



02/1/01
Université Cheikh Anta Diop
Faculté des Sciences et Techniques
Département de Chimie
Dakar, Sénégal

Année: 2000/2001

THESE D'ETAT
Pour l'obtention du Diplôme de
DOCTEUR D'ETAT DE L'UNIVERSITE C. A. DIOP
SPECIALITE: Chimie-Physique Analytique

Présentée et Soutenue Publiquement par

Monsieur Atanase COLY
Maître-Assistant au Département de Chimie

le 26 Janvier 2001

DETERMINATION FLUORIMETRIQUE ET FLUORIMETRIQUE INDUITE
PHOTOCHIMIQUEMENT DE PESTICIDES AROMATIQUES ET D'HERBICIDES
SULFONYLUREES: EFFET DES MILIEUX ORGANISES, APPLICATION
ANALYTIQUE A LA DETERMINATION DE TRACES DE PESTICIDES DANS
L'ENVIRONNEMENT.

JURY

MM.

M. M. DIENG	Président	(UCAD)
MME A. M. GARCIA-CAMPANA	Rapporteur	(Univ. Grenade, Espagne)
A. TINE	Rapporteur	(UCAD)
J.-J. AARON	Directeur de thèse	(ITODYS, Univ. Paris 7)
S. A. NDIAYE	Examineur	(UCAD)
G. SISSOKHO	Examineur	(UCAD)

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé à l'Institut de Topologie et de Dynamique des Systèmes, (ITODYS) de l'Université Denis DIDEROT Paris 7, associé au CNRS, UPRES-A 7086; 1, rue Guy de la Brosse, 75005 PARIS-France, sous la direction de Monsieur le Professeur J.-J. AARON. Je tiens sincèrement à le remercier pour la sollicitude avec laquelle il m'a accueilli dans son laboratoire et aussi, pour tant d'estimables avis et conseils qu'il m'a prodigués tout au long de mes travaux. Je me dois également de lui exprimer toute ma reconnaissance pour le soin qu'il a apporté à la correction de ce manuscrit. Enfin, je l'assure de toute ma gratitude pour le temps qu'il m'a consacré malgré ses nombreuses occupations.

Je suis très honoré que Monsieur le Professeur M.M. DIENG de l'Université Cheikh Anta DIOP (UCAD), ait consenti à présider ce jury. Je l'en remercie chaleureusement.

J'adresse également mes remerciements à Madame le Professeur A.M. GARCIA-CAMPANA (Grenade, Espagne) pour avoir bien voulu juger ce travail avec un œil critique et de me faire l'honneur de participer au jury de cette thèse.

Je tiens aussi à exprimer toute ma joie à Monsieur le Professeur A. TINE (UCAD) pour l'honneur qu'il me fait de participer à ce jury.

J'adresse mes sincères remerciements à Messieurs les Professeurs S.A. NDIAYE (UCAD) et G. SISSOKHO (UCAD) qui m'ont fait l'honneur de s'intéresser aux résultats de ce travail et de participer au jury de cette thèse.

Mes remerciements vont aussi à Monsieur Faustin DIATTA, Directeur de la DPV pour les échantillons de formulations techniques qu'il m'a donné gracieusement. Je remercie aussi chaleureusement la Compagnie Du Pont de Nemours (Wilmington, DE, USA) pour la fourniture des herbicides sulfonyles, ce qui m'a permis de réaliser une bonne partie de ce travail.

Que la famille DIAKHITE, (Diaguily, Horé, Adji, Massiré, Bamou et Demba) au 1, rue Georges Bizet à Saint Germain en Laye soit également remerciée pour leur aide et leur soutien bienveillant.

Que l'Université Denis DIDEROT-Paris 7 soit chaleureusement remerciée pour son soutien financier bienveillant et constant sans lequel ce travail n'aurait jamais abouti. Je tiens aussi à remercier le projet campus dont la contribution financière a été bénéfique à la finalisation de ce travail.

J'exprime ici ma reconnaissance à Mesdames S. BRIAND et C. CHARVY pour l'enregistrement et l'interprétation des spectres de masse.

Enfin, j'ai été sensible à l'ambiance sympathique et chaleureuse que tous mes camarades ont su créer au laboratoire.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION GENERALE	11
PREMIERE PARTIE (Etude Bibliographique)	16
I. INTRODUCTION.....	17
II. METHODES FLUORIMETRIQUES.....	18
1. Méthodes fluorimétriques directes	18
1.1. Détection fluorimétrique sur substrat solide (CCM).....	19
1.2. Détection fluorimétrique combinée avec la CLHP.....	20
1.3. Détection fluorimétrique en solution stationnaire.....	20
2. Méthodes fluorimétriques avec prétraitement	22
2.1. Hydrolyse.....	22
2.2. Traitement thermique.....	23
2.3. Réactions de complexation.....	23
2.4. Marquage fluorogénique.....	25
2.4.1. Marquage avec le Cl-Dans.....	26
2.4.2. Marquage avec le Cl-NBD.....	27
2.4.3. Marquage avec la fluorescamine.....	28
2.4.4. Marquage avec l'OPA/2-ME.....	29
2.4.5. Autres types de marqueurs.....	31
2.4.6. Avantages et inconvénients du marquage fluorogénique.....	31
III. METHODE DE FLUORESCENCE INDUITE PHOTOCHIMIQUEMENT.....	34
1. Les conditions analytiques optimales	35
2. Application de la méthode FIP à l'analyse des pesticides	35
2.1. Méthode FIP combinée avec la CLHP.....	35
2.2. Méthode FIP-marquage fluorogénique combinée avec la CLHP.....	36
2.3. Méthode FIP-complexation combinée avec la CLHP et la CCM.....	37
2.4. Méthode FIP combinée avec la FIA.....	37
2.5. Méthode FIP en solution stationnaire.....	37
IV. METHODE FLUORIMETRIQUE PHOTOLENSIBILISEE.....	38
V. METHODE PHOSPHORIMETRIQUE.....	39
VI. CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	44
VII. REFERENCES.....	45

DEUXIEME PARTIE (Techniques Expérimentales)	50
I. PRODUITS UTILISES.....	51
1. Les pesticides.....	51
2. Les solvants.....	55
2.1. Les solvants d'analyse.....	55
2.2. Les solvants d'extraction.....	56
3. Les solutions tampons, les bases et les acides.....	56
4. Les milieux organisés.....	56
5. Les échantillons réels.....	56
5.1. Les formulations techniques.....	56
5.2. Les eaux naturelles.....	57
II. INSTRUMENTATION.....	57
1. Spectres d'absorption.....	57
2. Spectres de fluorescence.....	57
3. Systèmes de photolyse.....	57
4. Système FIA avec détection photochimique fluorimétrique.....	58
5. Chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse (CPG-SM).....	58
5.1. Appareillage.....	58
5.2. Echantillonnage.....	58
6. Chromatographie liquide haute performance (CLHP-UV/VIS).....	59
6.1. Appareillage.....	59
6.2. Echantillonnage.....	59
III. PROCEDURES EXPERIMENTALES.....	59
1. Généralités.....	59
1.1. Préparation des solutions.....	59
1.2. Réaction de photolyse.....	60
1.3. Mesures analytiques.....	60
1.4. Logiciels utilisés.....	61
1.5. Limite de détection (LD).....	61
2. Traitement des échantillons réels.....	61
2.1. Fortification.....	61
2.2. Procédures d'extraction.....	62

2.2.1. Extraction des formulations techniques.....	62
2.2.2. Extraction du chlorpyrifos.....	63
2.2.3. Extraction des herbicides sulfonyles.....	63
3. Détermination des constantes d'association avec les milieux organisés.....	64
3.1. Cas des cyclodextrines.....	64
3.2. Cas des micelles.....	67
IV. REFERENCES	68

TROISIEME PARTIE (Résultats Expérimentaux et Discussions).....70

Chapitre I

ANALYSE PAR FLUORESCENCE ET FLUORESCENCE PHOTOINDUITE DES PESTICIDES AROMATIQUES ET DES HERBICIDES SULFONYLUREES EN SOLUTION STATIONNAIRE.

I. INTRODUCTION.....	72
II. ETUDE EN MILIEUX ORGANIQUES.....	72
1. Optimisation des conditions analytiques.....	72
1.1. Effet de solvant sur les spectres d'excitation et d'émission.....	73
1.2. Effet de solvant sur l'intensité de fluorescence et sur le temps d'irradiation UV... 75	75
1.3. Effet de la concentration de NaOH sur les herbicides sulfonyles.....	78
1.4. Effet de la photolyse UV.....	79
1.5. Structure des photoproduits fluorescents.....	80
2. Performances analytiques.....	81
3. Applications analytiques.....	82
3.1. Evaluation des effets de matrice: méthode d'addition standard.....	83
3.2. Résolution du mélange binaire sumicombi.....	84
3.2.1. Position du problème.....	84
3.2.2. Etude des interférences.....	85
3.2.3. Résolution du problème.....	85
3.3. Evaluation des teneurs des formulations techniques.....	86
4. Application à la détermination des pesticides dans les eaux.....	87
5. Comparaison de nos résultats avec ceux obtenus par d'autres méthodes.....	89

6. Remarques conclusives	90
III. ETUDE EN MILIEUX ORGANISES	91
1. Etude des pesticides en milieux cyclodextrines	91
1.1. Etude bibliographique: présentation et applications des cyclodextrines (CDs).....	91
1.1.1. Généralités sur les CDs.....	91
1.1.2. Application des CDs à l'analyse fluorimétrique.....	94
1.2. Etude expérimentale des complexes d'inclusion de β -CD avec les pesticides.....	95
1.2.1. Effet des β -CD sur les propriétés spectrales de fluorescence et de FIP..	95
1.2.2. Effet de pH.....	96
1.2.3. Effet du solvant organique sur la formation des complexes d'inclusion..	98
1.2.4. Effet de la concentration des CDs.....	100
1.2.5. Effet de la photolyse UV en présence des CDs.....	100
1.2.5.1. Méthode fluorimétrique.....	100
1.2.5.2. Méthode FIP.....	102
1.2.6. Détermination de la stœchiométrie et des constantes d'association.....	103
1.2.7. Performances analytiques.....	105
1.2.8. Applications analytiques.....	106
1.3. Remarques conclusives.....	109
2. Etude des pesticides en milieux micellaires	109
2.1. Etude bibliographique sur les micelles.....	109
2.2. Application des micelles à l'analyse fluorimétrique.....	112
2.3. Etude expérimentale des pesticides en milieux micellaires.....	112
2.3.1. Propriétés spectrales de FIP dans les micelles.....	113
2.3.2. Effet de pH.....	116
2.3.3. Effet de concentration des tensioactifs.....	117
2.3.4. Etude de la photolyse en milieu micellaire.....	118
2.3.5. Performances analytiques.....	118
2.3.6. Applications analytiques.....	120
2.3.7. Avantages analytiques de la méthode FIP pour les herbicides.....	123
2.3.8. Interprétation de l'exaltation du signal FIP.....	123
2.3.8.1. Influence de la micropolarité.....	124
2.3.8.2. Influence de l'oxygène moléculaire.....	124
2.3.8.3. Influence de la viscosité.....	125

2.3.9. Constantes d'associations des pesticides avec les micelles.....	125
2.4. Remarques conclusives.....	127
IV. CONCLUSION.....	127
V. REFERENCES.....	128

Chapitre II

DETERMINATION DES PESTICIDES AROMATIQUES ET DES HERBICIDES SULFONYLUREES PAR FIA AVEC DETECTION FLUORIMETRIQUE OU FLUORIMETRIQUE INDUITE PHOTOCHEMIQUEMENT (FIP)

I. INTRODUCTION.....	133
II. PRESENTATION DE LA FIA.....	133
III. ETUDE EXPERIMENTALES EN MILIEUX ORGANIQUES.....	135
1. Optimisation et sélection des paramètres FIA.....	136
1.1. Méthode fluorimétrique.....	136
1.1.1. Influence du débit.....	136
1.1.2. Influence du volume injecté.....	138
1.1.3. Influence de la longueur du photoréacteur.....	138
1.1.4. Choix des paramètres analytiques.....	138
1.1.5. Mesure du coefficient de dispersion.....	138
1.2. Méthode FIP.....	139
1.2.1. Influence du débit.....	139
1.2.2. Influence du volume injecté.....	139
1.2.3. Influence de la longueur du photoréacteur.....	140
1.2.4. Choix des paramètres analytiques.....	140
1.2.5. Mesure du coefficient de dispersion.....	140
2. Performances analytiques.....	143
3. Applications analytiques.....	144
3.1. Analyse des formulations techniques.....	144
3.1.1. Evaluation des effets de matrice: méthode d'addition standard.....	144
3.1.2. Evaluation des teneurs des formulations techniques.....	145
3.2. Analyse des eaux fortifiées en pesticides.....	147
4. Fréquence des échantillonnages et consommation d'éluant.....	149

5. Remarques conclusives.....	150
IV. ETUDES EXPERIMENTALES EN MILIEUX MICELLAIRES.....	151
1. Optimisation et sélection des variables analytiques.....	151
1.1. Effet de la phase mobile micellaire.....	151
1.2. Effet du volume injecté.....	153
1.3. Effet du débit du flux porteur.....	154
1.4. Effet de la longueur du photoréacteur.....	156
1.5. Coefficient de dispersion et fréquence des échantillonnages.....	156
2. Performances analytiques.....	157
3. Applications analytiques.....	158
4. Remarques conclusives.....	160
V. CONCLUSION.....	160
VI. REFERENCES.....	161

Chapitre III

ANALYSE DES MELANGES D'HERBICIDES SULFONYLUREES PAR LES METHODES DES SPECTRES DERIVES DE FLUORESCENCE INDUITE PHOTOCHIMIQUEMENT (FIP-¹D_λ) ET DES MOINDRES CARRES PARTIELS PLS ("PARTIAL LEAST SQUARES").

I. INTRODUCTION.....	163
II. METHODE DES SPECTRES DERIVES (FIP- ¹ D _λ).....	163
1. Principe.....	163
2. Optimisation des conditions analytiques.....	164
3. Procédures analytiques.....	165
4. Performances analytiques.....	166
5. Application à l'analyse des mélanges binaires synthétiques.....	167
5.1. Etude des interférences.....	168
5.2. Résolution des mélanges binaires.....	169
6. Remarques conclusives.....	169
III. METHODE DES MOINDRES CARRES PARTIELS (PLS).....	170
1. Introduction.....	171
2. Conditions analytiques optimales de travail.....	171

3. Procédures de calcul	172
4. Matrice d'étalonnage	173
4.1. Sélection du nombre optimal de facteurs.....	174
4.2. Paramètres statistiques.....	176
5. Matrice de validation	180
6. Remarques conclusives	181
IV. CONCLUSION	181
V. REFERENCES	181

Chapitre IV

ETUDE PAR CHROMATOGRAPHIE GAZEUSE-SPECTROMETRIE DE MASSE DES PHOTOPRODUITS ET DES MECANISMES DE PHOTOLYSE DE PESTICIDES AROMATIQUES ET D'HERBICIDES SULFONYLUREES.

I. INTRODUCTION	184
II. CONDITIONS CHROMATOGRAPHIQUES	184
III. RESULTATS ET DISCUSSIONS	186
1. Deltaméthrine	186
1.1. Chromatogrammes et spectres de masse.....	186
1.2. Mécanisme de photolyse de la deltaméthrine.....	187
2. Fenvalérate	189
2.1. Chromatogrammes et spectres de masse.....	189
2.2. Mécanisme de photolyse de la fenvalérate.....	191
3. Fénitrothion	191
3.1. Chromatogrammes et spectres de masse.....	191
3.2. Mécanisme de photolyse du fénitrothion.....	193
4. Chlorpyrifos	193
5. Chlorsulfuron	194
5.1. Chromatogrammes et spectres de masse.....	195
5.2. Mécanisme de photolyse du chlorsulfuron.....	196
6. Metsulfuron méthyl	197
6.1. Chromatogrammes et spectres de masse.....	197

6.2. Mécanisme de photolyse du metsulfuron méthyl.....	198
7. Sulfométuron méthyl.....	198
7.1. Chromatogrammes et spectres de masse.....	199
7.2. Mécanisme de photolyse du sulfométuron méthyl.....	199
IV. CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE HAUTE PERFORMANCE.....	201
V. CONCLUSION.....	206
VI. REFERENCES.....	206
CONCLUSION GENERALE.....	207

INTRODUCTION GENERALE

En raison de leur emploi croissant en agriculture et de leur toxicité souvent élevée, les pesticides représentent un risque environnemental majeur de plus en plus préoccupant. Ce risque est d'autant plus sérieux que la plupart des pesticides présentent une instabilité photochimique notable et peuvent se photodégrader rapidement sous l'action des radiations solaires. Il s'avère donc très important de pouvoir: *(i)* étudier leur cinétique de photodégradation en vue de mieux appréhender leur devenir dans l'environnement et, *(ii)* développer parallèlement des méthodes analytiques suffisamment sensibles et sélectives en vue de déterminer la présence de ces pesticides et de leurs produits de dégradation à l'état de trace ou d'ultratrace (nanogramme, picogramme) dans les milieux naturels.

Durant ces dernières années, le nombre de travaux sur les méthodes d'analyse des pesticides menées à l'aide de diverses techniques instrumentales couplées avec une variété de détecteurs a beaucoup augmenté [1,2]. D'importantes avancées ont été accomplies dans le développement de méthodes multirésidus et monorésidus pour une large variété d'échantillons prélevés dans les eaux [3-8], les sols [9-12], les végétaux [13-20], l'air [21,22], les animaux [23-27] ou chez l'homme [24,28-30].

De nos jours, la plupart des résidus de pesticides sont analysés par des méthodes de type multirésidus basées sur plusieurs étapes: *(i)* extraction du pesticide de sa matrice initiale, *(ii)* purification pour éliminer les co-extractants interférents, *(iii)* conversion des pesticides en dérivé(s) détectable(s) (en cas d'impossibilité de détection directe), *(iv)* séparation des pesticides entre eux et d'interférents, généralement par chromatographie en phase gazeuse (CPG) ou chromatographie liquide haute performance (CLHP), *(v)* détection qualitative (ou quantitative) à l'aide d'un détecteur sélectif ou spécifique, *(vi)* quantification en comparant le signal de l'échantillon réel à celui de l'échantillon standard, *(vii)* et enfin, confirmation des résultats à l'aide d'une méthode auxiliaire comme la spectrométrie de masse (SM).

Bien que de telles méthodes continuent d'être largement employées, les méthodologies et technologies utilisées pour l'analyse des résidus de pesticides n'ont cessé de progresser depuis une décennie. Ainsi, l'usage du détecteur fluorimétrique s'est avéré comme une aide importante, voire même, dans certains cas, un outil incontournable [31]. Sa sélectivité, sa sensibilité et son adaptabilité à diverses conditions expérimentales (CLHP, CPG, FIA, CCM) ont fini d'en persuader la plupart des analystes. Les limites de détection (LD) atteintes par ce type de détecteur s'échelonnent entre des parties par billion (ppb) aux parties par trillion (ppt)

pour l'analyse des eaux [3-8] et des parties par million (ppm) aux ppb pour les autres types d'échantillons tels que les sols [9-12], les récoltes [13-20] et les matrices biologiques [23-28]. Ces basses limites de détection sont en général largement en dessous des seuils de tolérance fixés à 0.1 ppb pour l'eau [32] et 0.1 ppm pour les aliments [2].

Dans deux articles publiés indépendamment sur la "*révolution de l'analyse environnementale*", Grasselli [33] et Harris [34] ont évoqué l'évolution spectaculaire au cours de ces dernières années sur le plan méthodologique et technologique, des systèmes de détection appliqués à l'analyse environnementale. Ces auteurs font remarquer que les limites de détection des polluants qui s'élevaient à environ 1 ppm dans les années 1950 atteignent de nos jours le seuil du ppt voire même celui de l'attomole (10^{-18} mole) ou de la zeptomole (10^{-21} mole) [35]. Parallèlement, les temps d'analyse qui étaient de plusieurs heures voire même de plusieurs jours dans les années cinquante ou soixante se font aujourd'hui en quelques minutes. Cette évolution exponentielle des performances des méthodes d'analyse dépasse l'entendement, et dès lors il se pose en termes clairs les questions cruciales sur le rôle déterminant du chimiste analyste, la perception par le public du seuil de la pollution tolérable, le degré d'exactitude des résultats analytiques, les limites de l'analyse environnementale, le concept de "*concentration zéro*" et la relation dose/signal. Tels sont les principaux thèmes discutés dans ces publications au ton par ailleurs assez provocateur.

En dépit de ces performances analytiques remarquables, l'un des problèmes permanents des méthodes fluorimétriques (comme celui des autres méthodes) reste toujours l'amélioration de la sensibilité. En effet, de nombreux travaux [36-38] ont été consacrés à l'évaluation des différents moyens instrumentaux permettant d'augmenter la sensibilité des méthodes fluorimétriques. L'usage de détecteurs à compteur de photon unique, les sources d'excitation laser et des techniques basées sur les fibres optiques apparaissent comme étant les plus prometteuses, mais nécessitent malheureusement un appareillage très sophistiqué et de coût assez élevé. Ainsi, il serait plus intéressant de disposer d'une alternative plus simple et ne nécessitant pas un effort instrumental important qui permettrait d'arriver à des résultats analytiques voisins. Ce mémoire traitera d'une telle approche basée sur les méthodes photochimiques fluorimétriques et faisant appel aux milieux organisés.

Les milieux organisés, tels que les cyclodextrines [39], les micelles [40] et les vésicules liposomiques [41] sont des auto-assemblages de molécules formant des structures macromoléculaires en équilibre dynamique avec la phase prédominante constituée par le solvant extérieur. Ces structures constituent des phases microhétérogènes caractérisées le plus

souvent par une augmentation importante de la polarité et de la viscosité. En conséquence, beaucoup de ces milieux organisés sont capables de solubiliser sélectivement par formation d'agrégats en solution une variété de fluorophores hydrophobes entraînant ainsi une exaltation de leur intensité de luminescence. Comme le microenvironnement autour du soluté associé à ces agrégats est en général très différent de celui d'un solvant classique, on observe souvent des variations importantes des rendements quantiques [42,43], des durées de vie des états excités singulet [43] ou triplet [44-47] du soluté, des spectres d'excitation et d'émission [48], ainsi que des processus d'inhibition et de désactivation [42,43,45] dans ces milieux. Ces différences de propriétés photophysiques produisent fréquemment une forte augmentation du signal de luminescence dans les milieux organisés, les effets de matrices étant diminués par suite de la réduction des interactions intermoléculaires résultant d'une compartimentalisation effective du soluté [49]. De plus, les processus de traitement des échantillons réels peuvent être simplifiés par dissolution ou extraction de ces échantillons dans les milieux organisés [49].

Dans ce travail, nous décrivons l'effet de deux types de milieux organisés, à savoir les cyclodextrines et les micelles sur la détermination fluorimétrique et fluorimétrique induite photochimiquement (FIP) de treize pesticides dans les formulations techniques et les eaux naturelles. Nous évaluerons la stoechiométrie des associations formées ainsi que la grandeur des constantes de formation. Nous comparerons les performances analytiques de ces méthodes en milieux organisés à celles obtenues en milieux organiques. Notre but essentiel est de démontrer que l'illumination directe de pesticides solubilisés au cœur même des micelles ou complexés dans la cavité des cyclodextrines permet de produire des fluorophores, ce qui conduit à une méthode valable et efficace pour déterminer rapidement des traces de pesticides naturellement non fluorescents dans les milieux naturels.

Ce mémoire comporte essentiellement trois parties:

Dans la première partie, consacrée à une étude bibliographique, nous avons décrit les principales méthodes d'analyse des pesticides par luminescence et leur application à l'environnement.

La deuxième partie développe les techniques expérimentales et procédures utilisées dans ce travail.

Dans la troisième partie, nous avons rassemblé l'ensemble de nos résultats expérimentaux comportant l'analyse par fluorescence et fluorescence photoinduite des pesticides (aromatiques et herbicides sulfonyles) sélectionnés en solution stationnaire et en flux dynamique de solvant (FIA). Nous avons aussi tenté de résoudre des mélanges

d'herbicides sulfonylurées par la méthode des spectres dérivés de fluorescence photoinduite du premier ordre (FIP- $^1D_\lambda$) et la méthode des moindres carrés partiels (PLS, "*partial least squares*"). Enfin nous avons cherché à identifier les photoproduits formés au cours des différentes réactions de photodégradation de certains de ces pesticides.

REFERENCES

- [1] J. Sherma, *Anal. Chem.* **65** (1993) 40R.
- [2] J. Sherma, *Anal. Chem.* **67** (1995) 1R.
- [3] G.L. Brun, R.M. Mac Donald, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **24** (1980) 886.
- [4] J. Rohand, J.L. Vilchez, L.F. Capitan-Vallvey, R. Avidad, A. Navalon, *Euroanalysis VIII*, Edinburg, Scotland, UK, September 5-11, 1993, Book of abstracts, PG7.
- [5] W. Schussler, *Chromatographia* **29** (1990) 24.
- [6] L.F. Garcia, J.-J. Aaron, *Mikrochim. Acta* **126** (1997) 289.
- [7] D. Chaput, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **69** (1986) 985.
- [8] A. De Kok, M. Hiemstra, U.A.T. Brinkman, *J. Chromatogr.* **623** (1992) 265.
- [9] F. Garcia-Sanchez, C. Cruces-Blanco, *J. Agric. Food. Chem.* **37** (1989) 937.
- [10] A. Dekker, N.W.H. Houx, *J. Environ. Sci. Health* **18** (1983) 379.
- [11] K.M.S. Sundaram, J. Curry, *J. Chromatogr.* **672** (1994) 117.
- [12] J.A. Stab, M.J.M. Rozing, B. Van Hattum, W.P. Cofino, U.A.T. Brinkman, *J. Chromatogr.* **609** (1992) 195.
- [13] F. Garcia-Sanchez, C. Cruces-Blanco, *Mikrochim. Acta* **21** (1989) 49.
- [14] N. Motohashi, H. Nagashima, R. Meyer, *J. Liq. Chromatogr.* **14** (1991) 3591.
- [15] R.T. Krause, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **68** (1985) 726.
- [16] A. De Kok, M. Hiemstra, C.P. Vreeker, *Chromatographia* **24** (1987) 469.
- [17] W. Blass, *Fresenius' J. Anal. Chem.* **339** (1991) 340.
- [18] J.F. Lawrence, R. Leduc, *J. Chromatogr.* **152** (1978) 507.
- [19] F. Garcia-Sanchez, A. Aguilar-Gallardo, C. Cruces-Blanco, *Talanta* **39** (1992) 1195.
- [20] L.G.M.T. Tuinstra, P.G.M. Kienhuis, *Chromatographia* **24** (1987) 696.
- [21] F. Garcia-Sanchez, C. Cruces-Blanco, *Analyst (London)* **116** (1991) 851.
- [22] J.E. Vasta, E.J. Kvartek, *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* **46** (1985) 230.
- [23] K. Hunter, *J. Chromatogr.* **321** (1985) 255.
- [24] S.H. Lee, L.R. Field, *Anal. Chem.* **53** (1981) 467.
- [25] D.E. Mundy, A.F. Machin, *J. Chromatogr.* **234** (1982) 427.
- [26] L.J. Felice, T. Chalermchaikit, M.J. Murphy, *J. Anal. Toxicol.* **15** (1991) 126.
- [27] T. Yu, Y. Arakawa, *J. Chromatogr.* **258** (1983) 189.
- [28] C.E. Werkhoven-Goewie, W.M. Boon, A.J.J. Praat, R.W. Frei, U.A.T. Brinkman, C.J. Little, *Chromatographia* **16** (1982) 53.
- [29] T. Kojima, M. Yashiki, T. Miyazaki, F. Chikasue, F. Ohtani, *Forensic Sci. Int.* **41** (1989) 245.

