN-GARCIA A., PICO Y., FONT G., **2005**, *Capillary electrophoresis for analysing pesticides in fruits and vegetables using solid-phase extraction and stir-bar sorptive extraction*, J. Chromatogr. A, 1073, 229-236.
- KAGABU S., KATO C., NISHIMURA K., **2004**, *Insecticidal and Neuroblocking Activities toward American Cockroach (Periplaneta americana L.) of Imidacloprid Metabolites, 5-Hydroxy-, 4,5-Dihydroxy- and 4,5-Dehydroimidacloprid*, Nippon Noyaku Gakkaishi, 29, 376-379.
- KARUNKER I., MOROU E., NIKOU D., NAUEN R., SERTCHOOK R., STEVENSON B. J., PAINE M. J. I., MORIN S., VONTAS J., **2009**, *Structural model and functional characterization of the Bemisia tabaci CYP6CM1vQ, a cytochrome P450 associated with high levels of imidacloprid resistance*, Insect Biochem., 39, 697-706.
- KHADRE M., YOUSEF A. E., KIM J. G., **2001**, *Microbiological Aspects of Ozone Applications in Food: A Review*, J. Food Sci., 66, 1242-1252.
- KHADRE M. A., YOUSEF A. E., **2001**, *Sporicidal action of ozone and hydrogen peroxide: a comparative study*, International Journal of Food Microbiology, 71, 131-138.
- KIDD H., JAMES D., **1994**, *Agrochemicals Handbook. Third Edition*, Royal Society of Chemistry, Cambridge, England.
- KIM J.-G., YOUSEF A. E., DAVE S., **1999**, *Application of Ozone for Enhancing the Microbiological Safety and Quality of Foods: A Review*, J. Food Prot., 62, 1071-1087.
- KIM J. G., **1998**, *Ozone as an antimicrobial agent in minimally processed foods*, Ohio State University, Columbus.
- KING C. J., **1966**, *Turbulent Liquid Phase Mass Transfer at Free Gas-Liquid Interface*, Industrial & Engineering Chemistry Fundamentals, 5, 1-8.
- KOAL T., ASPERGER A., EFER J., ENGEWALD W., **2003**, *Simultaneous determination of a wide spectrum of pesticides in water by means of fast on-line SPE-HPLC-MS-MS—a novel approach*, Chromatographia, 57, 93-101.
- KUHAR T. P., STIVERS-YOUNG L. J., HOFFMANN M. P., TAYLOR A. G., **2002**, *Control of corn flea beetle and Stewart's wilt in sweet corn with imidacloprid and thiamethoxam seed treatments*, Crop Prot., 21, 25-31.
- LAURENT F. M., RATHAHAO E., **2003**, *Distribution of [¹⁴C]Imidacloprid in Sunflowers (Helianthus annuus L.) following Seed Treatment*, J. Agric. Food Chem., 51, 8005-8010.