- [30] V.K. Sharma, R.K. Jadhav, G.J. Rao, A.K. Saraf, H. Chandra, *Forensic Sci. Int.* **48** (1990) 21.
- [31] A. Coly, J.-J. Aaron, *Talanta* **46** (1998) 815.
- [32] *EC Directive Relating to the Quality of Water Intended for Human Consumption* 1982, 90/778/EEC, Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg.
- [33] J.G. Grasselli, *Anal. Chem.* **64** (1992) 677A.
- [34] W.E. Harris, *Anal. Chem.* **64** (1992) 665A.
- [35] H. Swerdlow, J.Z. Zhang, D.Y. Cheng, H.R. Harke, R. Grey, S. Wu, N.J. Dovichi, C. Fuller, *Anal. Chem.* **63** (1991) 2835.
- [36] R.J. Van de Ness, N.H. Velthorst, U.A.T. Brinkman, C. Gooijer, *J. Chromatogr.* **704A** (1995) 1.
- [37] I.M. Warner, S.A. Soper, L.B. McGown, *Anal. Chem.* **68** (1996) 73R.
- [38] S.A. Soper, I.M. Warner, L.B. McGown, *Anal. Chem.* **70** (1998) 477R.
- [39] S. Li, W.C. Purdy, *Chem. Rev.* **92** (1992) 1457.
- [40] L.J. Cline Love, J.G. Habarta, J.G. Dorsey, *Anal. Chem.* **56** (1984) 1132A.
- [41] S.L. Neal, M.M. Villegas, *Anal. Chem.* **67** (1995) 2659.
- [42] J.-J. Aaron, A. Coly, *Analyst* **121** (1996) 1545.
- [43] H. Singh, W.L. Hinze, *Anal. Lett.* **15** (1982) 221.
- [44] L.J. Cline Love, M. Skrilec, J.G. Habarta, *Anal. Chem.* **52** (1980) 754.
- [45] M. Almgren, F. Grieser, J.K. Thomas, *J. Am. Chem. Soc.* **101** (1979) 279.
- [46] A.G. Mwalupindi, L.A. Blyshak, T.T. Ndou, I.M. Warner, *Anal. Chem.* **63** (1991) 1328.
- [47] L.A. Blyshak, M. Rollye-Taylor, D.W. Sylvester, A.L. Underwood, G. Patonay, I.M. Warner, *J. Colloid Interface Sci.* **136** (1990) 509.
- [48] M.A. Kessler, O.S. Wolfbeis, *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.* **93** (1989) 927.
- [49] P.M. Ritenour Hertz, L.B. McGown, *Anal. Chem.* **64** (1992) 2920.

PREMIERE PARTIE

(Etude Bibliographique)

METHODES D'ANALYSE DES PESTICIDES PAR LUMINESCENCE: APPLICATIONS A L'ENVIRONNEMENT.

Résumé: Une mise au point bibliographique sur les principales méthodes d'analyse des restes de pesticides dans l'environnement par la technique de luminescence est présentée. Une grande part est consacrée à la description de la méthode fluorimétrique, aussi bien la méthode directe qu'indirecte (dérivatisation chimique et photochimique). La détection par fluorescence en solution stationnaire ou couplée avec la CCM, la CLHP et la FIA ("flow injection analysis") et son application aux échantillons réels environnementaux est discutée. Quelques aspects de l'analyse de ces composés par phosphorescence sont évoqués. Les avantages ainsi que les inconvénients de chaque méthode sont mis en relief et/ou discutés.

Mots clés: *Pesticide, Fluorescence, Phosphorescence, Analyse, Environnement.*

I- INTRODUCTION

Les pesticides (produits antiparasitaires à usage agricole) contribuent de façon importante à la contamination de l'environnement. En raison de leur usage très répandu dans l'agriculture moderne, il est difficile d'estimer la consommation mondiale actuelle des pesticides; en effet, la liste de ces composés s'est singulièrement enrichie du fait des progrès incroyablement rapides de la chimie de synthèse. Leur nombre dépasse largement le millier [1-4] et, par conséquent, le rejet de polluants d'origine agrochimique dans l'environnement a augmenté proportionnellement, ce qui nécessite l'emploi de méthodes d'analyse de plus en plus sensibles et sélectives destinées à contrôler le rôle des pesticides dans les processus de bioaccumulation.

D'importants progrès ont été accomplis en ce qui concerne le développement et l'application des méthodes de séparation telles que la chromatographie en phase gazeuse (CPG) et la chromatographie liquide haute performance (CLHP) ainsi que des techniques de détection comme la spectrophotométrie, la fluorescence, l'électrochimie, la spectrométrie de masse, etc. Ces techniques permettent à l'heure actuelle d'identifier et de déterminer des résidus de pesticides dans de nombreux échantillons environnementaux [1,2,4-7].

Présentement, la CPG demeure la principale méthode utilisée pour l'analyse de ces résidus [1,2] grâce à sa grande capacité de séparation et à la variété de détecteurs susceptibles d'être appliqués; la détection par spectrométrie de masse (CPG-SM) s'avère particulièrement efficace. Toutefois, elle présente quelques inconvénients car elle nécessite souvent de recourir à des procédures de prétraitements dans le cas des pesticides peu volatils et/ou thermolabiles (*e.g.*, carbamates, phénylurées et sulfonilurées). La deuxième méthode la plus utilisée est la CLHP avec détection UV-visible, qui reste la technique de choix pour les analyses de routine.

L'application de la luminescence (particulièrement la fluorescence) pour détecter les pesticides est limitée par le fait que relativement peu de ces composés sont naturellement luminescents. Toutefois, la plupart des pesticides possèdent un degré d'aromaticité suffisant pour être convertis en dérivés stables luminescents par des techniques de dérivatisation. De manière générale, deux cas peuvent se présenter: *(i)* si le pesticide est luminescent, il est possible de le déterminer directement; *(ii)* s'il est non ou peu luminescent, il peut être converti avant analyse en dérivé luminescent au moyen de diverses réactions chimiques et/ou photochimiques.

Ainsi, comme dans le cas de la CPG et d'autres méthodes analytiques, les techniques de dérivatisation constituent un aspect important de l'analyse fluorimétrique des pesticides.

L'usage de la dérivation ne cesse d'augmenter comme l'atteste le nombre considérable de publications, revues [8-13] et livres [14-17] consacrés à ce sujet. Dans cette étude bibliographique, nous considérerons les publications les plus importantes décrivant des avancées significatives de l'analyse des pesticides par luminescence sur le plan de la méthodologie, de l'instrumentation ainsi que des applications analytiques à l'environnement. Nous examinerons essentiellement la littérature de ces vingt dernières années relative aux méthodes de luminescence les plus couramment utilisées pour déterminer les pesticides dans l'environnement, à savoir, la fluorimétrie directe et indirecte, la fluorimétrie induite photochimiquement (FIP), la fluorimétrie photosensibilisée et la phosphorimétrie. Comme nous le montrerons, les récents progrès en optique et électronique ont contribué à accroître la précision et la sensibilité instrumentale, ce qui fait de la luminescence un puissant outil de détection des résidus de pesticides.

II- METHODES FLUORIMETRIQUES

Les premiers travaux sur la fluorescence des pesticides réalisés en solution stationnaire par Hornstein dès 1958 [18], ont évidemment concerné des pesticides naturellement fluorescents comme le guthion, le potsan, la warfarine et le butoxyde pipéronyle. Ces premiers essais ont permis de tester l'utilité de la méthode fluorimétrique pour détecter de faibles concentrations de ces pesticides. Les résultats prometteurs obtenus ont incité les analystes à développer non seulement la méthode fluorimétrique directe, mais aussi, diverses techniques de dérivation permettant de transformer des pesticides naturellement non fluorescents en dérivés fluorescents (Fig. 1). On peut donc distinguer plusieurs types de méthodes fluorimétriques de détermination des pesticides qui seront examinées successivement.

1. Méthodes fluorimétriques directes

La méthode directe est basée sur la détection par fluorescence de la substance à analyser; elle est donc appliquée principalement aux pesticides naturellement très fluorescents. Ainsi, les propriétés de fluorescence de plusieurs classes de pesticides ont été étudiées. Il s'agit des rodenticides anticoagulants, indanediones [19-21] et coumarines [19-29], des insecticides de la famille des carbamates tels que l'aminocarb [30], le bendiocarb [19,21,31], le bénomyl [31,32], le carbaryl [31,33-36], le carbofuran [35,36], des insecticides organophosphorés comme le coumaphos [31] et le pirimiphos méthyl [19,21], et enfin d'autres pesticides

appartenant à des classes diverses [31]. Par exemple, Krause [31] a appliqué la CLHP avec détection fluorimétrique à un ensemble de 75 pesticides et composés à usage industriel en se basant soit sur leurs propriétés de fluorescence déjà connues, soit sur leur aptitude à fluorescer du fait de leur structure moléculaire. Les principaux résultats analytiques obtenus par cette méthode sont rassemblés dans le Tableau 1. La méthode directe a été aussi appliquée à des herbicides [37-39] et fongicides [40-43]. Mais dans la plupart des cas, la détection fluorimétrique directe des pesticides a été réalisée sur un substrat solide *i.e.*, par chromatographie sur couche mince (CCM) [32,44], ou couplée avec des systèmes dynamiques comme la CLHP [20,22-31,33-37,40-42,45-48], l'analyse par injection en flux (FIA) [21,43]. Des techniques spécifiques telles que la fluorescence synchrone et/ou la méthode des spectres dérivés de fluorescence [38,39] ont été aussi proposées.

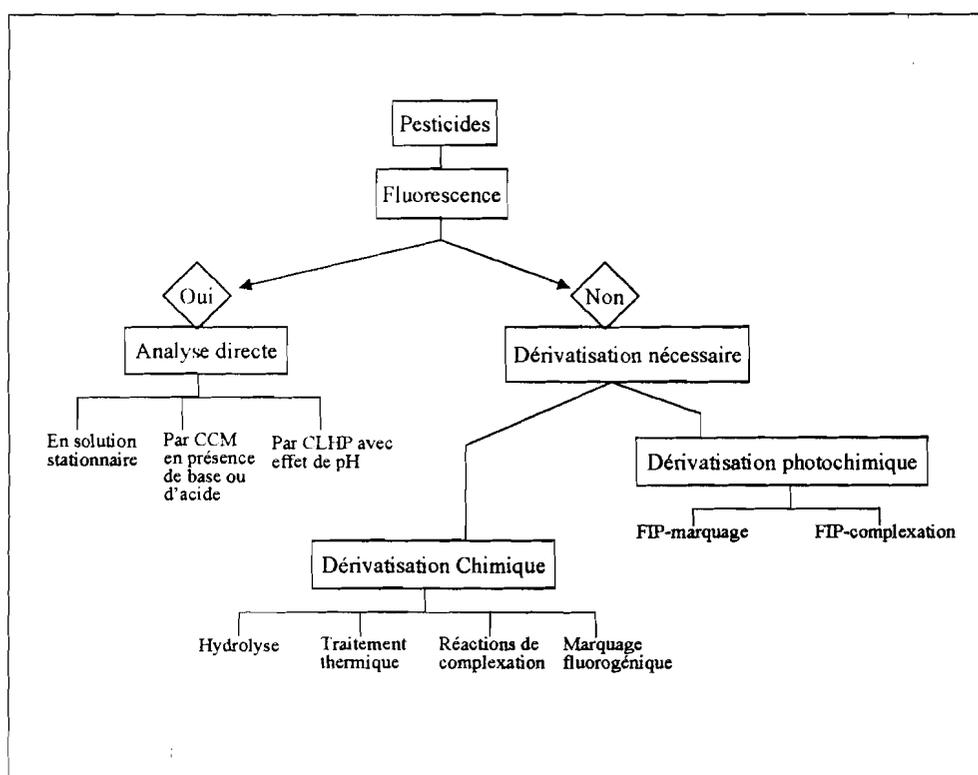


Fig. 1: Organigramme des différentes méthodes fluorimétriques appliquées à l'analyse des pesticides [13].

1.1. Détection fluorimétrique sur substrat solide (CCM)

Cette méthode d'analyse des pesticides est de moins en moins employée. Parmi les différents substrats solides existants, le gel de silice est le plus souvent utilisé [32,44]. La technique est facile à mettre en œuvre, nécessite un matériel peu coûteux et présente l'avantage

d'être relativement rapide. En revanche, sa sensibilité et surtout sa sélectivité restent faibles. L'amélioration récente de la qualité des substrats ainsi que le développement de la CCM à haute performance (CCMHP) [49,50] a permis d'accroître les performances analytiques de cette méthode. Une autre technique appelée fluorescence en phase solide (FPS) a permis d'analyser quatre pesticides aromatiques dans divers échantillons d'eaux; les limites de détection (LD) s'échelonnent entre 0.04 et 0.15 ng ml⁻¹ suivant la structure moléculaire des pesticides [32].

1.2. Détection fluorimétrique combinée avec la CLHP

L'utilisation de cette technique de détection est elle-même étroitement liée au développement important de l'instrumentation en CLHP. C'est surtout pour palier la faible sensibilité et la sélectivité médiocre des détecteurs UV-visible classiques que les fluorimètres sont utilisés actuellement. Les performances de la CLHP résident quant à elles dans l'efficacité des différents types de colonnes de séparation utilisées. Par exemple les valeurs des LD suivantes ont été obtenues pour la même série de rodenticides analysés à l'aide de plusieurs systèmes de colonnes CLHP: (i) 2-20 ng ml⁻¹ pour la CLHP en phase normale [20,24]; (ii) 2-20 ng ml⁻¹ pour la CLHP en phase inverse [20,23,24,27,31], (iii) 2-10 ng ml⁻¹ pour la CLHP ionique [20].

Enfin dans d'autres applications, le détecteur fluorimétrique peut être connecté en série avec un détecteur UV-visible ou électrochimique [37,40,48].

1.3. Détection fluorimétrique en solution stationnaire

Ce mode de détection traditionnel a été beaucoup employé. Malgré sa mise en œuvre relativement longue, plusieurs applications de cette procédure à l'analyse des pesticides ont été signalées récemment due à la sélectivité pouvant être améliorée en utilisant la procédure de dérivation (1^{ère} ou 2^{nde}) des spectres, combinée avec la fluorescence synchrone [38,39]. La sensibilité et la sélectivité de cette dernière approche ont été démontrées par Garcia-Sanchez et al. [51-55]. Des valeurs de LD de l'ordre de 1 ng ml⁻¹ ont été obtenues par la méthode de la dérivée première lors de l'analyse de l'acide naphthylacétique, un régulateur de croissance [38], et les taux de récupération de pesticide à partir des échantillons fortifiés de pommes étant compris entre 97 et 99%.

Tableau 1: Méthodes de détermination fluorimétrique directe des pesticides dans l'environnement.

Méthode	Pesticide	Matrices	Récupération (%)	LD ^a	Réf.
SS	Chlorophacinone	Formulation	94-116	8	[19]
SS	Coumatétralyl	Formulation	86-102	0.07	[19]
SS	Pirimiphos méthyl	Formulation	88-99	0.3	[19]
CLHP	Coumatétralyl	Tissus animaux	-	2	[20,25]
CLHP	Difénacoum	Tissus animaux	-	2	[20,25]
CLHP	Brodifacoum	Tissus animaux	-	2	[20,25]
CLHP	Bromadiolone	Tissus animaux	86-95	8	[20]
CLHP	Warfarine	Tissus animaux	95-97	10	[20]
FIA	Bendiocarb	Eau, robinet	97-101	22 ^b	[21]
FIA	Chlorophacinone	Eau, robinet	93-102	2 ^b	[21]
CLHP	Warfarine	Plasma, urine	-	0.18 ^b	[22]
CLHP	7-OH-warfarine	Plasma, urine	-	0.06 ^b	[22]
CLHP	Brodifacoum	Sérum	86-100	20	[23]
CLHP	Difénacoum	Tissus foie	87-100	20	[23]
CLHP	Coumatétralyl	Tissus foie	87-93	20	[23]
CLHP	Warfarine	Sérum	90-98	50	[23]
CLHP	Coumatétralyl	Tissus foie	93-94	2	[24]
CLHP	Difénacoum	Tissus foie	95-99	2	[24]
CLHP	Brodifacoum	Tissus foie	89-91	2	[24]
CLHP	Bromadiolone	Tissus foie	82-93	10	[24]
CLHP	Warfarine	Tissus foie	90-95	20	[24]
CLHP	Bromadiolone	Sérum sang	91-98	20	[27]
CLHP	Warfarine	Sérum sang	68-80	20	[27]
CLHP	Brodifacoum	Sérum sang	86.7	10	[27]
CLHP	Coumatétralyl	Sérum sang	81-82	10	[27]
CLHP	Difénacoum	Sérum sang	89-90	10	[27]
CLHP	Aminocarb	Eau, lac, pluie	76-84	0.05	[30]
CLHP	Carbaryl	-	-	0.5 ^b	[31]
CLHP	Carbofuran	-	-	10 ^b	[31]
CLHP	Coumaphos	-	-	0.5 ^b	[31]
CLHP	<i>o</i> -Phénylphénol	-	-	0.5 ^b	[31]
CCM	Bénomyl	Eau, mer	100-107	0.04	[32]
CCM	Morestan	Eau, mer	103-105	0.15	[32]
CCM	<i>o</i> -Phénylphénol	Eau, robinet	99-103	0.08	[32]
CLHP	Carbaryl	Tissu plante	93	-	[33]
CLHP	Carbaryl	Tissu plante	72-81	-	[34]
CLHP	Carbaryl	Tissu plante	102-108	-	[36]
CLHP	Carbofuran	Tissu plante	102-108	-	[36]
CLHP	MCPA ^c	Eau, fleuve	81	0.035	[37]
CLHP	Mécoprop	Eau, fleuve	97	0.040	[37]
CLHP	MCPB ^c	Eau, fleuve	85	0.030	[37]
FSN	Acide Naphthylacétique	Pomme	95-105	4	[38]
FS ¹ D	Acide Naphthylacétique	Pomme	95-101	1.1	[38]
FS ² D	Acide Naphthylacétique	Pomme	97-103	1.6	[38]
FSN	Flurécol	Sols souterrains	92-103	54	[39]
FS ¹ D	Flurécol	Sols souterrains	91-105	128	[39]
FS ² D	Flurécol	Sols souterrains	88-102	41	[39]
CLHP	<i>o</i> -Phénylphénol	Fruits, légumes	90-104	-	[40]
CLHP	Carbendazim	Myrtilles	76-94	15	[41]
CLHP	Diphényl	Oranges	99-100	100	[42]
CLHP	<i>o</i> -Phénylphénol	Oranges	98-100	50	[42]
CLHP	Thiabendazole	Oranges	98-99	50	[42]
FIA	Fubéridazole	Eau	102-107	0.1	[43]
FIA	Thiabendazole	Eau	104-105	0.7	[43]
FSAV / CD	Aminocarb	Eau	99.5	89	[55]
FSAV / CD	Carbendazim	Eau	104	55	[55]
FSAV / CD	Coumatétralyl	Eau	106	17	[55]
SS / CD	Warfarine	Eau	95-105	59	[61]
SS / CD	Coumatétralyl	Eau, fleuve	112-116	0.2	[135]
SS / CD	Pirimiphos méthyl	Eau, fleuve	104-105	3.9	[135]

^aLimite de détection en ng ml⁻¹ sauf note contraire; ^bEn ng; ^cMCPA: acide 2-méthyl-4-chlorophénoxyacétique; ^cMCPB: acide 4-(2-méthyl-4-chlorophénoxy) butyrique; SS: Solution stationnaire; CLHP: Chromatographie liquide haute performance; FIA: Analyse par injection en flux; CCM: Chromatographie sur couche mince; FSN: Fluorescence synchrone normale; FS¹D: Fluorescence synchrone dérivée d'ordre un; FS²D: Fluorescence synchrone dérivée d'ordre deux; FSAV: Fluorescence synchrone à angle variable; CD: Cyclodextrines.

Des milieux organisés tels que les cyclodextrines [56], les micelles [57] et les vésicules liposomiques [58], ont été également utilisés pour résoudre des mélanges de pesticides [55], exalter la détection fluorimétrique [59] ou réduire les interférences dues aux impuretés [60]. Toutefois, l'application de tels milieux à la spectrofluorimétrie a essentiellement porté jusqu'à présent sur des molécules organiques autres que les pesticides [55,59,61].

En conclusion, la détection fluorimétrique en milieu stationnaire ou combinée avec les techniques de CCM ou de CLHP s'avère extrêmement sensible et sélective pour analyser les pesticides. Les LD sont de l'ordre du ng ml^{-1} (Tableau 1). Toutefois, les valeurs de ces LD doivent être considérées avec précaution car elles sont parfois obtenues à l'issue des étapes d'enrichissement ou de préconcentration lors des procédures de prétraitement. Malheureusement, le nombre de pesticides naturellement fluorescents est relativement faible et, plusieurs réactions de dérivatisations ont donc été proposées.

2. Méthodes fluorimétriques avec prétraitement

La dérivatisation chimique est généralement appliquée aux substances non ou faiblement fluorescentes. De telles substances peuvent être converties en dérivés très fluorescents à l'aide de réactions chimiques simples. Le type de réaction de dérivatisation appliquée aux pesticides dépend principalement de la classe du pesticide analysé [8,10,12,62-65]. Le principe de la méthode de dérivatisation est fondé sur la formation d'un fluorophore à l'aide d'un réactif chimique ou d'un traitement physique spécial (thermique, électrique, etc.). Le choix du réactif ou du traitement impose le type voire le mécanisme de la réaction à réaliser. Les méthodes de dérivatisation les plus usuelles comprennent l'hydrolyse, le traitement thermique, les réactions de complexation et le marquage fluorogénique.

2.1. Hydrolyse

Il s'agit de la méthode de prétraitement des pesticides la plus simple et la plus ancienne. L'hydrolyse réalisée le plus souvent en milieu très alcalin (NaOH 1M) et à température relativement élevée (50-100°C), mène à la formation d'anions fluorescents. La méthode a été appliquée avec succès à l'analyse de carbamates tels que le carbaryl [32,66,67], le bénomyl [32] et d'insecticides organophosphorés comme que le guthion [68] et le quinalphos [69]; les LD étant de l'ordre du nanogramme. Par exemple, une LD fluorimétrique de 6 ng a été obtenue

pour le carbaryl après hydrolyse en α -naphthol sur plaque CCM et vaporisation d'une solution de NaOH 1 M [66]. De plus, pour certains pesticides, la sensibilité de la méthode augmente considérablement après un traitement thermique des produits d'hydrolyse.

2.2. Traitement thermique

Cette technique, actuellement peu usitée est basée sur la décomposition thermique à une température donnée (75-225°C) et pendant un temps déterminé (5-45 min) de la substance à analyser, suivie d'une détection fluorimétrique des plaques de CCM *in situ* (Tableau 2). Le mécanisme de la production de fluorescence est encore mal compris actuellement. Néanmoins, il est probable que la chaleur provoque la dégradation et donc un réarrangement du composé initial en une ou plusieurs espèces plus stables et/ou plus conjuguées. En fait, la production de fluorescence est liée à un seul critère structural, à savoir la présence d'un certain degré d'aromaticité dans la molécule étudiée. La technique a été employée pour l'analyse des insecticides organophosphorés [70] et d'autres pesticides naturellement fluorescents [70,71]. Pour ces derniers composés, on observe généralement d'importants déplacements des spectres d'excitation et d'émission, ainsi qu'une augmentation ou parfois, une diminution du signal de fluorescence (Tableau 2). L'effet de plusieurs réactifs externes tels que les acides, les bases [71] et les sels inorganiques [72] sur la décomposition thermique sur couche mince de silice d'un certain nombre de pesticides a été étudié. L'influence des bases s'est avérée plus efficace que celle des acides en ce qui concerne l'exaltation du signal de fluorescence. Le bruit de fond qui affecte généralement cette technique est absent en présence de bases, ce qui améliore la reproductibilité des mesures. Les LD trouvés varient entre 1 et 200 ng selon le composé (Tableau 2).

2.3. Réactions de complexation

Les réactions de complexation ont été largement appliquées à la détermination des résidus de pesticides dans l'environnement, notamment pour détecter les pesticides organostanniques, généralement employés dans l'agriculture comme fongicides et insecticides. Une approche basée sur la méthode de complexation directe conduisant à la formation de complexes pesticide-ligand fortement fluorescents a été développée dans la littérature [65,73-77]. En effet, les pesticides inorgano et organostanniques peuvent former des complexes fluorescents avec le flavonol, la morine et la quercétine [65,73,74].

Tableau 2: Effet du traitement thermique sur les propriétés de fluorescence de pesticides par CCM.