- LEE CHAO S., CASIDA J. E., **1997**, *Interaction of Imidacloprid Metabolites and Analogs with the Nicotinic Acetylcholine Receptor of Mouse Brain in Relation to Toxicity*, Pestic. Biochem. Physiol., 58, 77-88.
- LEMKE S. L., MAYURA K., OTTINGER S. E., MCKENZIE K. S., WANG N., FICKEY C., KUBENA L. F., PHILLIPS T. D., **1999**, *Assessment of the estrogenic effects of zearalenone after treatment with ozone utilizing the mouse uterine weight bioassay*, Journal of Toxicology and Environmental Health-Part a-Current Issues, 56, 283-295.
- LENARD P., **1900**, *Ueber Wirkungen des ultravioletten Lichtes auf gasförmige Körper*, Annalen der Physik, 306, 486-507.
- LEWIS W. K., WHITMAN W. G., **1924**, *Principles of Gas Absorption*, Industrial & Engineering Chemistry, 16, 1215-1220.
- LINEK V., VACEK V., SINKUL J., BENES P., **1988**, *Measurement of oxygen by membrane-covered probes*, Ellis Horwood, New York.
- LIU S., ZHENG Z., WEI F., REN Y., GUI W., WU H., ZHU G., **2010**, *Simultaneous Determination of Seven Neonicotinoid Pesticide Residues in Food by Ultrapformance Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry*, J. Agric. Food Chem., 58, 3271-3278.
- LU B., REN Y., DU Y.-Z., FU Y., GU J., **2009**, *Effect of ozone on respiration of adult Sitophilus oryzae (L.), Tribolium castaneum (Herbst) and Rhyzopertha dominica (F.)*, Journal of Insect Physiology, 55, 885-889.
- MANLEY T. C., NIEGOWSKY S. J., **1967**, "Ozone", in *Encyclopedia of Chemical Technology*, Vol 14, 2nd ed., John Wiley & Sons, New York, 410-432.
- MCKENZIE K. S., KUBENA L. F., DENVIR A. J., ROGERS T. D., HITCHENS G. D., BAILEY R. H., HARVEY R. B., BUCKLEY S. A., PHILLIPS T. D., **1998**, *Aflatoxicosis in turkey poults is prevented by treatment of naturally contaminated corn with ozone generated by electrolysis*, Poult. Sci., 77, 1094-1102.
- MCKENZIE K. S., SARR A. B., MAYURA K., BAILEY R. H., MILLER D. R., ROGERS T. D., NORRED W. P., VOSS K. A., PLATTNER R. D., KUBENA L. F., PHILLIPS T. D., **1997**, *Oxidative degradation and detoxification of mycotoxins using a novel source of ozone*, Food Chem. Toxicol., 35, 807-820.
- MEINWALD J., **1955**, *Notiz zur Anwendung der Markownikoffschen Regel auf den Verlauf der Ozonisierung*, Chem. Ber., 88, 1889-1891.
- MENDEZ F., MAIER D. E., MASON L. J., WOLOSHUK C. P., **2003**, *Penetration of ozone into columns of stored grains and effects on chemical composition and processing performance*, Journal of Stored Products Research, 39, 33-44.
- NAITO S., TAKAHARA H., **2006**, *Ozone Contribution in Food Industry in Japan*, Ozone: Sci. & Eng., 28, 425 - 429.
- NAUEN R., EBBINGHAUS-KINTSCHER U., SCHMUCK R., **2001**, *Toxicity and nicotinic acetylcholine receptor interaction of imidacloprid and its metabolites in Apis mellifera (Hymenoptera: Apidae)*, Pest Manag. Sci., 57, 577-586.