Pesticide	Conditions thermiques optimales	Longueur d'onde maximale (nm)		I.D (ng)		Références.
		Avant / Après traitement $\lambda_{ex}, \lambda_{em}$ / $\lambda_{ex}, \lambda_{em}$	Avant / Après traitement	Avant / Après traitement		
	Temp. / Temps (°C) / (min)					
Bayrusil	100 / 30	- / 353,441	- / 20		[70]	
Bayrusil	200 / 30 (1M NaOH) ^a	- / 356,440	- / 4		[70]	
Bayrusil	100 / 30 (1M KOH) ^a	- / 356,440	- / 6		[70]	
Bayrusil	100 / 30 (0.5M H ₂ SO ₄) ^a	- / 373,510	- / 8		[70]	
Bénomyl	200 / 45	298,422 / 362,464	60 / 20		[70]	
Captan	100 / 45 (0.1M AlCl ₃) ^b	- / 360,465	- / 20		[72]	
Chlorpyrifos	200 / 30 (1M KOH) ^a	- / 370,510	- / 40		[70]	
Coumaphos	200 / 20	- / 344,440	- / 1		[70]	
Coumaphos	200 / 20	- / 366,400	- / 10		[50]	
Coumatétralyl	200 / 45 (0.1M NH ₄ OH) ^a	- / 358,450	- / 10		[71]	
Cythioate	200 / 45 (1M NaOH) ^a	- / 350,458	- / 10		[70]	
Cythioate	200 / 45 (1M KOH) ^a	- / 345,450	- / 60		[70]	
Dervinol	TA ^c / 30 (1M AlCl ₃) ^a	355,428 / -	8 -		[72]	
Difolatan	100 / 45 (0.1M AlCl ₃) ^b	- / 360,465	- / 20		[72]	
Diphacinone	200 / 45 (2.5M KOH) ^a	- / 330,514	- / 2000		[71]	
Diquat	TA ^c / 30 (0.1M AlCl ₃) ^a	375,472 / -	20 -		[72]	
Fospirate	200 / 45	- / 351,440	- / 200		[70]	
Fospirate	150 / 45 (1M NaOH) ^a	- / 353,439	- / 1000		[70]	
Fospirate	150 / 45 (1M KOH) ^a	- / 357,436	- / 1000		[70]	
Fubéridazole	200 / 45 (0.1M HCl) ^a	- / 333,410	- / 6		[71]	
Marctine	200 / 20	364,482 / 352,435	8 / 4		[70]	
Marctine	200 / 20 (1M NaOH) ^a	- / 370,500	- / 2		[70]	
Marctine	200 / 20 (1M KOH) ^a	- / 365,492	- / 6		[70]	
Marctine	75 / 20 (0.5M H ₂ SO ₄) ^a	- / 355,440	- / 1		[70]	
Marctine	TA ^c / 20 (0.1M AlCl ₃) ^b	358,412 / -	2 -		[72]	
Ménazon	TA ^c / 5 (0.1M H ₂ SeO ₃) ^b	366,466 / -	10 -		[72]	
Méthabenzthiazuron	200 / 45	- / 353,439	- / 2		[71]	
Naptalam	200 / 45	- / 361,455	- / 80		[71]	
Naptalam	220 / 30 (2.5M KOH) ^a	- / 298,455	- / 40		[71]	
Naptalam	200 / 45 (1M AlCl ₃) ^a	- / 312,482	- / 10		[72]	
Noltran	200 / 45	- / 351,440	- / 80		[70]	
Noltran	200 / 45 (1M KOH) ^a	- / 377,505	- / 100		[70]	
Paraquat	100 / 45 (0.1M Na ₂ B ₄ O ₇) ^b	- / 420,510	- / 40		[72]	
Phosalone	200 / 120	- / 370,489	- / 20		[70]	
Propyl isome	200 / 45 (0.1M HCl) ^a	- / 352,472	- / 8		[71]	
Quinométhionate	200 / 45 (0.05M H ₂ SO ₄) ^a	- / 337,458	- / 40		[71]	
Quinométhionate	200 / 45 (0.1M NH ₄ OH) ^a	- / 335,455	- / 10		[71]	
Quinométhionate	200 / 45 (0.1M HCl) ^a	- / 362,417	- / 60		[71]	
Roténone	200 / 45	362,453 / 370,440	800 - 600		[71]	
Roténone	100 / 45 (0.1M AlCl ₃) ^b	- / 362,450	- / 60		[72]	
Thioquinox	200 / 45	- / 329,441	- / 40		[71]	
Thioquinox	200 / 45 (0.1M NH ₄ OH) ^a	- / 329,435	- / 80		[71]	
Warfarine	200 / 45	- / 363,456	- / 60		[71]	
Zinophos	225 / 30	- / 365,450	- / 80		[70]	

^aLes chromatoplaques ont été aperçus avec soit un acide ou une base forte, soit avec un sel inorganique avant le traitement thermique; ^bLe sel inorganique a été incorporé dans le substrat avant traitement thermique;

^cTA, température ambiante.

Les complexes morine-organostanniques sont les plus pratiques d'un point de vue analytique à cause de leur très grande sensibilité, de leur cinétique de complexation quasi instantanée à température ambiante et de leur stabilité dans les solvants organiques (n-hexane, éthylacétate) [73]; mais en revanche, leur solubilité est faible en milieu aqueux [74]. Les valeurs de LD reportées sont de: 10^{-7} M pour les pesticides monoalkylstanniques, 10^{-9} M pour les dialkylstanniques, 5×10^{-7} M pour les trialkylstanniques et 10^{-7} M pour les triphénylstanniques [65]. Les taux de récupération de ces mêmes composés fortifiés dans les urines et dans divers organes de rat varient entre 91 et 99.7% selon l'espèce organostannique.

Nous pouvons conclure que malgré leur simplicité et leur rapidité, les techniques de complexation ne sont pas assez sélectives et sont, par conséquent, très susceptibles aux problèmes d'interférences. Une alternative est la méthode du marquage fluorogénique.

2.4. Marquage fluorogénique

Cette méthode est de loin la plus utilisée, probablement à cause de sa très grande sensibilité, laquelle varie par ailleurs avec la nature du marqueur fluorogénique [8,12]. Le principe du marquage consiste à fixer sur un composé non fluorescent, par une réaction de substitution d'un proton ou d'un autre atome de ce composé, une molécule connue pour ses propriétés fluorogéniques. A l'origine, Lawrence et Frei [78,79] ont appliqué la méthode à l'analyse des pesticides en utilisant comme marqueur le chlorure de dansyle (Cl-Dans). Mais actuellement, d'autres types de réactifs fluorogéniques comme le chlorure de NBD (Cl-NBD: 4-chloro-7-nitrobenzo-2,1,3-oxadiazole), la fluorescamine et l'orthophthalaldéhyde combinée avec le 2-mercaptoéthanol (OPA/2-ME) ou avec l'acide 3-mercaptopropionique (OPA/3-MP) ont été développés et appliqués à l'analyse des résidus de pesticides dans l'environnement [8-10,80]. Tous ces réactifs fluorogéniques réagissent facilement avec les alkylamines, les arylamines, les thiols et les phénols, composés que l'on retrouve largement parmi les produits de dégradation des pesticides. Par exemple, les réactions d'hydrolyse des carbamates produisent des amines et des phénols [79,81], celles des herbicides urées conduisent à un dérivé de l'aniline [82,83], beaucoup d'insecticides organophosphorés fournissent des thiols et des phénols après hydrolyse [84] et enfin, les herbicides *s*-triazines donnent des alkylamines [85]. Ainsi donc, pour de nombreux pesticides, le mécanisme de la réaction de marquage est habituellement un processus simple, rapide et sélectif comprenant deux étapes: la première étant l'hydrolyse alcaline du pesticide, et la seconde, le marquage fluorogénique des produits

d'hydrolyse. Le Cl-Dans et le Cl-NBD sont généralement employés comme réactifs dans les réactions de dérivation pré-colonne tandis que la fluorescamine et l'OPA/2-ME sont plus adaptés aux réactions de dérivation post-colonne. Quelques exemples de mécanisme de réactions de marquage fluorogénique seront présentés pour certaines classes de pesticides dans les paragraphes suivants.

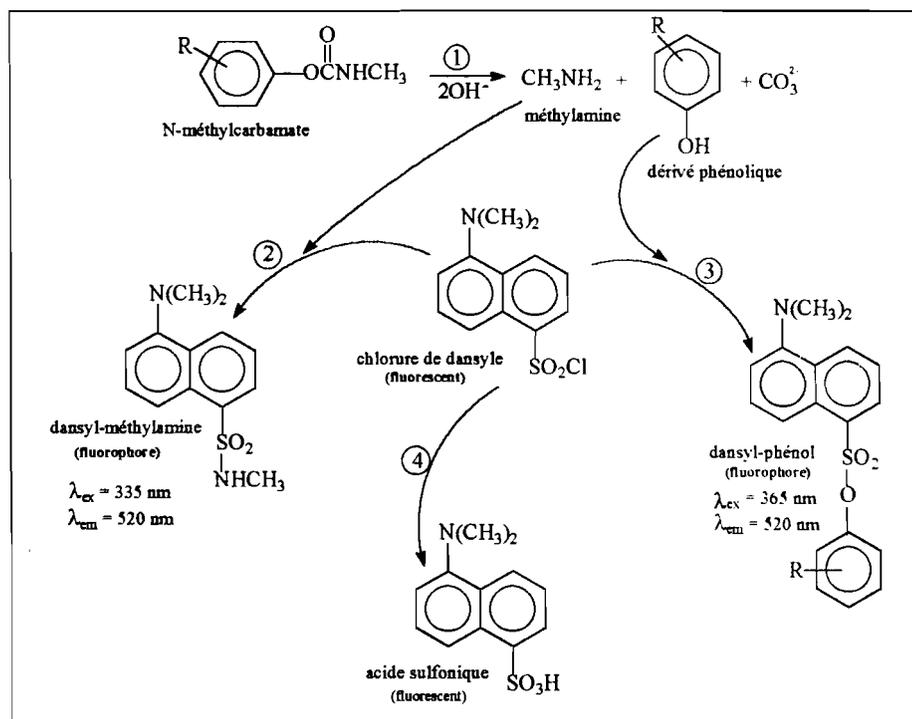


Fig. 2: Schéma réactionnel de la dansylation des insecticides N-méthylcarbamates [78,79]. (1) Hydrolyse du carbamate en phénol et méthylamine: effectuée avec une solution de Na_2CO_3 1 M pendant 10-30 min à 45 °C: (2) et (3) Marquage des dérivés méthylamine et phénolique: la cinétique du processus de marquage est plus rapide que l'hydrolyse du carbamate ou du réactif, et a généralement lieu dans un solvant miscible à l'eau (acétone, dioxane, acétonitrile) pendant 20 min à 45 °C. (4) Hydrolyse complète du Cl-Dans par le carbonate en acide sulfonique. Ainsi après donc, le fluorophore, produit de la réaction de dansylation est extrait de la solution aqueuse alcaline au moyen d'un solvant non polaire (hexane, benzène, cyclohexane) tandis que l'acide sulfonique reste dans la phase aqueuse. La phase organique est alors séchée avant analyse. Un tel réactif ne saurait évidemment pas convenir aux réactions de dérivation post-colonne, étant donné qu'il est lui-même très fluorescent et sa cinétique trop lente.

2.4.1. Marquage avec le Cl-Dans: Le Cl-Dans réagit avec les amines primaires et secondaires, les phénols et les thiols (en milieu alcalin), et les alcools aliphatiques. Les produits de réaction sont plus fluorescents que le chlorure lui-même [78,79,86-88]. La procédure employée par Lawrence et Frei [78,79] *i.e.*, l'hydrolyse des carbamates en milieu alcalin (Na_2CO_3 0.1 M) donnant un phénol et la méthylamine, est suivie de la réaction du Cl-Dans avec les deux produits dérivés de l'hydrolyse (Fig. 2). Généralement, seul le dérivé phénolique ($\lambda_{\text{ex}}=365$ nm, $\lambda_{\text{em}}=520$ nm) caractéristique des carbamates [79] est choisi pour les applications analytiques.

La technique a été utilisée à la détection des carbamates dans les eaux et les sols [86] sans recours à l'étape de purification. La réaction de marquage avec le Cl-Dans a été aussi appliquée à d'autres pesticides avec des résultats satisfaisants: c'est le cas des herbicides phénylurées (LD=1 ng) [82], des insecticides organophosphorés (LD=5-10 ng) [84] et des herbicides s-triazines (LD=10-25 ng) [85] (Tableau 3).

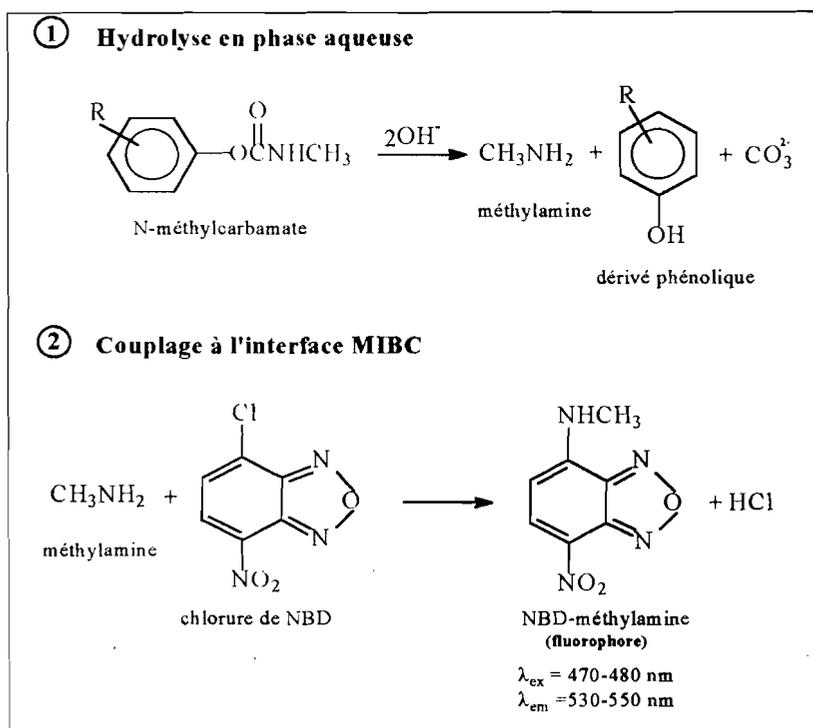


Fig. 3: Schéma réactionnel du marquage des insecticides N-méthylcarbamates par le Cl-NBD [89]. (1) Hydrolyse de l'insecticide en phase aqueuse tamponnée; (2) Marquage de la méthylamine dans la phase organique méthylisobutylcétone (MIBC). A cause de la faible solubilité du Cl-NBD dans l'eau, la réaction de marquage avec la méthylamine a lieu à l'interface eau:MIBC. La réaction de couplage est très rapide dans les solvants polaires tels que les alcools et les cétones. Effectuée à 80 °C en employant 1% de Cl-NBD dans une solution de MIBC, elle est complète au bout de 30 min. Le Cl-NBD n'est pas adapté pour les réactions de dérivation post-colonne car la cinétique est trop lente.

2.4.2. Marquage avec le Cl-NBD: Le chlorure de NBD réagit uniquement avec les amines primaires et secondaires aliphatiques pour former un dérivé fluorescent. Il est plus sélectif que le Cl-Dans, étant donné qu'il ne forme pas de dérivés fluorescents avec les phénols, les thiols, les alcools et les anilines. Contrairement au Cl-Dans, le produit d'hydrolyse du Cl-NBD n'est pas fluorescent et son interférence dans les mesures analytiques est donc faible (Fig. 3). De plus, les maxima des longueurs d'onde d'excitation ($\lambda_{\text{ex}}=470\text{-}480 \text{ nm}$) et d'émission ($\lambda_{\text{em}}=530\text{-}550 \text{ nm}$) sont localisés dans le domaine visible du spectre, région dans laquelle les effets d'interférences (avec les co-extractants éventuels) sont généralement très faibles. La technique

donc été employée à la détection quantitative des pesticides N-méthyl et N,N-diméthyl carbamates dans l'eau [89] à des niveaux de concentrations très basses, de l'ordre du nanogramme. L'avantage principal du Cl-NBD est donc sa sélectivité car un seul dérivé fluorescent est obtenu avec la plupart des carbamates, ce qui élimine toute possibilité d'interférence. Son inconvénient réside dans son inaptitude à distinguer des carbamates de structures chimiques différentes.

2.4.3. Marquage avec la fluorescamine: La fluorescamine est un puissant réactif fluorogénique synthétisé par Weigele et al. [90], qui réagit directement avec les amines primaires aliphatiques en milieu aqueux de pH 8-10 et à température ambiante pour produire en moins d'une seconde un dérivé très fluorescent. Par contre, la fluorescamine elle-même et ses produits d'hydrolyse ne sont pas fluorescents [91] (schéma 1). Sa réactivité très élevée et sa très grande sélectivité ont permis de l'appliquer à la détection des amines primaires en CLHP post-colonne. De plus, la fluorescamine peut réagir avec les amines primaires aromatiques en milieu aqueux [92].

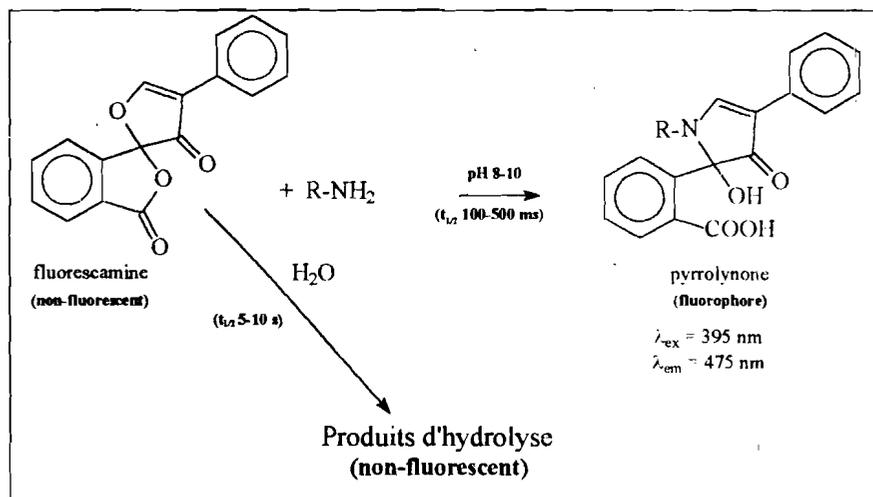


Schéma 1

En fait, le produit de la réaction avec les amines primaires aliphatiques en milieu alcalin (pH=8-10) est un fluorophore caractérisé par des maxima d'excitation à $\lambda_{ex}=395$ nm, et d'émission à $\lambda_{em}=475$ nm tandis qu'avec les amines primaires aromatiques il se forme en milieu acide (pH=3-5) un fluorophore avec les maxima de ($\lambda_{ex}=405$ nm, $\lambda_{em}=495$ nm). La fluorescamine a donc été largement utilisée comme réactif fluorogénique et appliquée à la détermination des pesticides susceptibles de se dégrader en amines [93-95]. Le mécanisme

réactionnel est analogue à celui de la dansylation des amines obtenues soit par hydrolyse des carbamates [93,94], soit par réduction des groupes nitro de certains pesticides organophosphorés tels que le fénitrothion et le parathion méthyl [95]. Les valeurs des LD s'échelonnent entre 7 et 43 ng ml⁻¹ [93,94].

2.4.4. Marquage avec l'OPA/2-ME: Initialement, l'OPA a été proposé pour déterminer par CLHP 7 insecticides N-méthyl carbamates [80]. Ce réactif réagit sélectivement avec les amines primaires aliphatiques selon un mécanisme en deux étapes (Fig. 4): hydrolyse alcaline (NaOH ou KOH) du carbamate en méthylamine et alcool, suivie du marquage de la méthylamine libérée par l'OPA en présence du 2-mercaptoéthanol (2-ME) [80,96-118] ou de l'acide 3-mercaptopropionique (3-MP) [112,119]; il se forme un dérivé très fluorescent de l'isoindole qui a été identifié par RMN et spectrométrie de masse [120]. La plupart des travaux utilisant l'OPA et le 2-ME ou le 3-MP ont été réalisés par CLHP avec dérivation post-colonne, étant donné que le réactif peut être introduit dans le circuit réactionnel par une série de pompes (Fig. 5). Les paramètres analytiques influençant la réaction de dérivation par CLHP post-colonne ont été optimisés par Krause [121,122] et Engelhardt et al. [123]. Parallèlement, la méthode a été reconnue par l'Agence Américaine pour la Protection de l'Environnement (EPA) [124]; elle est devenue pratiquement l'unique voie d'analyse de routine des pesticides N-méthylcarbamates et carbamoyloximes dans les aliments [102,103,122] ainsi que dans diverses matrices telles que l'eau [98-100,106,110,114,117,118,125], les sols [98,115,118] et les végétaux [97,101,104,105,107,109,115,116,123]. De Kok et al. [107] ont étendu la méthode à d'autres insecticides N-méthyl carbamates et ont proposé par la même occasion une procédure simple de purification applicable à divers types d'échantillons réels de végétaux.

Nondek et al. [125,126] ont amélioré de façon significative la technique de dérivation post-colonne en éliminant la pompe alcaline au profit d'un réacteur catalytique en phase solide constitué d'une résine échangeuse d'ions. Cette approche a permis d'obtenir des LD de l'ordre de 0.1 ng et 0.3 ng pour l'aldicarb et le méthomyl, respectivement. De même, De Kok et al. [113] ont appliqué le catalyseur en phase solide à la détermination de 22 N-méthyl carbamates et leur principaux métabolites dans les récoltes. Mais dans ce cas, l'oxyde de magnésium a remplacé la résine (Aminex A-28) échangeuse d'ions originalement employée, ce qui a permis d'améliorer la résolution des pics et donc, de gagner en sensibilité.

Par la suite, Jansen et al. [127] ont miniaturisé le réacteur catalytique en phase solide à l'aide d'une colonne de CLHP à diamètre très étroit (1-mm, d.i.) et ont pu obtenir des LD de l'ordre du nanogramme.

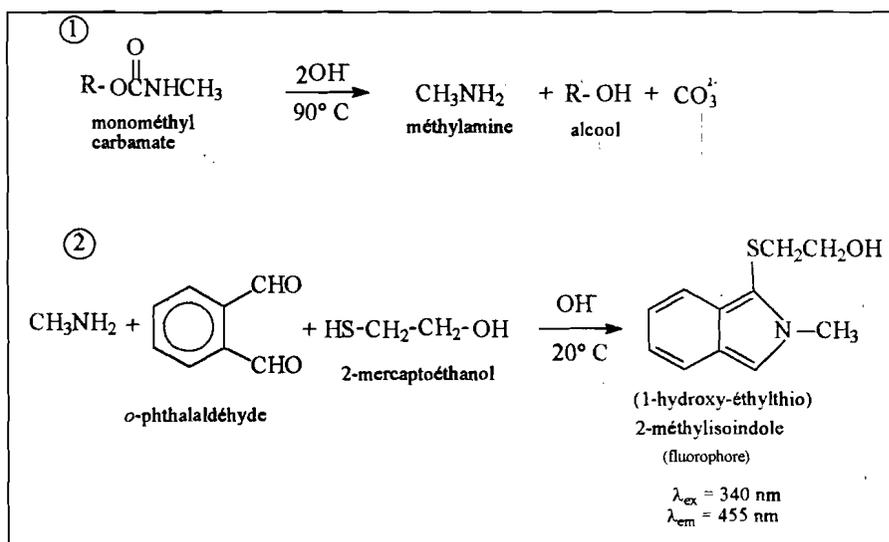


Fig. 4: Schéma réactionnel du marquage d'un insecticide monométhyl carbamate par l'OPA/2-ME [115]. (1) Hydrolyse du carbamate; (2) Marquage du méthylamine libéré pour donner le (1-hydroxy-éthylthio)-2-méthylisoindole.

Dans le même but de simplification, Mc Garvey [112] a combiné les deux étapes d'hydrolyse et de dérivatisation en une seule, cela au moyen d'un réactif unique (OPA/2-ME dans 0.01 M de KOH) propulsé par une seule pompe. Grâce à cette amélioration technique, l'une des pompes post-colonne (Fig. 5) et le réacteur catalytique en phase solide peuvent être éliminés, ce qui permet d'aboutir à des LD de l'ordre de 0.1 ng pour onze N-méthyl carbamates [112]. La même procédure a été employée pour analyser l'oxamyl dans les pommes de terre [128] ainsi que l'oxamyl et le méthomyl dans les récoltes et les eaux de surface avec une bonne sensibilité (LD=1 ng) [129]. Cette méthode combinée s'est avérée plus pratique du fait de sa sensibilité accrue, de son coût moindre et de sa mise en œuvre simplifiée.

Parmi toutes les méthodes de dérivatisation, le marquage avec l'OPA/2-ME reste de loin la plus sensible et la mieux appropriée à l'analyse des pesticides conduisant à des amines primaires par hydrolyse ou photolyse. Les insecticides N-méthyl carbamates et carbamoyloximes, certains herbicides [130] et régulateurs de croissance [131] et les phénylurées [96,122,127] ont été analysés au moyen de cette technique. Les LD varient généralement du ng ml⁻¹ au pg ml⁻¹ selon les composés (Tableau 3).

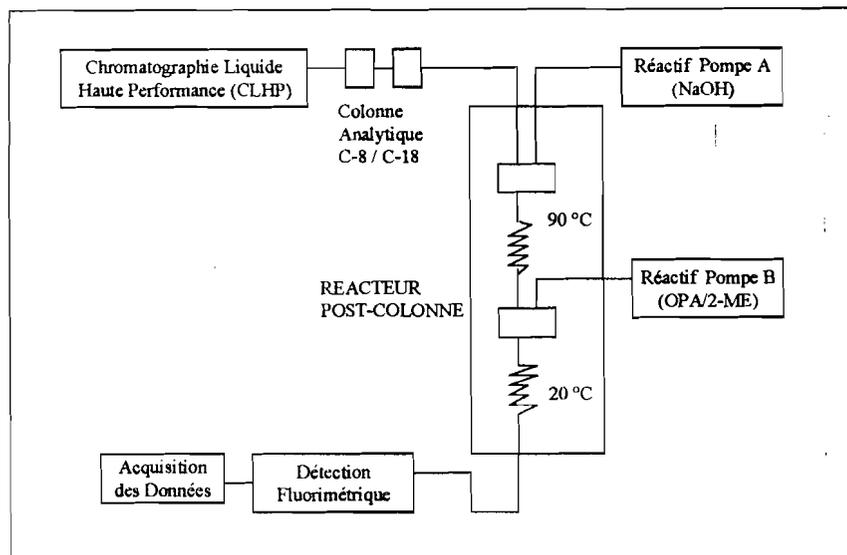


Fig. 5: Diagramme schématique de la dérivation des carbamates avec l'OPA/2-ME par CLHP avec réacteur post-colonne [115].

2.4.5. Autres types de marqueurs: Il existe encore d'autres marqueurs fluorogéniques pour les pesticides [62,64], qui sont encore peu utilisés. Par exemple Suzuki et al. [62] ont employé le 9-anthryldiazométhane comme réactif fluorogénique à l'analyse des herbicides chlorophénoxyacides dans les eaux souterraines avec des LD de détection de l'ordre de 500 pg. De même, la LD du glyphosate a été évaluée à 0.25 ng ml^{-1} par marquage avec le 9-fluorénylméthoxycarbonyl dans les eaux naturelles [64].

2.4.6. Avantages et inconvénients du marquage fluorogénique: De façon général, le marquage fluorogénique est une méthode d'analyse des pesticides sensible mais faiblement sélective. Par comparaison avec les autres méthodes de dérivation, (hydrolyse, traitement thermique, etc.), le marquage fluorogénique offre de nombreux avantages, des procédures d'optimisation simplifiées, une large gamme de réactifs, des variables expérimentales très accessibles avec une bonne sensibilité. Néanmoins, la méthode présente des limitations dans le cas de la détermination simultanée de mélanges de pesticides. La combinaison du marquage fluorogénique avec la CLHP a contribué à améliorer la sélectivité de la méthode par rapport aux procédures utilisées initialement pour le marquage (CCM [78,79] et solutions stationnaires [88]).

Tableau 3: Détermination des pesticides par marquage fluorogénique.

Méthode	Pesticide	Matrices	Marqueur fluorogénique	Durée de la dérivation (Temps, Température) (1 ^e étape), (2 ^e étape)	Récupération (%)	LD ^a (ng ml ⁻¹ ou ng ^a)	Réf.
CLHP	Fenchlorphos	Eau	Cl-Dans	(45 min, 80°C), (90 min, 80°C)	-	10 *	[84]
CLHP	Crufomate	Eau	Cl-Dans	(45 min, 80°C), (90 min, 80°C)	-	5 *	[84]
CLHP	Fenthion	Eau	Cl-Dans	(45 min, 80°C), (90 min, 80°C)	-	5 *	[84]
CLHP	Carbofuran	Aliments	Cl-Dans	(30 min, 45°C), (30 min, 45°C)	50-69	10	[87]
CLHP	3-Céto-carbofuran	Aliments	Cl-Dans	(30 min, 45°C), (30 min, 45°C)	55-75	10	[87]
CLHP	3-Hydroxy carbofuran	Aliments	Cl-Dans	(30 min, 45°C), (30 min, 45°C)	61-80	10	[87]
SS	Promécarb	Air	Cl-Dans	(20 min, 55°C), (10 min, 55°C)	-	100	[88]
FSN	Propham	Eau	Fluorescamine	(40 min, 100°C), (- ^b)	103-150	13.5	[93]
FS- ¹ D	Propham	Eau	Fluorescamine	(40 min, 100°C), (- ^b)	93-108	7.2	[93]
FS- ² D	Propham	Eau	Fluorescamine	(40 min, 100°C), (- ^b)	81-107	12.8	[93]
FSN	Asulam	Pêches	Fluorescamine	(-), (- ^c)	96-120	43	[94]
FS- ¹ D	Asulam	Pêches	Fluorescamine	(-), (- ^c)	86-106	43	[94]
CLHP	Carbaryl	Légumes	OPA/2-ME	(16s, 100° C), (1.3s. TA)	85-90	10	[97]
CLHP	Carbofuran	Légumes	OPA/2-ME	(16s, 100° C), (1.3s. TA)	82-93	10	[97]
CLHP	Méthiocarb	Légumes	OPA/2-ME	(16s, 100° C), (1.3s. TA)	78-85	10	[97]
CLHP	Aldicarb sulphone	Sol, souterrain	OPA/2-ME	(17s, 100° C), (4s. 5° C)	92	2	[98]
CLHP	Oxamyl	Sol, surface	OPA/2-ME	(17s, 100° C), (4s. 5° C)	96	2*	[98]
CLHP	Méthomyl	Sol, surface	OPA/2-ME	(17s, 100° C), (4s. 5° C)	95	2	[98]
CLHP	Aldicarb sulphoxide	Eau	OPA 2-ME	(17s, 100° C), (4s. 5° C)	77-83	2	[98]
CLHP	Carbaryl	Eau	OPA 2-ME	(2 min, 100° C), (DI)	104-106	2*	[99]
CLHP	Aldicarb sulphoxide	Eau	OPA 2-ME	(30s. 85° C), (13s. TA)	99-101	1	[100]
CLHP	Oxamyl	Eau	OPA 2-ME	(30s, 85° C), (13s. TA)	100-101	1	[100]
CLHP	Méthomyl	Eau	OPA 2-ME	(30s, 85° C), (13s. TA)	99-103	1	[100]
CLHP	3-Hydroxy carbofuran	Eau	OPA/2-ME	(30s, 85° C), (13s. TA)	100-101	1	[100]
CLHP	Carbofuran	Récoltes	OPA/2-ME	(12s, 95° C), (DI)	83-97	-	[101]
CLHP	Oxamyl	Récoltes	OPA/2-ME	(12s, 95° C), (DI)	77-99	-	[101]
CLHP	Méthomyl	Récoltes	OPA/2-ME	(12s, 95° C), (DI)	80-96	-	[101]
CLHP	Mésurool	Récoltes	OPA/2-ME	(12s, 95° C), (DI)	81-98	-	[101]
CLHP	Aldicarb	Raisin	OPA/2-ME	(16s, 100° C), (1.3s. TA)	79-90	10	[101]
CLHP	Carbofuran	Raisin	OPA/2-ME	(16s, 100° C), (1.3s. TA)	98	10	[101]
CLHP	Méthiocarb	Raisin	OPA/2-ME	(16s, 100° C), (1.3s. TA)	97-99	10	[101]
CLHP	Oxamyl	Raisin	OPA/2-ME	(16s, 100° C), (1.3s. TA)	88-92	10	[101]
CLHP	Aldicarb	Pomme de terre	OPA/2-ME	(16s, 100° C), (1.3s. TA)	91-93	10	[101]
CLHP	Bufencarb	Pomme de terre	OPA/2-ME	(16s, 100° C), (1.3s. TA)	96-98	10	[101]
CLHP	Carbofuran	Pomme de terre	OPA/2-ME	(16s, 100° C), (1.3s. TA)	97-103	10	[101]
CLHP	Méthomyl	Pomme de terre	OPA/2-ME	(16s, 100° C), (1.3s. TA)	92-96	10	[101]

CLHP	Aldicarb sulfoxide	Pastèque	OPA/2-ME	(12s, 95° C), (DI)	74-76	-	[105]
CLHP	Aldicarb	Eau	OPA/2-ME	(30s, 85° C), (26s, TA)	75-77	0.04	[106]
CLHP	Aldicarb sulphoxide	Eau	OPA/2-ME	(30s, 85° C), (26s, TA)	71-73	0.06	[106]
CLHP	Aldicarb sulphone	Eau	OPA/2-ME	(30s, 85° C), (26s, TA)	77-80	0.06	[106]
CLHP	Bendiocarb	Fruits	OPA/2-ME	(40s, 100° C), (0.2s, TA)	86-98	0.05*	[107]
CLHP	Isoproc carb	Légumes	OPA/2-ME	(40s, 100° C), (0.2s, TA)	81-93	0.100*	[107]
CLHP	Landrine	Fruits	OPA/2-ME	(40s, 100° C), (0.2s, TA)	83-96	0.100*	[107]
CLHP	Propoxur	Légumes	OPA/2-ME	(40s, 100° C), (0.2s, TA)	86-98	0.050*	[107]
CLHP	Carbaryl	Aliments	OPA/2-ME	(4s, 100° C), (0.2s, TA)	71-73	1.6*	[108]
CLHP	Carbofuran	Aliments	OPA/2-ME	(4s, 100° C), (0.2s, TA)	82-83	1.6*	[108]
CLHP	Propoxur	Aliments	OPA/2-ME	(4s, 100° C), (0.2s, TA)	85-89	1.6*	[108]
CLHP	Bufen carb	Aliments	OPA/2-ME	(59s, 140° C), (DI)	-	0.1*	[112]
CLHP	Diox carb	Aliments	OPA/2-ME	(50s, 110° C), (DI)	-	0.05*	[113]
CLHP	Butocarboxim	Aliments	OPA/2-ME	(45s, 150° C), (DI)	-	0.05*	[113]
CLHP	Thiofanox	Aliments	OPA/2-ME	(47s, 150° C), (DI)	-	0.05*	[113]
CLHP	Triméthacarb	Mais	OPA/2-ME	(DI), (DI)	80-100	40	[115]
CLHP	Tranid	Eau, surface	OPA/2-ME	(50s, 140° C), (0.2s, TA)	99-112	0.02	[117]
CLHP	Carbonolate	Eau, surface	OPA/2-ME	(50s, 140° C), (0.2s, TA)	82-100	0.02	[117]
CLHP	Ethiofencarb	Eau, surface	OPA/2-ME	(50s, 140° C), (0.2s, TA)	92-108	0.02	[117]
CLHP	Aminocarb	sols	OPA/2-ME	(40s, 95° C), (17s, 40° C)	96-97	0.1*	[118]
CLHP	Méxacarbate	Eau	OPA/2-ME	(40s, 95° C), (17s, 40° C)	94-98	0.1*	[118]
CLHP	Carbofuran	Légumes	OPA/2-ME	(30s, 80° C), (80s, 20° C)	-	20	[123]
CLHP	Aldicarb	Eau, fleuve	OPA/2-ME	(45s, 100° C), (1.6s, TA)	-	0.1*	[125]
CLHP	Méthomyl	Eau, fleuve	OPA/2-ME	(45s, 100° C), (1.6s, TA)	-	0.3*	[125]
CLHP	Méthiocarb	Eau, fleuve	OPA/2-ME	(45s, 100° C), (1.6s, TA)	-	0.85*	[125]
CLHP	Méthomyl	Eau, surface	OPA/2-ME	(53s, 90° C), (2.7s, TA)	-	0.4*	[128]
CLHP	Aldicarb	Eau, surface	OPA/2-ME	(53s, 90° C), (2.7s, TA)	-	0.5*	[128]
CLHP	Oxamyl	Pomme de terre	OPA/2-ME	(DI), (DI)	90-94	20	[128]
CLHP	Glyphosate	Céréals	OPA/2-ME	(210s, 20° C), (30s, TA) ^d	80	200	[130]
FSN	IAA ^e	-	OPA/2-ME	(15 min. TA), (- ^f)	-	0.80	[131]
FS- ¹ D	IBA ^e	-	OPA/2-ME	(15 min. RT), (- ^f)	-	0.19	[131]
FS- ² D	IPA ^e	-	OPA/2-ME	(15 min. RT), (- ^f)	-	0.27	[131]

CLHP: Chromatographie liquide haute performance; SS: Solution stationnaire; FSN: Fluorescence synchrone normale; FS-¹D: Fluorescence synchrone dérivée d'ordre un;

FS-²D: Fluorescence synchrone dérivée d'ordre deux; DI: Données indisponibles; TA: Température ambiante.

^aIndisponible, autrement mentionné; ^bLa seconde étape est instantanée; ^cSans étape d'hydrolyse, marquage direct des carbamates; ^dLa première étape est une réaction d'oxydation;

^eIAA: Acide indole-3-acétique; IBA: Acide indole-3-butyrique; IPA: Acide indole-3-propanoïque; ^fDérivatisation en une seule étape

III- METHODE DE FLUORESCENCE INDUITE PHOTOCHEMIQUEMENT (FIP)

La méthode de fluorescence induite photochimiquement (FIP) est fondée sur la conversion de composés naturellement non fluorescents en photoproduits fluorescents. Le concept de la FIP étant relativement récent, il a été beaucoup moins étudié que les techniques de dérivatisation chimiques traitées précédemment. Il existe néanmoins plusieurs chapitres d'ouvrages consacrés à cette méthode [15-17].

Outre sa simplicité, la FIP présente des avantages importants par rapport à la dérivatisation chimique: (i) l'emploi de photons au lieu d'un réactif chimique pour la conversion du pesticide ne nécessite aucun système de mélange et par conséquent, aucune dilution du pesticide à analyser; (ii) étant donné que la plupart des réactions photochimiques se déroulent par l'intermédiaire de radicaux libres, la cinétique des réactions est souvent très rapide, d'où un gain de temps important pour l'analyse; (iii) l'usage de réactions photochimiques *in situ* à température ambiante est plus avantageuse que les réactions thermiques qui nécessitent des températures élevées; (iv) la technique est facile à mettre en œuvre, nécessite un appareillage peu coûteux et est très adaptable à des conditions expérimentales très variées comme les solutions liquides stationnaires [132-141] ou les systèmes dynamiques (analyse par injection en flux (FIA) [21,142-144], CLHP [145-151] et CCM [152].

Evidemment, la méthode FIP conduit à une transformation fluorogénique sélective de substances naturellement non fluorescentes, étant donné qu'elle ne nécessite pas de séparation préalable du photoproduit fluorescent et des autres photoproduits formés dans le milieu réactionnel. Sur le plan analytique, il n'est point nécessaire d'identifier dans la structure du photoproduit fluorescent formé après irradiation UV, dans la mesure où le signal de FIP obtenu est reproductible. Néanmoins, l'identification des photoproduits présente un intérêt non seulement d'un point de vue académique, mais surtout dans le but d'évaluer l'applicabilité de la méthode à l'analyse d'échantillons réels dans l'environnement.

Dans d'autres cas, la détermination simultanée de mélanges artificiels ou commerciaux de pesticides s'avère possible par la FIP sans avoir recours à une quelconque étape préliminaire de séparation. Pour cela, on peut utiliser les différences de conditions analytiques optimales (t_{ir}^{opt} , pH, solvant), (spécifiques de chaque pesticide [132,135,138]), ou appliquer des techniques spécifiques telles que la méthode des spectres dérivés de FIP [141] et la méthode des moindres carrés partiels (PLS, "*partial least squares*") [153].

La FIP présente aussi quelques inconvénients comme la formation de photoproduits non fluorescents, des réactions thermiques secondaires et/ou des photoréactions conduisant à des photoproduits instables, particulièrement ceux responsables de l'émission de fluorescence observée [17].

1. Les conditions analytiques optimales

De manière générale, la FIP a montré qu'elle était une méthode efficace de production de fluorophores en milieux stationnaires [132-141] ainsi qu'en conditions dynamiques (CLHP avec photoréaction post-colonne [142,145-149] et FIA [21,142-144]). De nombreux paramètres affectant la réaction de conversion du pesticide et donc la sensibilité de la méthode ont été examinés, puis optimisés avant toute application analytique. Il existe deux variables principales susceptibles d'influencer les performances analytiques de la méthode FIP: il s'agit du temps d'irradiation UV optimal (t_{ir}^{opt}) [132,135,138] et de la nature du solvant employé [132,135,138,142,149]. En fait, le t_{ir}^{opt} (défini comme le temps d'irradiation correspondant au maximum de signal de fluorescence) et l'intensité de FIP varient fortement avec la polarité du solvant en relation avec son caractère protique ou aprotique. Par conséquent, dans une étude à but analytique, le solvant sélectionné doit être celui qui donne le signal le plus intense conjugué au t_{ir}^{opt} le plus court.

2. Application de la méthode FIP à l'analyse des pesticides

En comparant les performances analytiques de la méthode FIP avec celles des autres techniques de dérivation fluorogénique, plusieurs auteurs ont mis en relief les avantages notables de cette technique notamment sa simplicité, ses courts temps d'analyse, sa sélectivité et sa sensibilité accrue. Les résultats ont été résumés dans le Tableau 4 pour l'analyse des pesticides.

2.1. Méthode FIP combinée avec la CLHP

Werkhoven-Goewie et al. [145] ont été probablement les premiers à utiliser la méthode FIP à l'analyse des pesticides de type chlorophénol par chromatographie liquide dans les eaux naturelles et les fluides biologiques. Le signal de FIP des chlorophénols est relié linéairement à leur concentration sur 2 à 3 ordres de grandeur. Les LD sont de l'ordre du nanogramme et les

pourcentages de récupération à partir des échantillons fortifiés d'eaux de fleuve sont de $100 \pm 4\%$.

2.2. Méthode FIP-marquage fluorogénique combinée avec la CLHP

Etant donné que l'hydrolyse par voie chimique des pesticides dérivés de l'urée conduit à de faibles rendements, Luchtefeld [146] a modifié cette étape pour obtenir une grande quantité de méthylamine susceptible de réagir avec l'OPA/2-ME, après dégradation photolytique de 14 herbicides phénylurées. Des domaines de linéarité variant entre 2 et 48 ng avec des coefficients de corrélation largement supérieurs à 0.99 ont été obtenus. En outre, il a été observé que les herbicides ayant des groupes N, N-diméthyl donnaient une quantité plus importante d'amine par rapport aux herbicides à groupes N-méthyl, N-méthoxy. La méthode FIP-marquage fluorogénique s'est avérée plus sélective que la méthode de spectrométrie d'absorption UV dans le cas de ces herbicides extraits des échantillons de carottes. Un avantage important est qu'elle permet d'éliminer la pompe alcaline d'hydrolyse employée initialement [80] et donc de simplifier l'appareillage.

La méthode de production d'amines par voie photolytique suivie du marquage avec le réactif OPA/2-ME des amines libérées a été généralisée par Moye et al. [142,147-149], qui l'ont appliqué à une large gamme de pesticides azotés, tels que les carbamates, les carbamoyloximes, les acides carbamothioiques, les dithiocarbamates, les organophosphorés, les sulfonylurées, les thiadiazolurées, les thiourées, les bipyridiniums, les triazines, les dinitrophénols, les amides, les acétamides et les amines. Parmi ces composés, les carbamoyloximes présentaient les meilleurs rendements de formation de la méthylamine [148]. La détection FIP a été utilisée soit avec l'OPA/2-ME, soit sans ce réactif [142,146-150]. Les LD sont relativement basses, surtout en présence d'OPA/2-ME, (LD entre 5 et 50 ng ml⁻¹) [142]. Il faut souligner que de nombreux pesticides donnant des signaux de fluorescence intenses avec cette méthode ne sont pas fluorescents lorsque l'on emploie le marquage fluorogénique classique avec l'OPA/2-ME en milieu alcalin [96]. Toutefois, dans le cas de la photolyse des carbamates aromatiques [19,154] et de certains pesticides non aromatiques (*i.e.*, aldicarb, aldicarb sulfone, méthomyl etc.) [142,149], les rendements quantiques photochimiques sont faibles et l'emploi de sensibilisateurs tels que l'acétone peut s'avérer nécessaire pour améliorer ces rendements.

2.3. Méthode FIP-complexation combinée avec la CLHP et la CCM

La méthode FIP suivie d'une réaction de complexation a été appliquée par quelques auteurs à la détermination des pesticides organostanniques [151,152]. Ainsi, Stab et al. [151] ont utilisé la CLHP avec photolyse post-colonne, suivie de la complexation avec la morine pour détecter de faibles quantités de pesticides triorganostanniques dans les eaux de surface, les sédiments et les sols. Les temps d'irradiation étaient très courts ($t_{ir}^{opt} = 9s$) et les taux de récupération variaient entre 44 et 135% selon les composés et les matrices. Brown et al. [152] ont développé la même approche associée à la CCM pour analyser des fongicides phénylstanniques présents dans des extraits de pomme de terre jusqu'à des concentrations de l'ordre de 10 ng ml^{-1} .

2.4. Méthode FIP combinée avec la FIA

La méthode FIP combinée avec la technique d'analyse par injection en flux dynamique de solvant (FIA, "*flow injection analysis*") a été développée par Aaron et al. [21,143,144] en vue de l'analyse de plusieurs types de pesticides aromatiques. Ce système présente l'intérêt d'améliorer considérablement la fréquence d'échantillonnage: en effet, de 50 à 80 échantillons peuvent être analysés par heure. Les pourcentages de récupération varient entre 88 et 109% tandis que les LD s'échelonnent du ng au pg (Tableau 4).

2.5. Méthode FIP en solution stationnaire

Enfin récemment, la méthode FIP appliquée en solution stationnaire a permis d'analyser plusieurs familles de pesticides aromatiques naturellement non fluorescents [132-141]. Les propriétés de fluorescence induite photochimiquement de ces pesticides ont été examinées dans de nombreux solvants. Les LD trouvées sont de l'ordre du nanogramme (Tableau 4). L'emploi de milieux organisés comme des solutions micellaires [137-141] et les cyclodextrines [135,136] a permis d'améliorer la sensibilité et/ou la sélectivité de la méthode FIP dans de nombreux cas. Par exemple, les LD des insecticides pyréthroides ou des herbicides sulfonilurées s'avèrent plus faibles dans les micelles SDS (sulfate dodécyl de sodium) ou le CTAC (chlorure de cetyltriméthylammonium) que dans les solvants organiques usuels [137,138].

En conclusion, on peut dire que la FIP constitue une méthode très sensible et sélective pour déterminer plusieurs classes de pesticides. La combinaison de la FIP avec des systèmes

dynamiques (CCM, CLHP, FIA) a fait des progrès importants qui devraient conduire à une amélioration des performances de cette méthode dans l'avenir.

IV- METHODE FLUORIMETRIQUE PHOTOSENSIBILISEE

Lorsque le composé à analyser est faiblement ou non fluorescent et que son irradiation conduit à des photoproduits peu ou non fluorescents, il est possible de photosensibiliser la photoréaction. Pour cela, on utilise en général la photoréduction de cétones aromatiques, en l'absence d'oxygène, par des composés donneurs d'atomes d'hydrogène (DAH) tels que les alcools aliphatiques, les aldéhydes, les saccharides, les glycosides, les amines et les stéroïdes [155-159]. Les cétones aromatiques employées comme sensibilisateurs sont essentiellement des quinones [156,157] et des dérivés anthraquinoniques [155,158,159]. Un exemple de la réaction de photoréduction photosensibilisée est donné dans le schéma 2. Il est maintenant établi que le mécanisme de ce type de réaction se fait via l'état triplet du sensibilisateur [155].

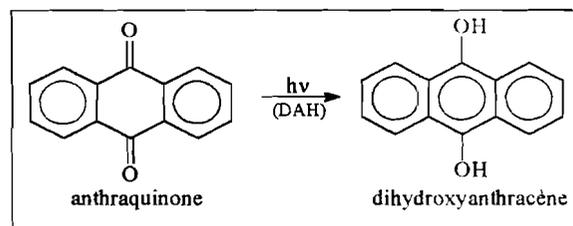


Schéma 2 (Réf. [16])

Comme tous les quinones, l'anthraquinone n'est pas fluorescente tandis que le dihydroxyanthracène formé est très fluorescent et sert ainsi à doser indirectement le composé DAH. Un des avantages de cette méthode photosensibilisée est qu'elle peut être appliquée soit à l'analyse quantitative des composés DAH [155,158], soit à celle des quinones elles-mêmes [156,157].

Toutefois, l'application de cette méthode à l'analyse des pesticides reste très limitée. Le seul travail connu à ce jour concerne la détermination fluorimétrique photosensibilisée de quatre herbicides dérivés de la dinitroaniline en présence d'anthraquinone [158]. Les LD reportées varient entre 0.3 et 4 $\mu\text{g ml}^{-1}$ et les temps d'irradiation optimaux sont très courts ($t_{ir}^{opt} < 5 \text{ min}$), ce qui réduit le temps d'analyse.

V- METHODE PHOSPHORIMETRIQUE

La phosphorimétrie est une méthode d'analyse basée sur la mesure de la phosphorescence d'un échantillon de molécules organiques, après que ces molécules aient été excitées par des radiations ultra-violettes ou visibles. L'émission de phosphorescence diffère de l'émission de fluorescence en ce sens que les radiations émises par les molécules excités l'ont été à partir des états triplets; celles de fluorescence étant émises à partir des états singulets. La possibilité d'employer la phosphorescence comme technique d'analyse a été proposée dès 1944 par Lewis et Kasha [160]. Mais ce n'est qu'à la fin des années cinquante que des dispositifs expérimentaux ont été conçus pour réaliser des mesures phosphorimétriques [161,162].

Etant donné que le signal d'émission de phosphorescence à température ambiante (RTP) n'est généralement pas détectable en solution, (à moins de dégazer très méticuleusement le solvant), il est nécessaire soit d'incorporer l'analyte dans un support solide (papier filtre, cellulose, silice, alumine ou d'autres matériaux) [163,164], soit de le solubiliser à l'intérieur des micelles [165] ou des cyclodextrines [166-171]. Il est aussi possible d'augmenter considérablement le signal de phosphorescence à très basse température (77 K) ou sous l'effet d'atomes lourds. En dépit de ces considérations analytiques très intéressantes, la phosphorescence a été encore peu appliquée à l'analyse des pesticides.

Néanmoins, les propriétés de phosphorescence à température ambiante (RTP) et à basse température (LTP) de quelques pesticides ont été examinées par plusieurs chercheurs [167-177].

Aaron et al. [172,173] ont décrit les caractéristiques phosphorimétriques de 32 pesticides adsorbés sur papier filtre. Une étude comparative détaillée des propriétés de ces pesticides par les méthodes de phosphorescence à température ambiante (RTP) et à basse température (LTP) démontre l'utilité de ces deux techniques pour la détermination quantitative de ces composés. Ainsi, les LD obtenues varient entre 10 et 50 ng par RTP et 0.05 et 35 ng par LTP [172]. L'effet d'atomes lourds sur la RTP a eu pour conséquence d'augmenter le signal analytique de certains de ces composés [173]:

La technique de LTP a été aussi employée par Trautwein et al. [174] pour déterminer les herbicides acides chlorophénoxy avec des LD variant entre 0.1 et 0.2 $\mu\text{g ml}^{-1}$. Su et al. [176] ont utilisé la RTP sur substrat solide pour analyser des mélanges synthétiques de pesticides et de composés organiques à caractère toxique. L'effet de pH et d'atomes lourds a été utilisé pour déterminer sélectivement les constituants du mélange synthétique.

Les propriétés de phosphorescence en milieu cyclodextrines ont été aussi examinées dans le cas de deux pesticides utilisés comme régulateur de croissance: l'acide 1-naphthylacétique (ANA) et l'acide 2-naphthyloxyacétique (ANO) [167-171]. Zhang et al. [167,168] ont utilisé des bromoalcanes comme atomes lourds pour analyser l'ANA en solution de β -cyclodextrine préalablement dégazée avec l'azote. Muñoz de la Peña et al. [169-171] ont évalué pour l'ANA et l'ANO, en solution de β -cyclodextrine, l'effet de bromoalcools utilisé comme atomes lourds sur l'exaltation du signal de phosphorescence. Le sulfite de sodium a été employé comme désoxygénant chimique. Par la suite les mêmes auteurs [171] ont comparé et démontré que les bromoalcanes exaltaient mieux le signal de phosphorescence par rapport aux bromoalcools.

Nous pouvons conclure que la phosphorimétrie est une méthode sensible d'analyse des pesticides, mais son usage est encore limité en raison de divers inconvénients tels que la relative lenteur de sa mise en œuvre, l'usage de basses températures et les bruits de fond trop intenses des substrats employés. Une alternative réside dans la possibilité de travailler en solution et à température ambiante en employant les milieux organisés tels que les cyclodextrines et les micelles.