- NAUEN R., RECKMANN U., ARMBORST S., STUPP H. P., ELBERT A., **1999**, *Whitefly-active metabolites of imidacloprid: biological efficacy and translocation in cotton plants*, Pestic. Sci., 55, 265-271.
- NAUEN R., TIETJEN K., WAGNER K., ELBERT A., **1998**, *Efficacy of plant metabolites of imidacloprid against Myzus persicae and Aphis gossypii (Homoptera: Aphididae)*, Pestic. Sci., 52, 53-57.
- NAULT B. A., TAYLOR A. G., URWILER M., RABAEY T., HUTCHISON W. D., **2004**, *Neonicotinoid seed treatments for managing potato leafhopper infestations in snap bean*, Crop Prot., 23, 147-154.
- NEBEL C., **1981**, "Ozone", in *Encyclopedia of Chemical Technology*, Vol 14, 3ème ed., John Wiley & Sons, New York, 683-713.
- OBANA H., OKIHASHI M., AKUTSU K., KITAGAWA Y., HORI S., **2002**, *Determination of acetamiprid, imidacloprid and nitenpyram residues in vegetables and fruits by high-performance liquid chromatography with diode-array detection*, J. Agric. Food Chem., 50, 4464-4467.
- OUEDERNI A., MORA J. C., BES R. S., **1987**, *Ozone Absorption in Water: Mass Transfer and Solubility*, Ozone: Sci. & Eng., 9, 1 - 12.
- PANG G. F., LIU Y. M., FAN C. L., ZHANG J. J., CAO Y. Z., LI X. M., LI Z. Y., WU Y. P., GUO T. T., **2004**, *Simultaneous determination of 405 pesticide residues in grain by accelerated solvent extraction then gas chromatography-mass spectrometry or liquid chromatography-tandem mass spectrometry*, Anal. Bioanal. Chem., 384, 1366-1408.
- PERAICA M., DOMIJAN A.-M., MILETIĆ-MEDVED M., FUCHS R., **2008**, *The involvement of mycotoxins in the development of endemic nephropathy*, Wiener Klinische Wochenschrift, 120, 402-407.
- PESTKA J. J., SMOLINSKI A. T., **2004**, *Deoxynivalenol: Toxicology and Potential Effects on Humans*, Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B: Critical Reviews, 8, 39 - 69.
- PIHLSTROM T., ISAAC G., WALDEBÄCK M., ÖSTERDAHL B.-G., MARKIDES K. E., **2002**, *Pressurised fluid extraction (PFE) as an alternative general method for the determination of pesticide residues in rape seed*, Analyst, 127, 554-559.
- PIKE K. S., REED G. L., GRAF G. T., ALLISON D., **1983**, *Compatibility of Imidacloprid with Fungicides as a Seed-Treatment Control of Russian Wheat Aphid (Homoptera Aphidae) and Effect on Germination, Growth and Yield of Wheat Barley*, J. Econ. Entomol., 86, 586-593.
- PIMENTEL M. A. G., FARONI L. R. D. A., GUEDES R. N. C., SOUSA A. H., TÓTOLA M. R., **2009**, *Phosphine resistance in Brazilian populations of Sitophilus zeamais Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae)*, Journal of Stored Products Research, 45, 71-74.
- PONS X., ALBAJES R., **2002**, *Control of maize pests with imidacloprid seed dressing treatment in Catalonia (NE Iberian Peninsula) under traditional crop conditions*, Crop Prot., 21, 943-950.

- QIU Y., 1999, *Kinetic and mass transfer studies of the reactions between dichlorophenols and ozone in liquid-liquid and gas-liquid systems*, PhD Thesis, Mississippi State University.
- RAGAB W. S. M., DRUSCH S., SCHNIEDER F., BEYER M., 2007, *Fate of deoxynivalenol in contaminated wheat grain during preparation of Egyptian 'balila'*, International Journal of Food Sciences and Nutrition, 58, 169-177.
- RAILA A., LUGAUSKAS A., STEPONAVICIUS D., RAILLIENE M., STEPONAVICIENE A., ZVICEVICIUS E., 2006, *Application of ozone for reduction of mycological infection in wheat grain.*, Annals of Agricultural and Environmental Medicine, 13, 287-294.
- RESTAINO L., FRAMPTON E. W., HEMPHILL J. B., PALNIKAR P., 1995, *Efficacy of ozonated water against various food-related microorganisms*, Appl. Environ. Microbiol., 61, 3471-3475.
- RIAL-OTERO R., GRANDE B. C., GANDARA J. S., 2003, *Multiresidue method for fourteen fungicides in white grapes by liquid-liquid and solid-phase extraction followed by liquid chromatography-diode-array detection*, J. Chromatogr. A, 992, 121-131.
- RIDEAL E. K., 1920, *Ozone*, Constable & Co., Ltd., London.
- ROTH J. A., SULLIVAN D. E., 1981, *Solubility of Ozone in Water*, Indus. Engrg. Chem. Fund., 20, 137.
- ROUSTAN M., 2003, *Transferts gaz-liquide dans les procédés de traitement des eaux et des effluents gazeux*, Tec & Doc, Paris.
- SANNINO A., BANDINI M., 2005, *Determination of fludioxonil and famoxadone in processed fruits and vegetable by liquid chromatography/electrospray mass spectrometry*, Journal of AOAC International, 88, 1822-1826.
- SCHILTER B. T., MARIN-KUAN M., DELATOUR T., NESTLER S., MANTLE P., CAVIN C., 2005, *Ochratoxin A: Potential epigenetic mechanisms of toxicity and carcinogenicity*, Food Additives and Contaminants, 22, 88 - 93.
- SCHLATTER C., BESTE C. L., 2005, *Method and device for direct quantitative determination of pesticide seed loading on individual seeds*, WO 2005/048683.
- SCHMUCK R., SCHÖNING R., STORK A., SCHRAMEL O., 2001, *Risk posed to honeybees (*Apis mellifera* L, Hymenoptera) by an imidacloprid seed dressing of sunflowers*, Pest Manag. Sci., 57, 225-238.
- SCHÖNBEIN C. F., 1840, *Recherches sur la nature de l'odeur accompagnant certaines réactions chimiques*, Comptes rendus Hebdomadaires des Séances de l'Académie des Sciences, 10, 706-710.
- SCHULZ-JANDER D. A., CASIDA J. E., 2002, *Imidacloprid insecticide metabolism: human cytochrome P450 isozymes differ in selectivity for imidazolidine oxidation versus nitroimine reduction*, Toxicol. Lett., 132, 65-70.