Tableau 4: Détermination des pesticides par fluorescence induite photochimiquement (FIP) et par fluorescence photosensibilisée

Méthode ^a	Pesticide	Matrices	Solvant ^b	Temps d'irradiation (s)	Récupération (%)	LD ^c (ng ml ⁻¹ ou ng*)	Réf.
FIA	Fénitrothion	Formulations	DMSO/H ₂ O ^d	52	96-107	3*	[21]
FIA	Fenvalérate	Formulations	MeOH	52	97-106	4*	[21]
FIA	Fenvalérate	Eau, robinet	MeCN	95	93-102	10*	[21]
FIA	Deltaméthrine	Formulations	EtOH	95	-	18*	[21]
FIA	Deltaméthrine	Eau, robinet	EtOH	95	94-104	-	[21]
FIA	Diffubenzuron	Formulations	2-PrOH	89	88-106	19*	[21]
SS	Fénitrothion	Formulations	DMSO	96	96-105	0.7	[132]
SS	Fenvalérate	Formulations	MeCN	600	99-108	8.7	[132]
SS	Deltaméthrine	Formulations	MeOH	1380	88-98	33	[132]
SS	Diffubenzuron	Formulations	2-PrOH	1380	96-107	4.9	[132]
SS	MCPPE ^e	Eau, fleuve	MeOH/pH 5 ^f	900	92-116	36	[133]
SS	2,4-D ^e	-	MeOH/pH 5 ^f	900	-	103	[133]
SS	2,4,5-T ^e	-	MeOH/pH 5 ^f	900	-	119	[133]
SS	Imidaclopride	Eau souterraine	H ₂ O/pH 11.8	180	98-102	0.7	[134]
SS	Chlorpyrifos	Eau, robinet	β-CD	1200	93-96	44	[135]
SS	Deltaméthrine	Eau, robinet	HP-β-CD	1360	98-108	6.8	[135]
SS	Fenvalérate	Eau, robinet	β-CD	480	96-101	22	[135]
SS	Fenvalérate	-	MeCN	600	-	16	[137]
SS	Fenvalérate	Formulations	SDS	720	89-99	7	[137]
SS	Deltaméthrine	-	MeOH	1380	-	27	[137]
SS	Deltaméthrine	Formulations	SDS	2100	96-113	11	[137]
SS	Chlorsulfuron	Eau, fleuve	CTAC/pH 12	150	88-104	0.5	[138]
SS	Metsulfuron-Me	Eau, fleuve	SDS pH 12	60	94-104	0.2	[138]
SS	3-Rimsulfuron	Eau, fleuve	CTAC/pH 7	150	80-97	0.8	[138]
SS	Sulfométuron-Me	Eau, fleuve	CTAC/pH 9	150	92-100	6	[138]
CLHP	Alachlor	Eau souterraine	MeOH	168	100-105	5	[142]
CLHP	Butachlor	Eau souterraine	MeOH	168	97-110	12	[142]
CLHP	Carbetamide	Eau souterraine	MeCN H ₂ O -0.02% acétone	168	95-115	38	[142]
CLHP	Carboxine	Eau, souterraine	MeOH/H ₂ O	168	95-110	5	[142]
CLHP	Diphénamide	Eau, souterraine	MeOH H ₂ O	168	-	50	[142]
CLHP	Fénoxycarb	Eau, souterraine	MeOH H ₂ O	168	-	5	[142]
FIA	MCPA ^e	Eau, fleuve	MeOH/pH5	90 ^g	96.5	26	[143]
FIA	MCPPE ^e	Eau, fleuve	MeOH/pH5	90 ^g	97.2	23	[143]
FIA	MCPB ^e	Eau, fleuve	MeOH/pH5	90 ^g	103.7	30	[143]
FIA	2,4-D ^e	Eau, fleuve	MeOH/pH5	720 ^g	108.4	98	[143]
FIA	2,4-DP ^e	Eau, fleuve	MeOH/pH5	600 ^g	103.9	82	[143]
FIA	Chlorsulfuron	Eau, fleuve	CTAC/pH 12	70	97.4	0.06*	[144]
FIA	Metsulfuron-Me	Eau, fleuve	SDS pH 12	29	90.6	0.04*	[144]
FIA	3-Rimsulfuron	Eau, fleuve	CTAC/pH 7	70	105.9	0.07*	[144]
FIA	Sulfométuron-Me	Eau, fleuve	CTAC/pH 9	70	90.3	0.3*	[144]
CLHP	2-Chlorophénol	Eau, fleuve	MeOH/H ₂ O ^h	40	96-104	4*	[145]

Tableau 4: (suite)

Méthode ^a	Pesticide	Matrices	Solvant ^b	Temps d'irradiation (s)	Récupération (%)	LD ^c (ng ml ⁻¹ ou ng*)	Réf.
CLHP	3-Chlorophénol	Urine	MeOH/H ₂ O ^b	25	95-100	1*	[145]
CLHP	4-Chlorophénol	Eau, fleuve	MeOH/H ₂ O ^b	25	96-104	1*	[145]
CLHP	2,4-Dichlorophénol	Eau, fleuve	MeOH/H ₂ O ^b	60	96-104	50*	[145]
CLHP +OPA/2-ME	Diuron	Carottes	MeCN/H ₂ O	44	-	12*	[146]
CLHP +OPA/2-ME	Linuron	Carottes	MeCN/H ₂ O	44	-	24*	[146]
CLHP +OPA/2-ME	Monuron	Carottes	MeCN/H ₂ O	44	-	4*	[146]
CLHP +OPA/2-ME	Thiobencarb	Légumes	MeCN/H ₂ O	336	58-140	-	[147]
CLHP +OPA/2-ME	Méthiocarb	Eau, souterraine	MeCN/H ₂ O	336	-	3.4*	[147]
CLHP +OPA/2-ME	Néburon	Eau, souterraine	MeCN/H ₂ O	336	-	0.8*	[148]
CLHP +OPA/2-ME	Aldicarb sulfoxide	Eau, souterraine	H ₂ O	336	83-95	1*	[148]
CLHP +OPA/2-ME	Aldicarb	Eau, souterraine	H ₂ O	336	83-110	0.9*	[148]
CLHP +OPA/2-ME	Propoxur	Eau, souterraine	H ₂ O	336	72-104	1.3*	[148]
CLHP +OPA/2-ME	Thiram	Eau, souterraine	H ₂ O	336	36-96	1.5*	[148]
CLHP +OPA/2-ME	Néburon	Eau, souterraine	MeCN/H ₂ O	336	87-113	0.8*	[148]
CLHP	Monuron	-	MeCN/H ₂ O	336	-	24*	[148]
CLHP +OPA/2-ME	Monuron	-	MeCN/H ₂ O	336	-	1.3*	[148]
CLHP	Fluométuron	-	MeOH/H ₂ O	336	-	1.4*	[148]
CLHP +OPA/2-ME	Fluométuron	-	H ₂ O	336	-	5.1*	[148]
CLHP	Chlorbromuron	-	MeCN/H ₂ O	336	-	12*	[148]
CLHP +OPA/2-ME	Chlorbromuron	-	MeOH/H ₂ O	336	-	42*	[148]
CLHP +OPA/2-ME	Diphénamide	Eau	H ₂ O	168	90-100	0.5	[149]
CLHP +OPA/2-ME	Diphénamide	-	MeOH/H ₂ O	168	-	0.2*	[149]
CLHP +OPA/2-ME	EPTC	Eau	H ₂ O	168	100-106	1.3	[149]
CLHP +OPA/2-ME	EPTC	-	MeCN/H ₂ O	168	-	0.4*	[149]
CLHP +OPA/2-ME	Molinate	Eau	H ₂ O	168	100-104	7.4	[149]
CLHP +OPA/2-ME	Molinate	-	MeOH/H ₂ O	168	-	1*	[149]
CLHP +OPA/2-ME	Thiobencarb	Eau	H ₂ O	168	96-110	1.3	[149]
CLHP +OPA/2-ME	Thiobencarb	-	MeCN/H ₂ O	168	-	0.3*	[149]
CLHP +OPA/2-ME	Daminozide	-	MeCN/H ₂ O	168	-	1*	[149]
CLHP +OPA/2-ME	Trifluraline	-	MeOH/H ₂ O	168	-	2*	[149]
CLHP +OPA/2-ME	Paraquat	-	MeOH/H ₂ O	168	-	0.7*	[149]
CLHP +OPA/2-ME	Dinoseb	-	MeOH/H ₂ O	168	-	5*	[149]
			+0.5% acetone				
CLHP	Fénarimol	Eau, souterraine	MeCN/H ₂ O	78	-	1.5*	[150]
CLHP +OPA/2-ME	Fénarimol	Eau, souterraine	MeCN/H ₂ O	78	-	9.5*	[150]
CLHP	Napropamide	Eau, souterraine	MeCN/H ₂ O	78	-	0.6*	[150]
CLHP +OPA/2-ME	Napropamide	Eau, souterraine	MeCN/H ₂ O	78	-	3.4*	[150]
CLHP	Propanil	Eau, souterraine	MeCN/H ₂ O	78	-	0.5*	[150]
CLHP +OPA/2-ME	Propanil	Eau, souterraine	MeCN/H ₂ O	78	-	5.4*	[150]
CLHP +morine	TCT ¹	Eau, surface	n-H/THF/AA ¹	9	67-114	30	[151]
CLHP +morine	TCT	Sédiments	n-H/THF/AA	9	125-130	3000	[151]
CLHP +morine	TCT	Sols	n-H/THF/AA	9	95-100	0.3	[151]

Tableau 4: (suite)

Méthode ^a	Pesticide	Matrices	Solvant ^b	Temps d'irradiation (s)	Récupération (%)	LD ^c (ng ml ⁻¹ ou ng*)	Réf.
CLHP +morine	FBTO ¹	Eau, surface	n-H/THF/AA	9	61-97	20	[151]
CLHP +morine	FBTO	Sédiments	n-H/THF/AA	9	100-135	20	[151]
CLHP +morine	FBTO	Sols	n-H/THF/AA	9	91-93	20	[151]
CLHP +morine	TPT ¹	Eau, surface	n-H/THF/AA	9	72-101	20	[151]
CLHP +morine	TPT	Sédiments	n-H/THF/AA	9	65-105	300	[151]
CLHP +morine	TPT	Sols	n-H/THF/AA	9	44-59	1000	[151]
SS	Benfluraline	-	MeCN/H ₂ O ^k	240	-	300	[158]
SS	Isopropaline	-	MeCN/H ₂ O ^k	120	-	3300	[158]
SS	Oryzaline	-	MeCN/H ₂ O ^k	120	-	4200	[158]
SS	Trifluraline	-	MeCN/H ₂ O ^k	240	-	300	[158]

^aFLA: Analyse par injection en flux; SS: Solution stationnaire; CLHP: Chromatographie liquide haute performance; ^bTous les solvants employés sont soit purs, soit des mélanges 50:50 (v/v) sauf indications contraires; ^cIndisponible, autrement mentionné; ^dL'eau est seulement employée comme phase mobile;

^eHerbicides acide chlorophénoxy: 2,4-D = acide 2,4-dichlorophénoxyacétique; 2,4,5-T = acide 2,4,5-trichlorophénoxyacétique; 2,4-DP = acide 2- (2,4-dichlorophénoxy) propionique; MCPA = acide 2-méthyl-4-chlorophénoxyacétique; MCPB = acide 4-(2-méthyl-4-chlorophénoxy) butyrique; MCPP ou mécoprop = acide 2- (2-méthyl-4-chlorophénoxy) propionique;

¹Solution tampon pH 5; ²Temps en FLA bloqué; ³MeOH/H₂O (60:40, v/v); ⁴Pesticides organostanniques: TCT = Hydroxyde de tricyclohexyl étain; FBTO = Oxyde de butaphényl étain; TPT = Chlorure de triphényl étain; ⁵Mélange ternaire de n-hexane/THF/acide acétique (96:2:2, v/v); ⁶MeCN/H₂O, (20:80, v/v).

VI- CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Bien entendu, l'analyse des résidus de pesticides dans l'environnement peut être réalisée au moyen de techniques variées en combinaison avec des détecteurs sensibles et sélectifs. Actuellement, la tendance est d'évaluer directement les pesticides par CPG-SM et/ou CLHP-UV, étant donné que ces méthodes fournissent en général le type d'informations nécessaires à l'application des législations en matière d'environnement et de santé. Toutefois, compte tenu de sa très grande sensibilité, la détection par fluorescence s'avère très utile pour l'analyse des pesticides, mais du fait qu'elle est limitée à certaines structures moléculaires, elle ne saurait être la méthode recommandée pour les analyses de routine. La détection fluorimétrique est particulièrement intéressante pour déterminer des composés spécifiques susceptibles de subir un marquage fluorescent, tels que les carbamates et les acides chlorophénoxy, dans l'environnement. De plus, les méthodes de dérivatisation chimique et photochimique sont très pratiques, car elles peuvent être adaptées à des conditions expérimentales très variées telles que la CCM, la CLHP, la FIA et en solutions stationnaires.

En raison de sa simplicité procédurale, la méthode FIP semble plus pratique, souple et rapide que la dérivatisation par marquage fluorogénique pour l'analyse des pesticides. L'impossibilité d'employer les méthodes fluorimétriques directes et indirectes pour déterminer les pesticides n'ayant ni chromophore, ni fluorophore peut être surmontée dans quelques cas particuliers à l'aide de la méthode de fluorescence photosensibilisée. Enfin, du fait de sa mise en œuvre assez laborieuse, la phosphorescence à basse température (LTP) et à température ambiante (RTP) n'ont pas été beaucoup utilisées jusqu'à présent pour l'analyse des pesticides.

D'autres développements tels que l'avènement des milieux organisés (cyclodextrines, micelles, vésicules liposomiques), l'emploi de techniques spectrales spéciales (fluorescence synchrone, dérivation des spectres, balayage spectral à angle variable, etc.) et le développement des méthodes chimiométriques comme la régression partielle des moindres carrés (PLS, "*partial least squares*") pourraient permettre à la fluorescence et à la fluorescence induite photochimiquement de devenir des approches complémentaires indispensables à l'analyse environnementale des pesticides.

En raison de ces récentes avancées technologiques et de leurs propriétés inhérentes de sensibilité, de sélectivité et de versatilité, les méthodes fluorimétriques devraient conduire à l'avenir à de nombreuses applications dans l'analyse environnementale des pesticides.

VII. REFERENCES

- [1] J. Sherma, *Anal. Chem.* **67** (1995) 1R.
- [2] J. Sherma, *Anal. Chem.* **65** (1993) 40R.
- [3] *The Agrochemical Handbook* 3rd ed., The Royal Society of Chemistry, London 1991.
- [4] D. Barcelo, *Analyst* **116** (1991) 681.
- [5] A.R. Newman, *Anal. Chem.* **61** (1989) 861A.
- [6] D.A. Hinckley, T.F. Bidleman, *Environ. Sci. Technol.* **23** (1989) 995.
- [7] W. Liao, T. Joe, W.G. Cusick, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **74** (1991) 554.
- [8] J.F. Lawrence, R.W. Frei, *J. Chromatogr.* **98** (1974) 253.
- [9] R.W. Frei, W. Santi, *Z. Anal. Chem.* **277** (1975) 303.
- [10] W.P. Cochran, *J. Chromatogr. Sci.* **17** (1979) 124.
- [11] J.-J. Aaron, *Anal. Proc.* **30** (1993) 72.
- [12] B.D. Mc Garvey, *J. Chromatogr.* **642** (1993) 89.
- [13] A. Coly, J.-J. Aaron, *Talanta* **46** (1998) 815.
- [14] J.F. Lawrence and R.W. Frei, in *Chemical Derivatization in Liquid Chromatography*, Elsevier Scientific Publishing Co., Amsterdam, 1976.
- [15] I.S. Krull and W.R. Lacourse, in *Reaction Detection in Liquid Chromatography*, Krull, I.S., Ed. Marcel Dekker, New York, 1986.
- [16] J.R. Poulsen and J.W. Birks, in *Chemiluminescence and Photochemical Reaction Detection in Chromatography*, J.W. Birks, Ed., VCH Publishers, Inc., New York, 1989, Chap. 6.
- [17] J.-J. Aaron, in *Molecular Luminescence Spectroscopy: Methods and Applications*, S.G. Schulman Ed., Wiley, New York, 1993, p. 85.
- [18] I. Hornstein, *J. Agr. Food Chem.* **6** (1958) 32.
- [19] A. Coly, J.-J. Aaron, *Talanta* **41** (1994) 1475.
- [20] K. Hunter, *J. Chromatogr.* **321** (1985) 255.
- [21] A. Coly, J.-J. Aaron, *Analisis* **24** (1996) 107.
- [22] S.H. Lee, L.R. Field, *Anal. Chem.* **53** (1981) 467.
- [23] D.E. Mundy, A.F. Machin, *J. Chromatogr.* **234** (1982) 427.
- [24] K. Hunter, *J. Chromatogr.* **270** (1983) 267.
- [25] K. Hunter, *J. Chromatogr.* **270** (1983) 277.
- [26] W. Langseth, U. Nymo, *Fresenius' J. Anal. Chem.* **339** (1991) 249.
- [27] L.J. Felice, T. Chalermchaikit, M.J. Murphy, *J. Anal. Toxicol.* **15** (1991) 126.
- [28] T. Chalermchaikit, L.J. Felice, M.J. Murphy, *J. Anal. Toxicol.* **17** (1993) 56.
- [29] M.J. Kelly, J. Chambers, A.D. Mac Nicoll, *J. Chromatogr. Biomed. Appl.* **620** (1993) 105.
- [30] G.L. Brun, R.M. Mac Donald, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **24** (1980) 886.
- [31] R.T. Krause, *J. Chromatogr.* **255** (1983) 497.
- [32] J. Rohand, J.L. Vilchez, L.F. Capitan-Vallvey, R. Avidad, A. Navalon *Euroanalysis VIII*, Edinburg, Scotland, UK. September 5-11, 1993. Book of Abstracts, PG7.

- [33] T. Cairns, E.G. Siegmund, G.M. Doose, W.S. Langham, K.S. Chiu, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **32** (1984) 310.
- [34] T.D. Spittler, R.A. Marafioti, G.W. Helfman, R.A. Morse, *J. Chromatogr.* **352** (1986) 439.
- [35] R.J. Argauer, in J. Harvey Jr. and G. Zweig (Editors), *Pesticide Analytical Methodology*, ACS symposium series 136, American Chemical Society, Washington, DC, 1980, pp. 103-126.
- [36] R.T. Krause, E.M. August, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **66** (1983) 234.
- [37] W. Schussler, *Chromatographia* **29** (1990) 24.
- [38] F. Garcia-Sanchez, C. Cruces-Blanco, *Mikrochim. Acta* **21** (1989) 49.
- [39] F. Garcia-Sanchez, C. Cruces-Blanco, *J. Agric. Food. Chem.* **37** (1989) 937.
- [40] W.H. Newsome, P. Collins, *J. Chromatogr.* **472** (1989) 416.
- [41] R.J. Bushway, H.L. Hurst, J. Kugabalasooriar, L.B. Perkins, *J. Chromatogr.* **587** (1991) 321.
- [42] N. Motohashi, H. Nagashima, R. Meyer, *J. Liq. Chromatogr.* **14** (1991) 3591.
- [43] L.F. Garcia, J.-J. Aaron, *Mikrochim. Acta* **126** (1997) 289.
- [44] J.L. Vilchez, R. Avidad, J. Rohand, A. Navalon, L.F. Capitan-Vallvey, *Anal. Chim. Acta* **282** (1993) 445.
- [45] J.A. Jamieson, H.J. Duncan, *Potato Res.* **32** (1989) 123.
- [46] B. Wyhowsky de Bukanski, J.M. Degrootd, H. Beernaert, *Z. Lebensm.-Unters. Forsch.* **193** (1991) 130.
- [47] C. De Ruiter, W.A. Minnaard, H. Lingeman, E.M. Kirk, U.A.T. Brinkman, R.R. Otten, *Int. J. Environ. Anal. Chem.* **43** (1991) 79.
- [48] D.M. Gilvydis, S.M. Walters, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **73** (1990) 753.
- [49] C.F. Poole, S.K. Poole, *Anal. Chem.* **66** (1994) 27A.
- [50] M.B. Taccheo, M. De Paoli, C. Spessotto, *Pestic. Sci.* **25** (1989) 11.
- [51] C. Cruces-Blanco, F. Garcia-Sanchez, *Anal. Chem.* **56** (1984) 2035.
- [52] F. Garcia-Sanchez, A. Navas, M. Santiago, *Anal. Chim. Acta* **167** (1985) 217.
- [53] F. Garcia-Sanchez, C. Cruces-Blanco, A. Heredia-Bayona, *Talanta* **34** (1987) 345.
- [54] F. Garcia-Sanchez, M. Hernandez-Lopez, J.C. Marquez-Gomez, *Spectrochim. Acta* **43** (1987) 101.
- [55] F. Garcia-Sanchez, M. Cedazo, J. Lovillo, A. Navas-Diaz, *Talanta* **43** (1996) 1327.
- [56] S. Li, W.C. Purdy, *Chem. Rev.* **92** (1992) 1457.
- [57] R. Zana, *Surfactant Sci. Ser.* **22** (1987) 241.
- [58] M.J. Gonzalez-Alvarez, M.E. Diaz-Garcia, A. Sanz-Medel, *Anal. Chim. Acta* **234** (1990) 181.
- [59] M. De la Guardia, M.L. Hernandez, S. Sancenon, J.L. Carrion, *Colloids Surf.* **48** (1990) 57.
- [60] A. Berthod, J.M. Asensio, J.J. Laserna, *J. Liq. Chromatogr.* **12** (1989) 2621.
- [61] J.C. Marquez, M. Hernandez, F. Garcia-Sanchez, *Analyst* **115** (1990) 1003.
- [62] T. Suzuki, S. Watanabe, *J. Chromatogr.* **541** (1991) 359.
- [63] S.V. Prabhu, R.J. Varsolona, T.A. Wehner, R.S. Egan, P.C. Tway, *J. Agric. Food Chem.* **40** (1992) 622.
- [64] J.V. Sancho, F.J. Lopez, F. Hernandez, E.A. Hogendoorn, P. Van Zoonen, *J. Chromatogr.* **678** (1994) 59.
- [65] Y. Arakawa, O. Wada, M. Manabe, *Anal. Chem.* **55** (1983) 1901.
- [66] R.W. Frei, J.F. Lawrence, P.E. Belliveau, *Z. Anal. Chem.* **254** (1971) 271.
- [67] J.-J. Aaron, M. Some, *Analisis* **10** (1982) 481.
- [68] F. Garcia-Sanchez, A. Aguilar-Gallardo, *Analyst* **117** (1992) 195.

- [69] F. Garcia-Sanchez, M. Hernandez-Lopez, A. Garcia-Pareja, *Anal. Chim. Acta* **255** (1991) 311.
- [70] G.L. Brun, V. Mallet, *J. Chromatogr.* **80** (1973) 117.
- [71] V. Mallet, D.P. Surette, *J. Chromatogr.* **95** (1974) 243.
- [72] D.P. Surette, V. Mallet, *J. Chromatogr.* **107** (1975) 141.
- [73] T. Yu, Y. Arakawa, *J. Chromatogr.* **258** (1983) 189.
- [74] W. Langseth, *Talanta* **31** (1984) 975.
- [75] W. Langseth, *J. Chromatogr.* **315** (1984) 351.
- [76] W.R. Blair, E.J. Parks, G.J. Olson, F.E. Brinckman, M.C. Valeiras-Price, J.M. Bellama, *J. Chromatogr.* **410** (1987) 383.
- [77] L. Ebdon, J.I. Garcia-Alonso, *Analyst* **112** (1987) 1551.
- [78] R.W. Frei, J.F. Lawrence, *J. Chromatogr.* **61** (1971) 174.
- [79] J.F. Lawrence, R.W. Frei, *Int. J. Environ. Anal. Chem.* **1** (1972) 317.
- [80] H.A. Moye, S.J. Scherer, P.A. St John, *Anal. Lett.* **10** (1977) 1049.
- [81] R.W. Frei and J.F. Lawrence, in A.S. Tahori (Editor), *Methods in Residue Analysis, Pesticides Chemistry*, Vol. 4. Gordon and Breach, 1971, p.193.
- [82] R.W. Frei, J.F. Lawrence, D.S. Le Gay, *Analyst (London)* **98** (1973) 9.
- [83] J.F. Lawrence, G.W. Laver, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **57** (1974) 1022.
- [84] J.F. Lawrence, C. Renault, R.W. Frei, *J. Chromatogr.* **121** (1976) 343.
- [85] J.F. Lawrence, G.W. Laver, *J. Chromatogr.* **100** (1974) 175.
- [86] R.W. Frei, J.F. Lawrence, J. Hope, R.M. Cassidy, *J. Chromatogr. Sci.* **12** (1974) 40.
- [87] J.F. Lawrence, R. Leduc, *J. Chromatogr.* **152** (1978) 507.
- [88] F. Garcia-Sanchez, C. Cruces-Blanco, *Analyst* **116** (1991) 851.
- [89] J.F. Lawrence, R.W. Frei, *Anal. Chem.* **44** (1972) 2046.
- [90] M. Weigele, S.L. De Bernardo, J.P. Teng, W. Leimgruber, *J. Amer. Chem. Soc.* **94** (1972) 5927.
- [91] S. Udenfriend, S. Stein, P. Bohlen, W. Dairman, W. Leimgruber, M. Weigele, *Science* **178** (1972) 871.
- [92] J.A.F. De Silva, N. Strojny, *Anal. Chem.* **47** (1975) 714.
- [93] F. Garcia-Sanchez, C. Cruces-Blanco, *Anal. Chem.* **58** (1986) 73.
- [94] F. Garcia-Sanchez, A. Aguilar-Gallardo, C. Cruces-Blanco, *Talanta* **39** (1992) 1195.
- [95] J.G. Zakrevsky, V.N. Mallet, *J. Chromatogr.* **132** (1977) 315.
- [96] R.T. Krause, *J. Chromatogr.* **185** (1979) 615.
- [97] G.L. Muth, F. Erro, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **24** (1980) 759.
- [98] A. Dekker, N.W.H. Houx, *J. Environ. Sci. Health* **18** (1983) 379.
- [99] L.K. She, U.A.T. Brinkman, R.W. Frei, *Anal. Lett.* **17** (1984) 915.
- [100] K.M. Hill, R.H. Hollowell, L.A. Dal Cortivo, *Anal. Chem.* **56** (1984) 2465.
- [101] K.C. Ting, P.K. Kho, A.S. Musselman, G.A. Root, G.R. Tichelar, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **33** (1984) 538.
- [102] R.T. Krause, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **68** (1985) 726.
- [103] R.T. Krause, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **68** (1985) 734.
- [104] N. Aharonson, L. Muszkat, M. Klein, *Phytoparasitica* **13** (1985) 129.