- SCHULZ-JANDER D. A., LEIMKUEHLER W. M., CASIDA J. E., **2002**, *Neonicotinoid Insecticides: Reduction and Cleavage of Imidacloprid Nitroimine Substituent by Liver Microsomal and Cytosolic Enzymes*, Chem. Res. Toxicol., 15, 1158-1165.
- SIMMS L. C., ESTER A., WILSON M. J., **2006**, *Control of slug damage to oilseed rape and wheat with imidacloprid seed dressings in laboratory and field experiments*, Crop Prot., 25, 549-555.
- SOUSA A. H., FARONI L. R. D. A., GUEDES R. N. C., TÓTOLA M. R., URRUCHI W. I., **2008**, *Ozone as a management alternative against phosphine-resistant insect pests of stored products*, Journal of Stored Products Research, 44, 379-385.
- SOUSA A. H., FARONI L. R. D. A., PIMENTEL M. A. G., GUEDES R. N. C., **2009**, *Developmental and population growth rates of phosphine-resistant and -susceptible populations of stored-product insect pests*, Journal of Stored Products Research, 45, 241-246.
- STAEHELIN J., HOIGNE J., **1985**, *Decomposition of ozone in water in the presence of organic solutes acting as promoters and inhibitors of radical chain reactions*, Environ. Sci. Technol., 19, 1206-1213.
- STOCKMANN-JUVALA H., SAVOLAINEN K., **2008**, *A review of the toxic effects and mechanisms of action of fumonisin B1*, Human & Experimental Toxicology, 27, 799-809.
- STRECKER W., BALTES M., **1921**, *Über die Einwirkung von Ozon auf aliphatische und aromatische Substitutionsprodukte des Ammoniaks*, Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft (A and B Series), 54, 2693-2708.
- SUCHAIL S., DE SOUSA G., RAHMANI R., BELZUNCES L. P., **2004**, *In vivo distribution and metabolisation of ¹⁴C-imidacloprid in different compartments of Apis mellifera L.*, Pest Manag. Sci., 60, 1056-1062.
- SUMMERFELT S. T., HOCHHEIMER J. N., **1997**, *Review of ozone processes and applications as an oxidizing agent in aquaculture*, The Progressive Fish-Culturist, 59, 94-105.
- THORP C. E., **1955**, "Physical and Pharmacological Properties", in *Bibliography of Ozone Technology*, Vol 2, Armour Research Foundation, Illinois Institute of Technology, Chicago, 43.
- TOOR H. L., MARCHELLO H. M., **1958**, *Film-penetration model for mass and heat transfer*, Am. Inst. Chem. Eng. J., 4, 97-101.
- TRAMBARULO R., GHOSH S. N., BURRUS C. A., GORBY W., **1953**, *The Molecular Structure, Dipole Moment, and g Factor of Ozone from Its Microwave Spectrum*, J. Chem. Phys., 21, 851-860.
- VARGA J., PÉTERI Z., TÁBORI K., TÉREN J., VÁGVÖLGYI C., **2005**, *Degradation of ochratoxin A and other mycotoxins by Rhizopus isolates*, International Journal of Food Microbiology, 99, 321-328.
- VIOLLEAU F., HADJEBBA K., ALBET J., CAZALIS R., SUREL O., **2008**, *Effect of Oxidative Treatment on Corn Seed Germination Kinetics*, Ozone: Sci. & Eng., 30, 418 - 422.