- [105] K.C. Ting, P.K. Kho, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **37** (1986) 192.
- [106] D. Chaput, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **69** (1986) 985.
- [107] A. De Kok, M. Hiemstra, C.P. Vreeker, *Chromatographia* **24** (1987) 469.
- [108] C.E. Goewie, E.A. Hogendoorn, *J. Chromatogr.* **404** (1987) 352.
- [109] D. Chaput, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **71** (1988) 542.
- [110] S. Lesage, *LC-GC* **7** (1989) 268.
- [111] M.S. Ali, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **72** (1989) 586.
- [112] B.D. Mc Garvey, *J. Chromatogr.* **481** (1989) 445.
- [113] A. De Kok, M. Hiemstra, C.P. Vreeker, *J. Chromatogr.* **507** (1990) 459.
- [114] K.W. Edgell, L.A. Biederman, J.E. Longbottom, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **74** (1991) 309.
- [115] W. Blass, *Fresenius' J. Anal. Chem.* **339** (1991) 340.
- [116] M.W. Reeve, L.P. O'Connell, S. Bissell, J. Ross, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **49** (1992) 105.
- [117] A. De Kok, M. Hiemstra, U.A.T. Brinkman, *J. Chromatogr.* **623** (1992) 265.
- [118] K.M.S. Sundaram, J. Curry, *J. Chromatogr.* **672** (1994) 117.
- [119] P. Kucera, H. Umagat, *J. Chromatogr.* **255** (1983) 563.
- [120] S.S. Simons, Jr., D.F. Johnson, *J. Amer. Chem. Soc.* **98** (1976) 7098.
- [121] R.T. Krause, *J. Chromatogr. Sci.* **16** (1978) 281.
- [122] R.T. Krause, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **63** (1980) 1114.
- [123] H. Engelhardt, B. Lillig, *Chromatographia* **21** (1986) 136.
- [124] U.S. Environmental Protection Agency; EPA/600/4-85/054; U.S. GPO: Washington, DC, 1985; Method 531.
- [125] L. Nondek, R.W. Frei, U.A.T. Brinkman, *J. Chromatogr.* **282** (1983) 141.
- [126] L. Nondek, U.A.T. Brinkman, R.W. Frei, *Anal. Chem.* **55** (1983) 1466.
- [127] H. Jansen, U.A.T. Brinkman, R.W. Frei, *Chromatographia* **20** (1985) 453.
- [128] B.D. McGarvey, T.H.A. Olthof, J.L. Townshend, *J. Agric. Food Chem.* **38** (1990) 1608.
- [129] S.C. Stafford, W. Lin, *J. Agric. Food Chem.* **40** (1992) 1026.
- [130] L.G.M.T. Tuinstra, P.G.M. Kienhuis, *Chromatographia* **24** (1987) 696.
- [131] F. Garcia-Sanchez, C. Cruces-Blanco, A.L. Ramos-Rubio, M. Hernandez-Lopez, J.C. Marquez-Gomez, C. Carnero, *Anal. Chim. Acta* **205** (1988) 149.
- [132] A. Coly, J.-J. Aaron, *Analyst* **119** (1994) 1205.
- [133] S. Eremin, B. Laassis, J.-J. Aaron, *Talanta* **43** (1996) 295.
- [134] J.L. Vilchez, R. El-Khatibi, R. Blanc, A. Navalon, *Anal. Chim. Acta* **371** (1998) 247.
- [135] A. Coly, J.-J. Aaron, *Anal. Chim. Acta* **360** (1998) 129.
- [136] M.C. Mahedero, A. Muñoz de la Peña, A. Bautista-Sanchez, J.-J. Aaron, *Luminescence* **15** (2000) 103.
- [137] J.-J. Aaron, A. Coly, *Analyst* **121** (1996) 1545.
- [138] A. Coly, J.-J. Aaron, *Talanta* **49** (1999) 107.
- [139] A. Bautista-Sanchez, J.-J. Aaron, M.C. Mahedero, A. Muñoz de la Peña, *Analisis* **27** (1999) 857.
- [140] A.M. Garcia-Campaña, J.-J. Aaron, *Luminescence* **15** (2000) 110.
- [141] J.-J. Aaron, A. Coly, *Luminescence* **15** (2000) 63.

- [142] B.M. Patel, H.A. Moye, R. Weinberger, *Talanta* **38** (1991) 913.
- [143] L.F. Garcia, S. Ercmin, J.-J. Aaron, *Anal. Lett.* **29** (1996) 1447.
- [144] A. Coly, J.-J. Aaron, *Anal. Chim. Acta* **392** (1999) 255.
- [145] C.E. Werkhoven-Goewie, W.M. Boon, A.J.J. Praat, R.W. Frei, U.A.T. Brinkman, C.J. Little, *Chromatographia* **16** (1982) 53.
- [146] R.G. Luchtefeld, *J. Chromatogr. Sci.* **23** (1985) 516.
- [147] C.J. Miles, H.A. Moye, *Chromatographia* **24** (1987) 628.
- [148] C.J. Miles, H.A. Moye, *Anal. Chem.* **60** (1988) 220.
- [149] B.M. Patel, H.A. Moye, R. Weinberger, *J. Agric. Food Chem.* **38** (1990) 126.
- [150] C.J. Miles, *J. Chromatogr.* **592** (1992) 283.
- [151] J.A. Stab, M.J.M. Rozing, B. Van Hattum, W.P. Cofino, U.A.T. Brinkman, *J. Chromatogr.* **609** (1992) 195.
- [152] K.K. Brown, P. Tombouljian, S.M. Walters, *J. Res. Natl. Bur. Std. (US)* **93** (1988) 301.
- [153] M. Sanchez-Peña, A. Muñoz de la Peña, F. Salinas, M.C. Mahedero, J.-J. Aaron, *Analyst* **119** (1994) 1177.
- [154] G. Durand, N. De Bertrand, D. Barcelo, *J. Chromatogr.* **554** (1991) 233.
- [155] M.S. Gandelman, J.W. Birks, U.A.T. Brinkman, R.W. Frei, *J. Chromatogr.* **282** (1983) 193.
- [156] J.R. Poulsen, J.W. Birks, *Anal. Chem.* **61** (1989) 2267.
- [157] M.F. Lefevre, R.W. Frei, A.H.M.T. Scholten, U.A.T. Brinkman, *Chromatographia* **15** (1982) 459.
- [158] S. Traoré, J.-J. Aaron, *Anal. Lett.* **20** (1987) 1995.
- [159] M.S. Gandelman, J.W. Birks, *J. Chromatogr.* **242** (1982) 21.
- [160] G.N. Lewis, M.J. Kasha, *J. Am. Chem. Soc.* **66** (1944) 2100.
- [161] R.J. Keirs, R.D. Britt, W.E. Wentworth, *Anal. Chem.* **29** (1957) 202.
- [162] S. Freed, W. Salmre, *Science* **128** (1958) 1341.
- [163] E.M. Schulman, C. Walling, *Science* **178** (1972) 53.
- [164] E.M. Schulman, C. Walling, *J. Phys. Chem.* **77** (1973) 902.
- [165] L.J. Cline Love, M. Skrilec, J.G. Habarta, *Anal. Chem.* **52** (1980) 754.
- [166] S. Scypinsky, L.J. Cline Love, *Anal. Chem.* **56** (1984) 322.
- [167] S. Zhang, C. Liu, Y. Bu, *Fenxi Huaxue* **16** (1988) 494.
- [168] S. Zhang, C. Liu, Y. Bu, *Fenxi Huaxue* **16** (1988) 682.
- [169] A. Muñoz de la Peña, F. Salinas, M.I. Acedo, M.J. Gomez, M. Sanchez-Peña, *J. Inclus. Phenom. Mol. Recogn. Chem.* **15** (1993) 131.
- [170] A. Muñoz de la Peña, F. Salinas, M.J. Gomez, M. Sanchez-Peña, I. Duran-Meras, *Talanta* **40** (1993) 1657.
- [171] A. Muñoz de la Peña, M.C. Mahedero, A. Espinosa-Mansilla, A. Bautista-Sanchez, M. Reta, *Talanta* **48** (1999) 15.
- [172] J.-J. Aaron, E.M. Kaleel, J.D. Winefordner, *J. Agric. Food Chem.* **27** (1979) 1233.
- [173] J.-J. Aaron, J.D. Winefordner, *Analisis* **7** (1979) 168.
- [174] N.L. Trautwein, J.C. Guyon, *Anal. Lett.* **15A** (1982) 811.
- [175] S.Y. Su, E.B. Asafu-Adjaye, S. Ocak, *Analyst* **109** (1984) 1019.
- [176] E.B. Asafu-Adjaye, S.Y. Su, *Anal. Chem.* **58** (1986) 539.
- [177] M. Del Olmo, J. Laserna, D. Romero, J. Rohand, J.L. Vilchez, *Talanta* **44** (1997) 443.

DEUXIEME PARTIE

(Techniques Expérimentales)

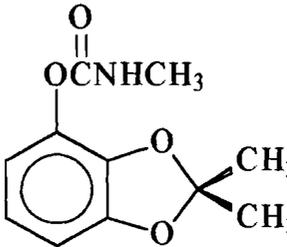
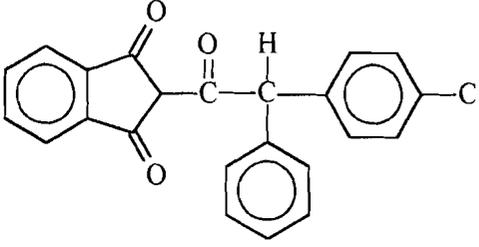
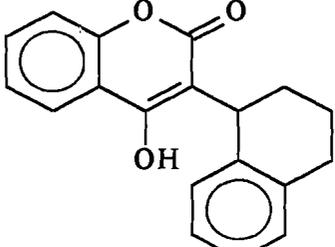
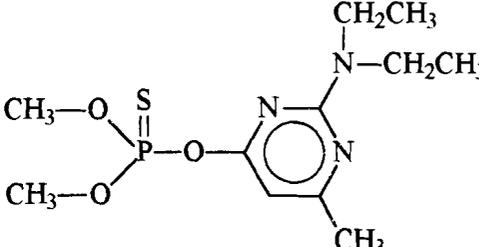
I. PRODUITS UTILISES

1. Les pesticides

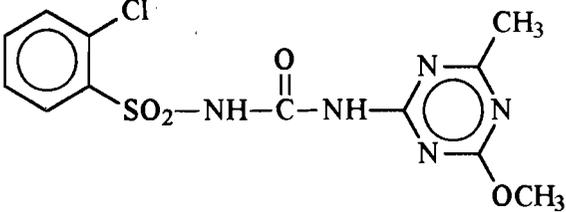
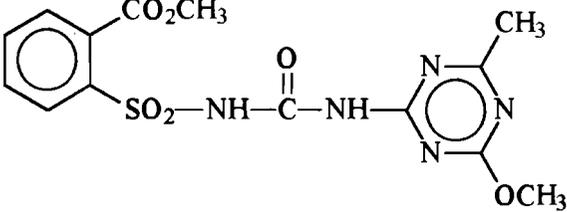
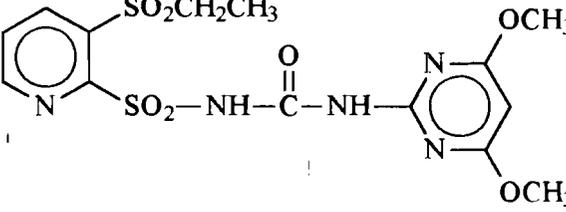
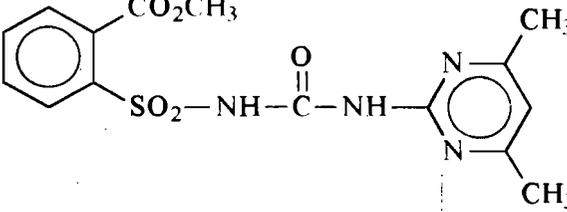
Nous avons étudié dans ce travail un groupe de treize pesticides appartenant à diverses classes. Leurs formules et leurs propriétés physico-chimiques et toxicologiques sont présentées dans le Tableau 1.

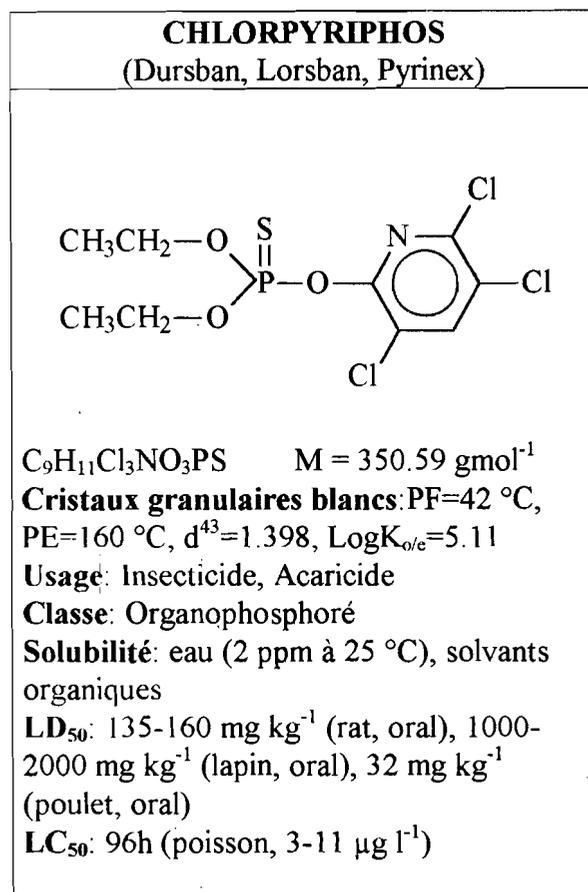
- (1) **Bendiocarb**: 1,3-Benzodioxol-4-ol, 2,2-diméthyl-, méthylcarbamate, [22781-23-3];
- (2) **Chlorophacinone**: 1H-Indène-1,3 (2H)-dione, 2-[(4-chlorophényl)phényl acétyl], [3691-35-8];
- (3) **Coumatétralyl**: 2H-1-Benzopyran-2-one, 4-hydroxy-3-(1,2,3,4-tétrahydro-1-naphtalényl), [5836-29-3];
- (4) **Pirimiphos méthyl**: Acide phosphorothioïque, esters, O-[2-(diéthylamino)-6-méthyl-4-pyrimidinyl] O,O-diméthyl ester, [29232-93-7];
- (5) **Chlorpyriphos**: Acide phosphorothioïque, esters, O,O-diéthyl O-(3,5,6-trichloro-2-pyridinyl) esters, [2921-88-2];
- (6) **Deltaméthrine**: Acide cyclopropane carboxylique, 3-(2,2-dibromoéthényl)-2,2-diméthyl-, cyano (3-phénoxyphényl) méthyl esters, [1R-[1 α (S*), 3 α]], [52918-63-5];
- (7) **Diflubenzuron**: Benzamide, N-[[4-Chlorophényl] amino] carbonyl]-2,6-difluoro, [35367-38-5];
- (8) **Fénitrothion**: Acide phosphorothioïque, esters, O,O-diméthyl O-(3-méthyl-4 nitrophényl) ester, [122-14-5];
- (9) **Fenvalérate**: Acide benzèneacétique, 4-Chloro- α -(1-méthyléthyl)-, cyano (3-phénoxyphényl) méthyl ester, [51630-58-1];
- (10) **Chlorsulfuron**: 2-chloro-N-[[4-méthoxy-6-méthyl-1,3,5-triazin -2-yl) amino] carbonyl] benzène sulfonamide, [64902-72-3]
- (11) **Metsulfuron méthyl**: Acide benzoïque, 2-[[[[4-méthoxy-6-méthyl -1,3,5-triazin -2-yl) amino] carbonyl] amino] sulfonyl]-méthyl ester, [74223-64-6]
- (12) **3-Rimsulfuron**: N-((4,6-diméthoxy-pyrimidin-2-yl)-aminocarbonyl)-3-(éthylsulfonyl)-2-pyridine sulfonamide, [122931-48-0]
- (13) **Sulfométuron méthyl**: Méthyl 2-[[[[4,6-diméthyl-2-pyrimidinyl)-amino] carbonyl] amino] sulfonyl] benzoate, [74222-97-2]

Tableau 1: Noms chimiques (noms commerciaux), structures, propriétés physico-chimiques et toxicologiques des pesticides sélectionnés.

BENDIOCARB (Ficam)	CHLOROPHACINONE (Rozol, Caid)
<div style="text-align: center;">  </div> <p> $C_{11}H_{13}NO_4$ $M = 223.23 \text{ g mol}^{-1}$ Solide blanc: PF $\approx 129-130 \text{ }^\circ\text{C}$ Usage: Insecticide (toxique) Classe: Carbamate Solubilité: eau (40 ppm), hexane (350 ppm), solvant organiques. LD₅₀: 35-100 mg kg⁻¹ (rat, oral) </p>	<div style="text-align: center;">  </div> <p> $C_{23}H_{15}ClO_3$ $M = 374.82 \text{ g mol}^{-1}$ Solide jaunâtre: PF $\approx 140 \text{ }^\circ\text{C}$ Usage: Rodenticide (très toxique) Classe: Indanedione Solubilité: Solvants organiques. LD₅₀: 20.5 mg kg⁻¹ (rat, oral) </p>
COUMATETRALYL (Racumine, Endrocide, Rodentine)	PIRIMIPHOS METHYL (Actellic, Blex, Tomahawk)
<div style="text-align: center;">  </div> <p> $C_{19}H_{16}O_3$ $M = 292.33 \text{ g mol}^{-1}$ Solide blanc: PF $\approx 172-176 \text{ }^\circ\text{C}$, LogK_{ow} = 3.346 Usage: Rodenticide (très toxique) Classe: Coumarine Solubilité: eau (425 ppm à 20° C, pH 7), solvant organiques. LD₅₀: 16.5 mg kg⁻¹ (rat, oral), 25-50 mg kg⁻¹ (rat, i.v.) LC₅₀: 96h (poisson, 100 mg l⁻¹) </p>	<div style="text-align: center;">  </div> <p> $C_{11}H_{20}N_3O_3PS$ $M = 305.34 \text{ g mol}^{-1}$ Huile jaune: PE ?; d³⁰ ≈ 1.157 Usage: Insecticide, Acaricide (nocif) Classe: Organophosphoré Solubilité: eau (5 ppm à 30 °C), solvants organiques. LD₅₀: 1000-1180 mg kg⁻¹ (lapin, souris, oral) 34-51 mg kg⁻¹ (poulet, inhalation) LC₅₀: 48h (poisson, 1.6 mg l⁻¹) </p>

DELTAMETHRINE (Décis, Butox, Cisline)	DIFLUBENZURON (Dimiline)
<div data-bbox="167 443 758 604" data-label="Chemical-Block"> </div> <p> $C_{22}H_{19}Br_2NO_3$ $M = 505.21 \text{ g mol}^{-1}$ Cristaux blanc: PF $\approx 98^\circ\text{-}101^\circ\text{C}$, $d^{20}=0.5$, $\text{Log}K_{o/e}=5.43$ Usage: Insecticide (toxique) Classe: Pyréthroïde Solubilité: eau ($<0.1 \text{ ppm}$), solvants organiques LD₅₀: 3450 mg kg^{-1} (souris, oral) 4 mg kg^{-1} (rat, i.v.) LC₅₀: 96h (poisson, $0.5\text{-}1.8 \mu\text{g l}^{-1}$) </p>	<div data-bbox="810 448 1348 649" data-label="Chemical-Block"> </div> <p> $C_{14}H_9ClF_2N_2O_2$ $M = 310.68 \text{ g mol}^{-1}$ Cristaux blanc: PF $\approx 239^\circ\text{C}$ Usage: Larvicide, Acaricide Classe: Phénylurée Solubilité: eau (0.3 ppm), solvants organiques LD₅₀: $4\text{-}64 \text{ g kg}^{-1}$ (rat, oral) </p>
<div data-bbox="335 1227 590 1294" data-label="Section-Header"> <p align="center">FENITROTHION (Sumithion)</p> </div> <div data-bbox="231 1422 694 1601" data-label="Chemical-Block"> </div> <p> $C_9H_{12}NO_5PS$ $M = 277.25 \text{ g mol}^{-1}$ Huile jaune: PE $\approx 118^\circ\text{C}$, $d \approx 1.3227$ Usage: Insecticide (nocif) Classe: Organophosphoré Solubilité: solvants organiques LD₅₀: 250 mg kg^{-1} (rat, oral) </p>	<div data-bbox="869 1227 1284 1294" data-label="Section-Header"> <p align="center">FENVALERATE (Belmark, Somicidine, Pydrine)</p> </div> <div data-bbox="790 1411 1364 1590" data-label="Chemical-Block"> </div> <p> $C_{25}H_{22}ClNO_3$ $M = 419.91 \text{ g mol}^{-1}$ Cristaux blanc: PF $\approx 59^\circ\text{-}60^\circ\text{C}$, $d^{25} \approx 1.175$ PE $\approx 300^\circ\text{C}$, $\text{Log}K_{o/e}=4.42$ Usage: Acaricide (nocif) Classe: Pyréthroïde Solubilité: eau ($<1 \text{ ppm}$), solvants organiques LD₅₀: $2500\text{-}5000 \text{ mg kg}^{-1}$ (rat, i.v.) LC₅₀: 24h (poisson, $20\text{-}76 \mu\text{g l}^{-1}$) </p>

CHLORSULFURON (Glean, Telar, Impure)	METSULFURON METHYL (Ally, Escort, Lorate)
 <p> $C_{12}H_{12}ClN_5O_4S$ $M = 357.78 \text{ g mol}^{-1}$ Solide cristallin: PF=174-178 °C, $d^{20}=1.48$ Usage: Herbicide Classe: Sulfonylurée Solubilité: eau (125 ppm à 25 °C), (1% m/v à 25 °C et pH 3), solvants organiques LD₅₀: 5550-6290 mg kg⁻¹ (rat, oral), >3400mg kg⁻¹ (lapin, i.v.) LC₅₀: 96h (poisson, >250 mg l⁻¹), 4h (rat, inhalation, >5900 mg m⁻³) </p>	 <p> $C_{14}H_{15}N_5O_6S$ $M = 381.37 \text{ g mol}^{-1}$ Solide cristallin: PF=158 °C, $d^{20}=1.23$, LogK_{ow}=10 à pH 5, -1.854 à pH 7 Usage: Herbicide Classe: Sulfonylurée Solubilité: eau (1.1 ppm à 25 °C et pH 5, 9500 ppm à 25 °C et pH 7), solvants organiques LD₅₀: >5000 mg kg⁻¹, >2000 mg kg⁻¹ (lapin, i.v.) LC₅₀: 96h (poisson, >12.5 mg l⁻¹), 4h (rat, inhalation, >5 mg l⁻¹) </p>
3-RIMSULFURON (Titus)	SULFOMETURON METHYL (Oust)
 <p> $C_{14}H_{17}N_5O_7S_2$ $M = 431.00 \text{ g mol}^{-1}$ Solide granulaire: PF ?, d ? Usage: Herbicide Classe: Sulfonylurée Solubilité: eau (?), solvants organiques LD₅₀: >5000 mg kg⁻¹ (rat, oral), >2000 mg kg⁻¹ (lapin, i.v.) LC₅₀: 96h (poisson, >1000 mg l⁻¹), 4h (rat, inhalation, >7.4 mg l⁻¹) </p>	 <p> $C_{15}H_{16}N_4O_5S$ $M = 364.38 \text{ g mol}^{-1}$ Solide cristallin: PF=203-205 °C, $d^{20}=1.48$, LogK_{ow}=1.176 à pH 5, -0.509 à pH 7 Usage: Herbicide Classe: Sulfonylurée Solubilité: eau (70 ppm à 25 °C et pH 7, 184 ppm à 24 °C et pH 6.7), solvants organiques LD₅₀: >5000 mg kg⁻¹ (rat, oral), >2000 mg kg⁻¹ (lapin, i.v.) LC₅₀: 96h (poisson, >12.5 mg l⁻¹), 4h (rat, inhalation, >11 mg l⁻¹) </p>



Les neuf pesticides aromatiques ont été achetés chez Riedel-de-Haen (Hanovre, Allemagne) tandis que les quatre herbicides sulfonylurées ont été gracieusement fournis par la Compagnie E.I. Dupont De Nemours, Inc. (Wilmington, Delaware, 19898, USA). Tous ces pesticides sont de qualité CLHP pour analyse. A l'exception du fénitrothion (96% m/m), du pirimiphos méthyl (98%, m/m) et du metsulfuron méthyl (97.4% m/m), la pureté des autres composés est supérieure à 99% (m/m).

2. Les solvants

Tous les solvants utilisés étaient de qualité spectroscopique.

2.1. les solvants d'analyse

Le 2-propanol (2-PrOH), l'éthanol (EtOH) et le méthanol (MeOH) proviennent de chez Merck (Darmstadt, Allemagne) tandis que l'acétonitrile (MeCN), le diméthylsulfoxyde (DMSO), l'éthylène glycol (EtGOH) et le diméthyl formamide (DMF) proviennent de chez Aldrich (Milwaukee, WI, USA). L'eau distillée est utilisée pour les mélanges binaires (eau/solvants organiques, 50:50 v/v) ainsi que pour les solutions aqueuses de tensioactifs et de

cyclodextrines. Pour la FIA, nous avons employé l'acétonitrile (qualité CLHP) de Prolabo, (Rhône Poulenc, Paris France).

2.2. Les solvants d'extraction

En plus des solvants d'analyse, le n-hexane et le chloroforme (Prolabo), l'éther et le dichlorométhane (Aldrich), puis l'acétate d'éthyle (Merck) ont été utilisés comme solvant d'extraction.

3. Les solutions tampons, les bases et les acides

Les solutions tampons de différents pH (2-11) proviennent de fournisseurs divers: Acros Organics (Geel, Belgique), Fluka (Buchs, Suisse), Aldrich et Merck. Elles ont été utilisées en proportion égale à 20% (v/v). Les solutions plus alcalines (pH>11) ont été préparées à partir de concentrations convenables (0.004-0.1 M) de NaOH (97%, m/m, Prolabo). L'acide phosphorique (H_3PO_4 , 85%, m/m, Prolabo) a été utilisé pour la phase d'acidification précédant la procédure d'extraction des échantillons réels des herbicides sulfonylurées.

4. Les milieux organisés

Deux types de tensioactifs ont été utilisés: le sulfate dodécyle de sodium (SDS, 99%, m/m, Acros Organics) et le chlorure de cetyltriméthylammonium (CTAC, 25% m/m en solution aqueuse, Aldrich).

Deux cyclodextrines ont été utilisées: la β -cyclodextrine (β -CD, 99%, m/m, Aldrich) et l'hydroxypropyl β -cyclodextrine (HP- β -CD, 99%, m/m, DS=0.8, Aldrich).

5. Les échantillons réels

5.1. Les formulations techniques

Les formulations techniques des 9 pesticides aromatiques ont été gracieusement fournies par la Direction de la Protection des Végétaux (DPV, Dakar). Nous disposons à cet effet de trois types différents de formulations:

- la DP: "Dispersible Powder", (formulation en poudre);
- la EC: "Emulsifiable Concentrate", (formulation sous forme de gel);
- la ULV: "Ultra Low Volume", (formulation en solution).

5.2. Les eaux naturelles

L'eau de fleuve (Seine) a été fraîchement collectée en deux endroits différents: à Chatou (banlieue Parisienne) le 1^{er} Janvier 1997, puis à Paris (pont Iéna) le 6 Septembre 1998. Elle a été utilisée dans un délai de trois jours afin d'éviter sa dénaturation éventuelle.

II. INSTRUMENTATION

1. Spectres d'absorption

Les spectres d'absorption ont été enregistrés à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible Varian, Modèle DMS 200 connecté à une imprimante Epson LX-800. Deux cuves parallélépipédiques en quartz comprenant trois faces polies (trajet optique 1 cm) ont été employées.

2. Spectres de fluorescence

Les mesures fluorimétriques ont été effectuées à l'aide d'un spectrofluorimètre Kontron (Zurich, Suisse), Modèle SFM-25 piloté par un micro-ordinateur et équipé d'un compartiment pour cellule thermostatique. Les spectres d'excitation, d'émission et les FIA-grammes ont été enregistrés puis mémorisés à l'aide d'un logiciel d'acquisition. Une cuve parallélépipédique en quartz (Hellma, Mulheim, Allemagne) comprenant cinq faces polies (trajet optique 1 cm) a été utilisée pour les mesures.

3. Systèmes de photolyse

➤ En solution stationnaire, la photolyse a été réalisée avec une source d'excitation Oriel, Modèle 6137, comprenant une lampe à arc (spectre large) à haute pression de mercure de 200 W, (Osram, HBO), avec une alimentation Oriel, Modèle 8500. Tout ce dispositif étant abrité dans une boîte de protection (Schoeffel Instruments GmbH)

➤ En flux continu de solvant, c'est au moyen d'un photoréacteur commercial Knauer (Berlin, Allemagne), Modèle 31125 comprenant un tube capillaire fin en téflon (0.5 mm d.i., et longueur variable) soigneusement enroulé autour d'une lampe UV germicide de 8 W (254 nm) que les photoproduits ont été obtenus.

4. Système FIA avec détection photochimique fluorimétrique

Les différents composants de base du montage FIA comprennent:

- (1) Une phase mobile;
- (2) Une pompe péristaltique Ismatec (Suisse), Modèle IPC à débit variable et régulier;
- (3) Une valve d'injection munie d'une boucle de volume interchangeable, permettant ainsi d'injecter des volumes variables; l'échantillon à analyser est injecté manuellement au moyen d'une seringue;
- (4) Un réacteur photochimique comprenant un tube capillaire fin en téflon (diamètre intérieur, 0.5 mm) enroulé autour de la lampe UV germicide (254 nm) décrite précédemment;
- (5) Un détecteur constitué d'un spectrophotofluorimètre équipé d'une cellule compacte à flux continu Hellma, Modèle 176.752-QS, (volume intérieur 25 μ l, trajet optique 1.5 mm);
- (6) Un micro-ordinateur pour l'acquisition des données;
- (7) Un système d'évacuation.

5. Chromatographie en phase gazeuse (CPG-SM)

5.1. Appareillage

Les photoproduits obtenus ont été identifiés à l'aide d'un appareil de chromatographie en phase gazeuse Intersmat Modèle IGC-121 FL, équipé d'une colonne capillaire type WCOT Fused silica (25 m x 0.25 mm, CP-SIL 5 CB Low-Bleed/MS, DF=0.12 μ m); le gaz vecteur utilisé est l'hélium et la pression est fixée à 1 bar; la température de l'injecteur est 220 °C, variant de 45 à 280 °C à raison de 10 °C min⁻¹. Le spectromètre de masse est une trappe ionique Finnigan, Modèle ITD 800. Les échantillons irradiés ont été analysés par ionisation chimique (IC) et par impact électronique (IE) avec l'isobutane comme gaz ionisant. Le montage étant couplé à un micro-ordinateur pour l'acquisition des données.

5.2. Echantillonnage

Les photoproduits ont été obtenus par irradiation directe avec la lampe à mercure haute pression (Osram HBO) décrite au paragraphe précédent (II.3).

➤ Dans le cas des pesticides aromatiques, l'irradiation a été effectuée dans les solvants organiques optimaux (chapitre 1, Tableau 4).

➤ Quant aux herbicides sulfonyles, les réactions de photolyse ont été réalisées dans l'eau; les photoproduits ont été ensuite extraits avec le dichlorométhane suivant un protocole

expérimental décrit dans la littérature [1]. Cette phase d'extraction était nécessaire afin d'éliminer les herbicides de départ du fait de leur caractère non volatil.

6. Chromatographie liquide haute performance (CLHP/UV-VIS)

6.1. Appareillage

L'appareillage de la CLHP comprend: (i) une pompe Chromatec, Modèle 380 (Touzart et Matignon) réglée à la pression de 175 bars (débit de 0.5 ml min^{-1}); (ii) une valve d'injection Rhéodyne, Modèle 7725 munie d'une boucle de $50 \mu\text{l}$; (iii) une colonne en phase inverse, stabilité pesticide, Modèle MB3SA5PESTI, $250 \times 5 \text{ mm}$, granulométrie $5 \mu\text{m}$ (Cil Cluzeau); (iv) un détecteur UV-VIS Dionex, Modèle AD20; (v) un micro-ordinateur pour l'acquisition et l'enregistrement des chromatogrammes. La phase mobile employée est le mélange ternaire $\text{H}_2\text{O}/\text{MeCN}/\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$, 59:39:2, (v/v).

6.2. Echantillonnage

Une solution 10^{-4} M de chaque herbicide est irradiée dans les solvants analytiques optimaux (chapitre 1, Tableau 4) et le mélange brut fut injecté dans les mêmes conditions que l'échantillon témoin (pesticide non irradié).

III. PROCEDURES EXPERIMENTALES

1. Généralités

1.1. Préparation des solutions

➤ Des solutions-mères fraîches de concentration 10^{-3} M en pesticide ont été préparées dans des solvants organiques (méthanol ou acétonitrile) et des solutions de concentrations plus faibles ont été obtenues par dilutions successives. Toutes les solutions ont été protégées de la lumière à l'aide de papier aluminium et utilisées dans un délai de 3 jours. Les solutions-mères ont été conservées au réfrigérateur pendant une semaine au maximum à l'abri de la lumière pour éviter leur photodécomposition éventuelle.

➤ Des solutions-mères fraîches de β -CD (0.016 M), HP- β -CD (0.02 M), SDS (0.1 M), CTAC (0.1 M) et NaOH (1M) ont été préparées dans l'eau distillée, les solutions de concentrations plus faibles étant obtenues par dilutions successives.

➤ Les solutions micellaires de pesticides et les complexes d'inclusion CD:pesticides aromatiques ont été préparées en transférant des microquantités ($10\text{-}50 \mu\text{l}$) de la solution

diluée (dans un solvant organique ou l'eau) de pesticide dans une fiole jaugée de 5 ml et en complétant jusqu'au trait de jauge avec tour à tour: le volume des solutions de CD ou de micelle à employer, 1 ml de la solution tampon optimale ou la quantité convenable (25 ou 50 μ l) de NaOH et de l'eau distillée. La solution est alors homogénéisée avant irradiation et/ou mesures analytiques. Toutes les solutions ainsi préparées contiennent une proportion de solvant organique inférieure à 1% (v/v).

1.2. Réactions de photolyse

➤ En solution stationnaire, les réactions de photolyse ont été effectuées en irradiant pendant un intervalle de temps fixe et bien déterminé la solution diluée du pesticide ainsi préparée, contenue dans une cuve en quartz placée devant le faisceau de la lampe à arc à une distance d'environ 30 cm. Toutes les mesures ont été faites à température ambiante.

➤ En flux dynamique de solvant, la solution injectée dans le photoréacteur est irradiée au fur et à mesure qu'elle progresse vers le détecteur.

1.3. Mesures analytiques

➤ Pour les pesticides naturellement fluorescents, les courbes de décroissance de l'intensité de fluorescence, exprimées sous forme du pourcentage de concentration restante, en fonction du temps d'irradiation $f(\%C_r, t_{irr})=0$, ont été établies à la longueur d'onde d'émission maximale de chaque pesticide. Les intervalles de mesure sont généralement de 30 secondes à une minute selon le pesticide. Les droites d'étalonnage $\text{Log } f(I_F, C)=0$ ont été dressées à la longueur d'onde d'émission maximale du pesticide concerné.

➤ Pour les pesticides photochimiquement fluorescents, les courbes de variation de l'intensité de fluorescence en fonction du temps d'irradiation $f(I_F, t_{irr})=0$ ont été réalisées à la longueur d'onde d'émission maximale du photoproduit formé, à des intervalles de mesure de 20 secondes à 5 minutes. Les droites d'étalonnage $\text{Log } f(I_F, C, t_{irr}^{opt})=0$ ont été établies à la longueur d'onde d'émission maximale du photoproduit formé en mesurant son signal de fluorescence (I_F) correspondant au temps d'irradiation optimal (t_{irr}^{opt}).

➤ Pour l'ensemble des pesticides étudiés, les signaux de fluorescence et de fluorescence induite photochimiquement (FIP) ont été corrigés en soustrayant le blanc (signal du solvant). Les domaines de linéarité ont été déterminés et les calculs statistiques effectués par la méthode des régressions linéaires ou non linéaires à l'aide de logiciels spécialisés.

1.4. Logiciels utilisés

En plus des logiciels classiques, les logiciels suivants ont été employés.

- (1) K-Wind 25 version 1.5 (anciennement Utilsfm1-25): pour l'acquisition et le lissage des spectres d'excitation, d'émission et les spectres dérivés d'ordre un;
- (2) Origin Graph version 5.00 et Slide Write Plus version 3.10: pour le traitement statistique des données et pour la méthode de régression non linéaire;
- (3) Parvus version 1.3 : pour la méthode chimiométrique de calibration multivariable (PLS);
- (4) ChemWin version 5.00: pour le dessin des structures moléculaires des pesticides étudiés.

1.5. Limite de détection (LD)

Pour l'évaluation de la LD, nous avons travaillé avec la sensibilité maximale disponible sur le spectrophotofluorimètre ($S=10$), afin de pouvoir observer le maximum de fluctuations dues au solvant. L'évaluation de la déviation standard lors de la mesure du signal du solvant ($n=8$) permet d'obtenir la LD. C'est par définition la valeur de la concentration du pesticide qui correspond à un signal trois fois plus intense que les fluctuations du solvant ($S/N=3$).

2. Traitement des échantillons réels

2.1. Fortification

➤ L'eau de Seine a été d'abord filtrée sur un papier filtre Whatman N°1 afin d'éliminer les particules solides en suspension. La solution obtenue ($\text{pH} \approx 8.3$) a été fortifiée avec une quantité fixe connue de pesticide, puis agitée aux ultrasons pendant cinq minutes. Ensuite, elle a été soit stockée au réfrigérateur à l'abri de la lumière et utilisée comme solution mère de l'échantillon réel, soit extraite immédiatement.

➤ L'eau du robinet a été directement fortifiée et analysée sans avoir recours à une procédure d'extraction.

➤ L'absence de pesticide dans les échantillons d'eau a été vérifiée avant toute procédure de fortification. Contrairement à l'eau du robinet, l'eau de Seine renfermait une substance organique inconnue naturellement fluorescente avec des valeurs de longueur d'onde des maxima de fluorescence ($\lambda_{\text{ex}}=361$ nm, $\lambda_{\text{em}}=433$ nm), suffisamment éloignées de celles des pesticides étudiés à l'exception du chlorpyrifos ($\lambda_{\text{ex}}=378$ nm, $\lambda_{\text{em}}=428$ nm). Nous avons donc dû développer une procédure d'extraction dans le cas de ce dernier pesticide.

➤ Chaque échantillon de formulation technique des pesticides étudiés renferme en proportion une quantité bien définie et connue du pesticide considéré comme principe actif. Par conséquent, une procédure d'extraction a aussi été élaborée pour ces échantillons.

2.2. Procédures d'extraction

2.2.1. Extraction des formulations techniques

Une quantité connue de l'échantillon réel de pesticide à analyser a été dissoute dans 25 ml d'un solvant approprié (Tableaux 2 et 3), puis agitée dans un bain ultrasonique pendant 30 min avant d'être filtrée (filtre Whatman sans cendre N° 40). Une seconde filtration est réalisée si nécessaire. Les résidus de la filtration sont alors lavés avec 25 ml du même solvant. L'ensemble des filtrats est collecté dans une fiole jaugée de 50 ml, puis refiltré une dernière fois à l'aide d'un verre fritté de porosité 3. On obtient généralement une solution limpide dont le spectre d'absorption UV-visible est enregistré avant sa détection fluorimétrique. A l'exception de la deltaméthrine, tous les échantillons réels étudiés présentent des bandes d'absorption identiques à celles de l'échantillon pur témoin.

Tableau 2: Méthode d'extraction des échantillons réels de formulations techniques des pesticides: application en phase stationnaire.

Pesticide	Type de formulation (taux de matière active)	Solvant		Quantité ^a	Concentration théorique (M) ^b
		Extraction	Analyse		
Bendiocarb	ULV (40 g l ⁻¹)	- ^c	MeCN	2.8 ml	5x10 ⁻³
Chlorophacinone	ULV (2.5 g l ⁻¹)	50 ml MeCN	MeCN	3.75 ml	5x10 ⁻⁴
Coumatétralyl	DP (0.0375 %)	50 ml EtOH	EtOH	3.8978 g	10 ⁻⁴
Pirimiphos méthyl	DP (2 %)	50 ml MeOH	MeOH	3.8168 g	5x10 ⁻³
Deltaméthrine	ULV (12.5 g l ⁻¹)	50 ml MeOH	MeOH	4.05 ml	2x10 ⁻³
Diflubenzuron	ULV (450 g l ⁻¹)	50 ml DMSO	2-PrOH	3.5 ml	10 ⁻¹
Fénitrothion	DP (3 %)	50 ml DMSO	DMSO	2.3105 g	5x10 ⁻³
Sumicombi ^d	FENI: EC (250 g l ⁻¹)	100 ml	DMSO	2.3 ml	2x10 ⁻²
	FENV: EC (50 g l ⁻¹)	n-Hexane	DMSO		- ^e

^aQuantité de l'échantillon réel prélevée puis dissoute dans le solvant d'extraction; ^bConcentration théorique estimée à partir du taux de matière active indiqué sur l'emballage de la formulation technique de chaque pesticide; ^cPour le bendiocarb, quatre solvants d'extraction ont été utilisés sans succès (n-hexane, éther, dichlorométhane et acétonitrile). Aucune application analytique n'a pu être faite à cause des effets d'interférences; ^dSumicombi: formulation technique constitué d'un mélange binaire de fénitrothion (FENI: 250 g l⁻¹) et de fenvalérate (FENV: 50 g l⁻¹); ^eDans le mélange binaire le fénitrothion est environ 7.6 fois plus concentré que la fenvalérate.

Après extraction, chaque échantillon est d'abord dilué dans le solvant d'analyse, puis étudié spectroscopiquement sans purification préalable, ni évaporation du solvant d'extraction. Une prise d'environ 50 µl du filtrat obtenu est introduite dans un volume d'au moins 10 ml de solvant de sorte que le taux du solvant d'extraction dans la solution diluée utilisée pour la

mesure de l'intensité de fluorescence reste inférieur à 0.5%, (v/v). Le rendement des extractions a été évalué à l'aide de la méthode d'addition standard [2-4].

Tableau 3: Méthode d'extraction des échantillons réels de formulations techniques: application en FIA.

Pesticide	Type de formulation (taux de matière active)	Solvant ^a		Quantité	Concentration théorique (M)
		Extraction	Analyse		
Bendiocarb	ULV (40 g l ⁻¹)	100 ml H ₂ O	MeCN	0.28 ml	5x10 ⁻⁴
Chlorophacinone	ULV (2.5 g l ⁻¹)	50 ml n-Hexane	MeCN	3.75 ml	5x10 ⁻⁴
Coumatétralyl	DP (0.0375 %)	50 ml EtOH	DMSO	3.8978 g	10 ⁻⁴
Pirimiphos méthyl	DP (2 %)	50 ml MeOH	MeOH	3.8168 g	5x10 ⁻³
Deltaméthrine	ULV (12.5 g l ⁻¹)	50 ml n-Hexane	EtOH	2.025 ml	10 ⁻³
Diflubenzuron	ULV (450 g l ⁻¹)	50 ml MeOH	2-PrOH	3.5 ml	10 ⁻¹
Fénitrothion	DP (3 %)	50 ml DMSO	DMSO	2.3105 g	5x10 ⁻³
Sumicombi	FENI: EC (250 g l ⁻¹)	100 ml	- ^b	1.7 ml	- ^c
	FENV: EC (50 g l ⁻¹)	n-Hexane	MeOH		2x10 ⁻³

^aPour l'application en FIA, nous avons conservé le même mode opératoire d'extraction des pesticides; mais nous avons changé de solvants d'extraction pour certains pesticides (bendiocarb, chlorophacinone, deltaméthrine et diflubenzuron) pour deux raisons essentielles: (i) surmonter certaines difficultés rencontrées en phase stationnaire: effets d'interférences trop importants et/ou problèmes de surestimation de la concentration des pesticides; (ii) procéder à une étude comparative de l'effet du solvant d'extraction sur les pourcentages de récupération et/ou sur la concentration des pesticides trouvées après le dosage; ^bSeule la fenvalérate a été analysée car une détection simultanée des deux pesticides par FIA est plus difficile à réaliser; ^cVoir Tableau 2.

2.2.2. Extraction du chlorpyrifos

5 ml d'eau du fleuve ont été fortifiés avec une solution de 3.52 µg ml⁻¹ de chlorpyrifos et placés dans une fiole jaugée de 25 ml, auxquels 10 ml de dichlorométhane ont été ajoutés. Après 10 min d'agitation aux ultrasons, la solution est introduite dans une ampoule à décanter. La phase organique est isolée tandis que la fraction aqueuse est soumise à une seconde extraction. Après une troisième extraction de la phase aqueuse, toutes les phases organiques sont rassemblées, séchées (avec le sulfate anhydre de magnésium), puis évaporées à sec à l'évaporateur rotatif à 35 °C. Le résidu est alors récupéré dans 5 ml d'eau distillée pour effectuer les mesures analytiques.

2.2.3. Extraction des herbicides sulfonylurées

Selon l'herbicide, deux méthodes d'extraction ont été employées.

Le chlorsulfuron, le metsulfuron méthyl et le sulfométuron méthyl ont été extraits suivant une procédure modifiée de la littérature [1,5-9]. 250 µl de NaOH (1 M) ont été ajoutés à 25 ml d'une solution fortifiée d'eau du fleuve, et la solution a été soumise aux ultrasons pendant 15 min. Le précipité blanc apparu a été éliminé par filtration (papier filtre Whatman N° 1) et la solution alcaline (pH = 11.69 ± 0.05) obtenue a été soumise à un double lavage de pré-

purification avant l'extraction de l'herbicide. D'abord, elle a été introduite dans une ampoule à décanter de 250 ml auquel 50 ml de n-hexane est ajouté. Après 3 min d'agitation, la phase supérieure hexanique a été éliminée. Ensuite, 15 ml de dichlorométhane ont été ajoutés dans l'ampoule à décanter. Après 3 min d'agitation, la phase aqueuse supérieure a été collectée dans un bûcher de 100 ml tandis que le dichlorométhane (phase inférieure) était lavé avec 30 ml d'une solution aqueuse de NaOH (0.01 M).

Par la suite, les différentes phases aqueuses rassemblées dans le bûcher de 100 ml ont été acidifiées par addition progressive de H_3PO_4 (1 M), avec agitation jusqu'à ce que le pH de la solution atteigne la valeur de 2.80 (± 0.05). Cette solution aqueuse acidifiée a été alors réintroduite dans l'ampoule à décanter de départ et l'herbicide a été extrait avec 3 fois 75 ml de dichlorométhane. Toutes les fractions organiques ont été rassemblées, séchées (avec le sulfate anhydre de magnésium) puis évaporées à sec à 35 °C. Le résidu est alors récupéré dans 5 ml d'un mélange méthanol-solvant d'analyse (50:50, v/v) pour les mesures analytiques.

Une seconde méthode d'extraction a été utilisée pour le 3-rimsulfuron après que la première eût échoué pour ce composé. 25 ml de la solution d'eau naturelle fortifiée ont été ajustés à pH=2.2 (± 0.1) avec H_3PO_4 (1 M), puis le 3-rimsulfuron a été successivement extrait avec 3 fois 50 ml de dichlorométhane, de chloroforme, et d'acétate d'éthyle. Pour chaque solvant, les différentes phases organiques ont été rassemblées, puis séchées (avec le sulfate anhydre de magnésium) avant d'être évaporées à sec à 35 °C. Le résidu a été alors récupéré dans 5 ml d'un mélange méthanol-solution tampon pH 7 (50:50, v/v) pour les mesures analytiques.

3. Détermination des constantes d'association avec les milieux organisés

3.1. Cas des cyclodextrines

La stœchiométrie et les constantes d'association des complexes de cyclodextrines (CD) ont été déterminées en mesurant le signal de fluorescence ou de fluorescence induite photochimiquement du pesticide (concentration fixe) à des concentrations croissantes des CDs (entre 0.00 et 0.013 M pour la β -CD et entre 0.00 et 0.02 M pour l'HP- β -CD), et en analysant les données par l'approche modifiée de la méthode de Benesi-Hildebrand (dite méthode de la "*double représentation inverse*") [10-18] pour les complexes d'inclusion du type 1:1 ou 2:1. La méthode peut être résumée comme suit.

➤ Si la stœchiométrie des complexes de CD et du pesticide (P) est de type 1:1, la réaction de formation du complexe entre CD et P et la constante d'association K_1 correspondante s'écrivent alors:



Les lois de conservation de la matière permettent d'écrire:

$$[P]_0 = [P] + [P:CD]$$

$$[CD]_0 = [CD] + [P:CD]$$

Les fractions de pesticides liés aux CDs (f) ou libres ($1-f$) peuvent être définies par les rapports suivants:

$$f = \frac{[P:CD]}{[P]_0} \quad \text{et} \quad (1-f) = \frac{[P]}{[P]_0}$$

Le signal de fluorescence observé, F lorsque la concentration des CDs augmente est tel que

$$F = (1-f) \cdot F_0 + f \cdot F_\infty \quad \text{soit} \quad f = \frac{F - F_0}{F_\infty - F_0}$$

Avec,

$[P]_0$: concentration analytique du pesticide;

$[CD]_0$: concentration analytique des CDs;

F_0 : signal de fluorescence en l'absence des CDs;

F_∞ : signal de fluorescence à la saturation, c'est à dire lorsque toutes les molécules de pesticides sont complexées.

Il vient alors:

$$K_1 = \frac{[P:CD]}{([P]_0 - [P:CD])([CD]_0 - [P:CD])} \approx \frac{[P:CD]}{([P]_0 - [P:CD])[CD]_0}$$

Car la concentration initiale des CDs est toujours en excès par rapport à celle du complexe, donc $[CD]_0 \gg [P:CD]$. Il vient:

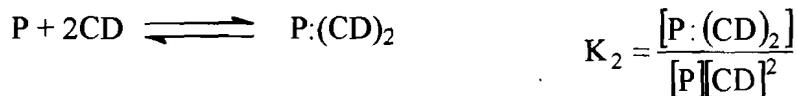
$$K_1[CD]_0 = \frac{\frac{[P:CD]}{[P]_0}}{\left(1 - \frac{[P:CD]}{[P]_0}\right)} = \frac{f}{1-f} \quad \text{soit} \quad \frac{1}{f} = 1 + \frac{1}{K_1[CD]_0} = \frac{F_\infty - F_0}{F - F_0}$$

Cette équation peut être réécrite sous la forme suivante, (équation de Benesi-Hildebrand):

$$\frac{1}{F - F_0} = \frac{1}{F_\infty - F_0} + \frac{1}{(F_\infty - F_0)K_1[CD]_0} \quad (1)$$

L'équation (1) implique que la courbe $1/(F-F_0)$ en fonction de $1/[CD]_0$ soit linéaire; à partir du rapport de l'ordonnée à l'origine et de la pente, on peut estimer les valeurs de K_1 et de F_∞ .

➤ De la même manière, dans le cas d'une stœchiométrie du type 2:1, la réaction d'équilibre et la constante K_2 de complexation s'écrivent:



L'équation de Benesi-Hildebrand correspondante sera:

$$\frac{1}{F - F_0} = \frac{1}{F_\infty - F_0} + \frac{1}{(F_\infty - F_0)K_2[CD]_0^2} \quad (2)$$

Le tracé de la courbe $1/(F-F_0)$ en fonction de $1/[CD]_0^2$ devrait donner une droite et à partir du rapport de l'ordonnée à l'origine et de la pente, on peut avoir une estimation de K_2 et de F_∞ .