VÖLKL A., VOGLER B., SCHOLLENBERGER M., KARLOVSKY P., **2004**, *Microbial detoxification of mycotoxin deoxynivalenol*, J. Basic Microbiol., 44, 147-156.

VON SIEMENS W., **1857**, Poggendorff's Ann., 102, 120.

WAGACHA J. M., MUTHOMI J. W., **2008**, *Mycotoxin problem in Africa: Current status, implications to food safety and health and possible management strategies*, International Journal of Food Microbiology, 124, 1-12.

WHITING M. C., BOLT A. J. N., PARISH J. H., **1968**, *The reaction between ozone and saturated compounds*, Adv. Chem. Ser., 77, 4-14.

WILKE C. R., CHANG P., **1955**, *Correlation of diffusion coefficients in dilute solutions*, AIChE J., 1, 264-270.

WILSON S. C., BRASEL T. L., MARTIN J. M., WU C., ANDRIYCHUK L., DOUGLAS D. R., COBOS L., STRAUS D. C., **2005**, *Efficacy of Chlorine Dioxide as a Gas and in Solution in the Inactivation of Two Trichothecene Mycotoxins*, International Journal of Toxicology, 24, 181 - 186.

WU J., DOAN H., CUENCA M. A., **2006**, *Investigation of gaseous ozone as an anti-fungal fumigant for stored wheat*, Journal of Chemical Technology & Biotechnology, 81, 1288-1293.

YAO C. C. D., HAAG W. R., **1991**, *Rate constants for direct reactions of ozone with several drinking water contaminants*, Water Res., 25, 761-773.

YOUNG J. C., **1986**, *Reduction in levels of deoxynivalenol in contaminated corn by chemical and physical treatment*, J. Agric. Food Chem., 34, 465-467.

YOUNG J. C., SUBRYAN L. M., POTTS D., MCLAREN M. E., GOBRAN F. H., **1986**, *Reduction in levels of deoxynivalenol in contaminated wheat by chemical and physical treatment*, J. Agric. Food Chem., 34, 461-465.

YUMBE-GUEVARA B. E., IMOTO T., YOSHIZAWA T., **2003**, *Effects of heating procedures on deoxynivalenol, nivalenol and zearalenone levels in naturally contaminated barley and wheat*, Food Additives and Contaminants, 20, 1132 - 1140.

YVIN J.-C., BAILLI A., JOUBERT J.-M., BERTAUD O., **2001**, *Method and installation for making flour from ozone-treated grains*, WO 2001/043556.

YVIN J.-C., COSTE C., **1995**, *Method and system for the treatment of seeds and bulbs*, WO 95/09523.

ZHENG W., LIU W., **1999**, *Kinetics and mechanism of the hydrolysis of imidacloprid*, Pestic. Sci., 55, 482-485.