➤ Toutefois, si la stœchiométrie du complexe est déterminée à l'aide de cette méthode dite de la "double représentation inverse", le calcul de la constante d'association n'est en

général pas effectué par cette méthode. La raison généralement invoquée en est le manque de précision de la méthode dû au fait que les valeurs de $[CD]_0$ choisies, étant destinées à être espacées de manière équidistante dans une fonction directe du type $F=f([CD]_0)$, la transformation inverse change cette relation. Il en résulte que dans le graphe, les points correspondants aux faibles concentrations sont largement espacés alors que les points des grandes concentrations sont imbriqués les uns dans les autres. Par conséquent, la pente de la droite est très sensible à la valeur de l'ordonnée des points correspondant aux faibles concentrations. Dans ces conditions, on peut évaluer plus précisément la constante d'association en employant la méthode de régression non linéaire (RNL) [19], basée sur le tracé direct du signal de fluorescence observé F en fonction de $[CD]_0$. On utilise alors les équations suivantes, issues des Eq. (1) et (2):

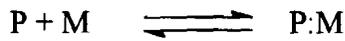
Pour la stœchiométrie 1:1
$$F = \frac{F_0 + F_\infty K_1 [CD]_0}{1 + K_1 [CD]_0} \quad (3)$$

Pour la stœchiométrie 2:1
$$F = \frac{F_0 + F_\infty K_2 [CD]_0^2}{1 + K_2 [CD]_0^2} \quad (4)$$

La méthode de RNL nécessite une estimation préliminaire des paramètres (F_0 , F_∞ , K_1 ou K_2) du complexe faite à partir de la droite initialement obtenue. La procédure graphique repose sur l'algorithme de Marquardt qui permet de calculer à partir des Eq. (3) ou (4), F pour chaque concentration de CD par itération, c'est à dire en faisant varier les valeurs initiales des paramètres F_0 , F_∞ , K_1 ou K_2 . La bonne convergence graphique entre les valeurs calculées et celles expérimentalement mesurées de F est évaluée à l'aide du paramètre χ^2 . Les valeurs de K_1 ou K_2 qui correspondent à une bonne corrélation (*i.e.*, aux plus petites valeurs de χ^2) entre les valeurs calculées de F et celles déterminées expérimentalement, ont été retenues comme étant les constantes expérimentales correctes.

3.2. Cas des micelles

Le modèle qui permet d'obtenir la constante d'association entre un substrat pesticide (P) et une micelle (M) a été déjà décrit dans la littérature [20-22]. Il est basé sur l'équilibre suivant, la constante d'association correspondante étant appelée K_m :



$$K_m = \frac{[P:M]}{[P][M]}$$

La loi de conservation de la matière permet d'écrire:

$$[P]_0 = [P] + [P:M]$$

$$[D]_0 = [cmc] + [M] + [P:M]$$

La fraction de pesticides liés aux micelles est:

$$f = \frac{[P:M]}{[P]_0} = \frac{F - F_0}{F_\infty - F_0}$$

Il vient alors:

$$K_m([D]_0 - [P]_0 f) - K_m[cmc] = \frac{f}{1-f} \quad (5)$$

$[D]_0$: concentration initiale du tensioactif;

$[cmc]$: concentration micellaire critique.

La représentation de $f/(1-f)$ en fonction de $([D]_0 - [P]_0 f)$ doit donner une droite dont la pente et l'ordonnée à l'origine permettent d'estimer les valeurs de K_m et de la $[cmc]$.

IV. REFERENCES

- [1] G. Dinelli, A. Bonetti, P. Catizone, G.C. Galletti, *J. Chromatogr.* **656B** (1994) 275.
- [2] J.N. Miller, *Spectroscopy Europe* **4** (1993) 26.
- [3] M. Bader, *J. Chem. Ed.* **57** (1980) 703.
- [4] A. Montiel, B. Welte, *Analisis* **14** (1986) 167.
- [5] I. Ahmad, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **70** (1987) 745.
- [6] D.G. Thompson, L.M. MacDonald, *J. AOAC Int.* **75** (1992) 1084.
- [7] E.G. Cotterill, *Pestic. Sci.* **34** (1992) 291.
- [8] M.J.M. Wells, J.L. Michael, *J. Chromatogr. Sci.* **25** (1987) 345.
- [9] G. Dinelli, A. Vicari, P. Catizone, *J. Agric. Food Chem.* **41** (1993) 742.
- [10] I. Duran-Meras, A. Muñoz de la Peña, F. Salinas, I. Rodriguez-Caceres, *Analyst* **119** (1994) 1215.
- [11] A. Muñoz de la Peña, F. Salinas, M.J. Gomez, M.I. Acedo, M. Sanchez-Peña, *J. Inklus. Phenom. Mol. Recogn. Chem.* **15** (1993) 131.
- [12] A. Muñoz de la Peña, T.T. Ndou, J.B. Zung, I.M. Warner, *J. Phys. Chem.* **95** (1991) 3330.
- [13] E.L. Roberts, P.T. Chou, T.A. Alexander, R.A. Agbaria, I.M. Warner, *J. Phys. Chem.* **99** (1995) 5431.

- [14] M. Eddaoudi, A.W. Coleman, P. Prognon, P. Lopez-Mahia, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* (1996) 955.
- [15] S. Nigam, G. Durocher, *J. Phys. Chem.* **100** (1996) 7135.
- [16] Y. Kusumoto, *Chem. Phys. Lett.* **136** (1987) 535.
- [17] J.-J. Aaron, B. Laassis, M.C. Mahedero, A. Muñoz de la Peña, F. Salinas, *J. Inclus. Phenom. Mol. Recogn. Chem.* **18** (1994) 69.
- [18] M. Maafi, B. Laassis, J.-J. Aaron, M.C. Mahedero, A. Muñoz de la Peña, F. Salinas, *J. Inclus. Phenom. Mol. Recogn. Chem.* **22** (1995) 235.
- [19] K.A. Connors, in *Binding Constants, the Measurement of Molecular Complex Stability*, J. Wiley & Sons, New York, 1987.
- [20] C. Hirose, L. Sépulvéda, *J. Phys. Chem.* **85** (1981) 3689.
- [21] S. Nigam, R.S. Sarpal, M. Belletête, G. Durocher, *J. Colloid. Interface Sci.* **177** (1996) 143.
- [22] X. Shen, M. Belletête, G. Durocher, *J. Phys. Chem.* **101B** (1997) 8212.

TROISIEME PARTIE

(Résultats Expérimentaux et Discussions)

Chapitre I

Analyse par fluorescence et fluorescence photoinduite des pesticides aromatiques et des herbicides sulfonylurées en solution stationnaire.

I. INTRODUCTION

Ce chapitre consacré à l'analyse fluorimétrique et fluorimétrique induite photochimiquement (FIP) des treize pesticides sélectionnés en solution stationnaire comprend deux parties concernant, respectivement les milieux organiques et les milieux organisés.

Comme dans toute technique d'analyse quantitative, le contrôle des variables expérimentales s'avère particulièrement important pour améliorer la sensibilité de la méthode. Divers paramètres comme le solvant, le temps d'irradiation UV et le pH peuvent influencer l'intensité de fluorescence ou de fluorescence induite photochimiquement (FIP). Après avoir optimisé ces différentes variables expérimentales, une étude comparative des performances analytiques dans les deux milieux (organiques et micellaires) a été effectuée. L'application analytique à la détermination des pesticides étudiés dans les formulations techniques et dans les eaux naturelles a permis de montrer les avantages de chaque milieu.

II. ETUDE EN MILIEUX ORGANIQUES

Ce paragraphe est consacrée à l'étude en milieu organique d'un groupe de treize pesticides, dont quatre sont naturellement fluorescents (bendiocarb, chlorphacinone, coumatétralyl et pirimiphos méthyl) et les neuf autres ne le sont pas, mais présentent une fluorescence induite photochimiquement (chlorpyriphos, deltaméthrine, diflubenzuron, fénitrothion, fenvalérate, chlorsulfuron, metsulfuron méthyl, 3-rimsulfuron et sulfométuron méthyl).

1. Optimisation des conditions analytiques

Les propriétés de fluorescence des analytes sont en général profondément affectées par l'effet du solvant. Les interactions des molécules d'analytes avec les molécules de solvant peuvent entraîner des déplacements des longueurs d'onde d'excitation (λ_{ex}) et d'émission (λ_{em}) et/ou un changement de l'intensité relative du signal de fluorescence observé (I_F). Les liaisons hydrogène, la polarité du solvant et/ou sa viscosité jouent un rôle important dans l'effet du solvant sur la fluorescence. Une approche quantitative à ce problème nécessiterait d'étudier l'effet d'un grand nombre de solvants qui n'a pas été abordée dans notre travail. Nous avons seulement examiné l'effet de quelques solvants organiques protiques et aprotiques et de leurs mélanges avec l'eau sur les spectres de fluorescence et de FIP des treize pesticides étudiés en

vue d'une optimisation des conditions analytiques. Tous les résultats sont consignés dans les Tableaux 1-3.

Tableau 1: Propriétés spectroscopiques de fluorescence des pesticides aromatiques dans divers solvants.

Solvant	Bendiocarb C = 3×10^{-5} M			Chlorophacinone C = 5×10^{-6} M		
	λ_{ex} ^a	λ_{em} ^a	I_F ^b	λ_{ex} ^a	λ_{em} ^a	I_F ^b
DMSO	279	355	16.1	325	492	10.3
DMSO/H ₂ O ^c	285	319	1.0	325	492	1.6
MeCN	277	353	7.8	314	490	11.2
MeCN/H ₂ O ^c	277	353	1.1	314	490	1.0
MeOH	278	355	2.3	319	490	7.6
EtOH	277	356	4.7	319	490	2.9
2-PrOH	277	355	7.8	317	490	5.0

Solvant	Coumatétralyl C = 4×10^{-8} M			Pirimiphos-Me C = 4×10^{-7} M		
	λ_{ex} ^a	λ_{em} ^a	I_F ^b	λ_{ex} ^a	λ_{em} ^a	I_F ^b
DMSO	331	403	4.9	308	368	1.6
DMSO/H ₂ O ^c	318	392	2.6	317	371	1.0
MeCN	324	402	2.0	306	366	1.2
MeCN/H ₂ O ^c	315	391	1.3	308	375	1.1
MeOH	313	389	1.0	306	366	1.3
EtOH	314	385	1.8	305	363	1.4
2-PrOH	318	388	2.9	304	362	1.6

^aLongueurs d'onde d'excitation (λ_{ex}) et d'émission (λ_{em}) du pesticide en nanomètre; ^bIntensité relative de fluorescence, corrigée et normalisée par rapport au signal du solvant le moins intense pour chaque pesticide; ^cProportions 50:50 (v/v).

1.1. Effet de solvant sur les spectres d'excitation et d'émission

Dans l'ensemble, les variations de longueur d'onde d'excitation et/ou d'émission sont faibles, à l'exception de celles obtenues lorsque l'on passe du DMSO ou du DMF pur au mélange DMSO/H₂O ou DMF/H₂O.

➤ Pour la méthode fluorimétrique (Tableau 1), on peut noter les effets suivants:

Cas du bendiocarb: on observe un déplacement hypsochrome d'environ 35 nm de λ_{em} lorsqu'un mélange 50:50 (v/v) DMSO/H₂O est employé à la place du DMSO pur.

Cas du chlorophacinone: on n'observe pratiquement pas d'influence du solvant sur λ_{em} tandis que λ_{ex} subit de petites variations bathochromes dans le DMSO et son mélange avec l'eau, par rapport aux alcools et à l'acétonitrile.

Tableau 2: Propriétés spectroscopiques de FIP des pesticides aromatiques dans divers solvants.

Solvant	Deltaméthrine C = 10 ⁻⁵ M				Diflubenzuron C = 7x10 ⁻⁶ M			
	λ_{ex}^a	λ_{em}^a	I_F^b	$t_{irr}^{opt\ c}$	λ_{ex}^a	λ_{em}^a	I_F^b	$t_{irr}^{opt\ c}$
DMSO	291	319	1.0	ND ^e	343	407	1.0	ND ^e
DMSO/H ₂ O ^d	291	314	9.6	ND ^e	- ^f	- ^f	-	-
MeCN	295	342	2.3	10	343	407	1.2	ND ^e
MeCN/H ₂ O ^d	291	314	18.9	42	- ^f	- ^f	-	-
MeOH	291	317	5.2	23	343	407	6.0	38
MeOH/H ₂ O ^d	291	314	26.4	45	339	411	2.0	ND ^e
EtOH	291	317	9.4	48	343	403	10.6	38
EtOH/H ₂ O ^d	291	314	22.0	36	340	410	4.5	ND ^e
2-PrOH	293	317	8.0	33	343	407	9.8	23

Solvant	Fénitrothion C = 5x10 ⁻⁶ M				Fenvalérate C = 10 ⁻⁵ M			
	λ_{ex}^a	λ_{em}^a	I_F^b	$t_{irr}^{opt\ c}$	λ_{ex}^a	λ_{em}^a	I_F^b	$t_{irr}^{opt\ c}$
DMSO	360	416	178.7	16	296	351	1.0	08
DMSO/H ₂ O ^d	358	422	128.7	14	287	317	1.8	ND ^e
MeCN	356	413	32.2	26	293	333	3.6	10
MeCN/H ₂ O ^d	350	418	79.3	27	284	317	2.2	12
MeOH	353	411	1.0	ND ^e	295	338	2.9	10
MeOH/H ₂ O ^d	- ^f	- ^f	-	-	284	326	3.9	14
EtOH	- ^f	- ^f	-	-	300	333	3.3	17
EtOH/H ₂ O ^d	- ^f	- ^f	-	-	285	331	5.0	14
2-PrOH	- ^f	- ^f	-	-	295	330	4.5	28

Solvant	Chlorpyriphos C = 10 ⁻⁵ M			
	λ_{ex}^a	λ_{em}^a	I_F^b	$t_{irr}^{opt\ c}$
DMSO	371	436	7.0	25
DMSO/H ₂ O ^d	343	415	12.6	10
MeCN	378	428	2.5	20
MeCN/H ₂ O ^d	378	428	2.6	ND ^e
MeOH	NF ^g	NF ^g	-	-
MeOH/H ₂ O ^d	378	428	4.6	ND ^e
EtOH	NF ^g	NF ^g	-	-
EtOH/H ₂ O ^d	378	428	1.9	25
2-PrOH	NF ^g	NF ^g	-	-
2-PrOH/H ₂ O	378	428	1.0	20

^aLongueurs d'onde d'excitation (λ_{ex}) et d'émission (λ_{em}) du pesticide (en nm); ^bIntensité relative de fluorescence, corrigée et normalisée par rapport au signal du solvant le moins intense pour chaque pesticide; ^cTemps d'irradiation optimal (min): défini comme étant le temps au bout duquel le signal de FIP (I_F) est maximal; ^dProportions 50:50 (v/v); ^eLe temps d'irradiation optimal ne peut être défini en raison d'une augmentation continue du signal avec le temps, les valeurs de I_F ont été mesurées après 25 min d'irradiation; ^fSolvants non étudiés; ^gNF signifie, non fluorescent.

Cas de la coumatétralyl: les solvants polaires aprotiques produisent un faible effet bathochrome sur λ_{ex} (environ 10 nm pour le MeCN et 13 nm pour le DMSO) ainsi que sur λ_{em} (environ 10 nm pour ces deux solvants), par rapport aux solvants protiques (alcools, eau).

Cas du pirimiphos méthyl: on n'observe aucune variation significative des longueurs d'onde d'excitation et d'émission avec le solvant à l'exception du mélange DMSO/H₂O.

➤ Pour la méthode FIP, les effets suivants sont observés:

Cas des pesticides aromatiques: les résultats du Tableau 2 montrent qu'il ne se produit aucun changement notable des longueurs d'onde d'excitation et d'émission lorsque l'on passe d'un solvant à un autre. Toutefois, trois pesticides font exception dans deux solvants. Il s'agit de la deltaméthrine pour laquelle on note un déplacement bathochrome d'environ 25 nm de λ_{em} lorsque l'acétonitrile est utilisé au lieu d'un solvant protique, de la fenvalérate pour laquelle un déplacement hypsochrome d'environ 35 nm de λ_{em} est observé en allant du DMSO au mélange DMSO/H₂O et du chlorpyrifos avec des déplacements de λ_{ex} et λ_{em} observés en allant des solvants protiques au DMSO et au mélange DMSO/H₂O.

Cas des herbicides sulfonylurées: il apparaît dans le Tableau 3 qu'aucun déplacement significatif (à l'exception du sulfométuron méthyl) des longueurs d'onde d'excitation (λ_{ex}) et d'émission (λ_{em}) n'est observé en allant d'un solvant protique à un autre, tandis qu'un important déplacement bathochrome (~55 nm) de λ_{ex} et λ_{em} a lieu quand le DMSO ou le DMF est utilisé à la place d'un solvant protique, avec des effets plus marqués dans le cas du DMSO.

1.2. Effet de solvant sur l'intensité de fluorescence et sur le temps d'irradiation UV

L'intensité de fluorescence relative (I_F) et le temps d'irradiation optimal (t_{ir}^{opt}) varient considérablement avec la polarité du solvant en relation avec son caractère protique ou aprotique.

➤ Pour la méthode fluorimétrique, les signaux les plus intenses ont été obtenus dans les solvants aprotiques de forte polarité tels que le DMSO et le MeCN tandis que les solvants protiques de polarité moyenne (2-PrOH, EtOH et MeOH) inhibaient légèrement la fluorescence. Pour les solvants alcooliques, la séquence est la suivante: $I_F(2-PrOH) > I_F(EtOH) > I_F(MeOH)$ à l'exception du chlorophacinone pour lequel on note un comportement différent. Pour obtenir les conditions analytiques satisfaisantes, nous avons utilisé le MeCN pour le bendiocarb et le chlorophacinone et les alcools pour la coumatétralyl et le pirimiphos méthyl (Tableau 4).

Tableau 3: Propriétés spectroscopiques de FIP des herbicides sulfonurées dans différents milieux.

Solvant	Chlorsulfuron $C = 4 \times 10^{-6}$ M					Metsulfuron méthyl $C = 4 \times 10^{-6}$ M				
	[NaOH] ^a ou pH*	λ_{ex} ^b	λ_{em} ^b	I_F ^c	t_{irr}^{opt} ^d	[NaOH] ^a ou pH*	λ_{ex} ^b	λ_{em} ^b	I_F ^c	t_{irr}^{opt} ^d
DMSO	0.01	369	423	2.2	90	0.01	378	441	6.9	80
DMF	0.01	324	358	3.0	60	0.01	NF ^f	NF ^f	-	-
MeCN	0.01	NF ^f	NF ^f	-	-	0.01	NF ^f	NF ^f	-	-
MeOH	0.01	NF ^f	NF ^f	-	-	0.1	322	378	14.7	80
EtOH	0.01	NF ^f	NF ^f	-	-	0.01	321	375	6.4	100
2-PrOH	0.01	317	395	1.9	90	0.01	316	415	1.4	100
DMSO/H ₂ O ^e	0.01	314	388	4.1	600	0.01	315	400	1.0 ^g	60 ^g
DMF/H ₂ O ^e	0.01	NF ^f	NF ^f	-	-	0.01	NF ^f	NF ^f	-	-
MeCN/H ₂ O ^e	0.01	314	390	1.8	250	0.01	319	380	20.8 ^g	60 ^g
MeOH/H ₂ O ^e	0.01	314	392	1.0	600	0.01	318	385	7.8	60
EtOH/H ₂ O ^e	0.01	314	390	1.9	600	0.01	319	380	14.8	60
2-PrOH/H ₂ O ^e	0.01	314	391	2.4	600	0.01	321	377	11.7	60

Solvant	3-Rimsulfuron $C = 10^{-6}$ M					Sulfométuron méthyl $C = 10^{-5}$ M				
	[NaOH] ^a ou pH*	λ_{ex} ^b	λ_{em} ^b	I_F ^c	t_{irr}^{opt} ^d	[NaOH] ^a ou pH*	λ_{ex} ^b	λ_{em} ^b	I_F ^c	t_{irr}^{opt} ^d
DMSO	0.01	343	375	16.9	100	0.01	360	420	5.0	100
DMF	0.01	NF ^f	NF ^f	-	-	0.01	358	420	5.6	300
MeCN	10^{-7}	327	366	2.8	200	2×10^{-4}	337	408	4.1	100
MeOH	10^{-7}	325	368	2.9	100	2×10^{-4}	325	400	2.6	200
EtOH	10^{-7}	322	360	1.3	60	2×10^{-4}	335	408	2.1	50
2-PrOH	10^{-7}	323	360	1.0	60	2×10^{-4}	333	400	1.0	50
DMSO/H ₂ O ^e	7*	NF ^f	NF ^f	-	-	9*	295	338	2.4	300
DMF/H ₂ O ^e	7*	NF ^f	NF ^f	-	-	9*	296	338	2.0	200
MeCN/H ₂ O ^e	7*	322	366	4.8	250	9*	291	339	6.2	250
MeOH/H ₂ O ^e	7*	322	365	3.2	150	9*	292	340	5.5	250
EtOH/H ₂ O ^e	7*	322	362	1.5	50	9*	292	339	5.1	200
2-PrOH/H ₂ O ^e	7*	322	360	1.1	50	9*	293	339	4.2	150

^aConcentration optimale de NaOH ou de pH; ^bLongueurs d'onde d'excitation (λ_{ex}) et d'émission (λ_{em}) du pesticide (nm); ^cIntensité relative de fluorescence corrigée et normalisée par rapport au signal du solvant le moins intense pour chaque pesticide; ^dTemps d'irradiation optimal (s): défini comme étant le temps au bout duquel le signal de FIP (I_F) est maximal; ^eProportions 50:50 (v/v); ^fNF signifie non fluorescent; ^gValeurs approximatives car le fluorophore généré est peu stable.

➤ Pour la méthode FIP, de manière générale, la polarité du solvant exerce un effet variable sur l'intensité de FIP selon la nature du pesticide.

Dans le cas des pesticides aromatiques, le fénitrothion a une très grande affinité pour les solvants aprotiques de forte polarité, la deltaméthrine et la fenvalérate pour l'eau tandis que pour le diflubenzuron, les solvants alcooliques s'imposent. Parallèlement, la valeur du t_{irr}^{opt} est généralement maximale quand le signal de fluorescence I_F est le plus faible, et minimale lorsqu'il est très intense, à l'exception de la deltaméthrine.

Il est à noter que le chlorpyrifos est faiblement fluorescent par rapport aux autres pesticides car, pour les mêmes concentrations, les signaux obtenus dans les différents solvants sont 30 à 50 fois plus faibles que celui des autres pesticides. Par conséquent, aucune étude analytique ne sera faite pour ce pesticide en milieu organique. Nous allons par contre examiner la possibilité d'exalter les faibles signaux de FIP obtenus en milieux organisés.

Dans le cas des herbicides sulfonylurées, l'effet du solvant sur I_F est variable et dépend de la structure moléculaire de l'herbicide. En revanche, les valeurs de t_{irr}^{opt} sont beaucoup plus courtes, ce qui permet leur détermination rapide.

Tableau 4: Conditions analytiques optimales fluorimétriques et FIP.

Pesticide	Solvant	$\lambda_{ex} / \lambda_{em}$ (nm) ^a	t_{irr}^{opt} (min) ^b
Méthode Fluorimétrique			
Bendiocarb	MeCN	277 / 353	-
Chlorophacinone	MeCN	314 / 490	-
Coumatétralyl	EtOH	314 / 385	-
Pirimiphos méthyl	MeOH	306 / 366	-
Méthode FIP			
<i>Cas des pesticides aromatiques</i>			
Deltaméthrine	MeOH	291 / 317	23
Diflubenzuron	2-PrOH	343 / 407	23
Fénitrothion	DMSO	360 / 416	16
Fenvalérate	MeCN	293 / 333	10
<i>Cas des herbicides sulfonylurées</i>			
Chlorsulfuron	DMSO/H ₂ O ^c	314 / 388	10
Metsulfuron-Me	MeOH ^d	322 / 378	1.4
3-Rimsulfuron	DMSO ^e	343 / 375	1.7
Sulfométuron-Me	MeCN/H ₂ O ^e	291 / 339	4.2

^aLongueur d'onde d'excitation (λ_{ex}) et d'émission (λ_{em}) du pesticide; ^bTemps d'irradiation optimal, correspond au maximum d'intensité de FIP (I_F); ^cSolvant additionné de NaOH, 0.01 M; ^dSolvant additionné de NaOH, 0.1 M; ^eSolvant additionné de 20% de solution tampon pH 9.

Les Tableaux 1-3 démontrent donc l'utilité d'un travail d'optimisation des paramètres (t_{irr}^{opt} , I_F , solvant), qui consiste à sélectionner le solvant donnant, pour un pesticide particulier, la valeur de I_F la plus élevée et le temps d'irradiation optimal (t_{irr}^{opt}) le plus court. Dans ces

conditions, nous pouvons conclure que le MeOH est le meilleur solvant pour la deltaméthrine, le 2-PrOH pour le diflubenzuron, le DMSO pour le fénitrothion et le MeCN pour la fenvalérate. De même, pour les herbicides sulfonylurées, les solvants suivants s'imposent: DMSO/H₂O pour le chlorsulfuron, MeOH ou EtOH/H₂O pour le metsulfuron méthyl, DMSO pour le 3-rimsulfuron et MeCN/H₂O pour le sulfométuron méthyl (Tableau 4).

1.3. Effet de la concentration de NaOH sur les herbicides sulfonylurées

En plus de l'influence des solvants organiques sur le signal d'émission de FIP des herbicides sulfonylurées, nous avons examiné l'effet de concentrations croissantes de NaOH sur leur signal FIP dans différents solvants organiques (comprenant une proportion constante d'eau de 1%, v/v). Les courbes de variation du signal de FIP en fonction de la concentration de NaOH établies dans divers solvants indiquent que la concentration optimale de NaOH est de 0.01 M dans le DMSO et le DMF pour tous les herbicides. Dans les autres solvants organiques, le chlorsulfuron et le metsulfuron méthyl présentent un maximum de signal FIP pour une concentration 0.01 M de NaOH, tandis que pour les deux autres herbicides le maximum de signal apparaît à une concentration de NaOH variant entre 10^{-7} et 5×10^{-5} M pour le 3-rimsulfuron et 10^{-3} et 6×10^{-2} M dans le cas du sulfométuron méthyl (Fig. 1). Les valeurs optimales de ces concentrations sont indiquées dans le Tableau 3.

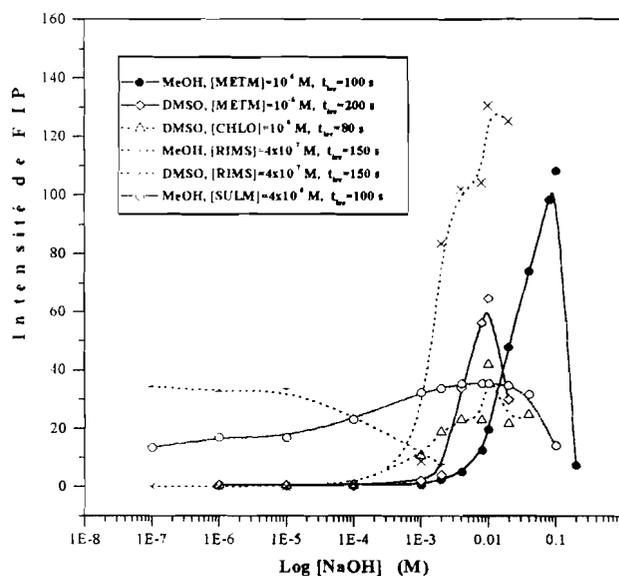


Fig. 1: Effet de la concentration de NaOH sur l'intensité de FIP des herbicides sulfonylurées. (CHLO=chlorsulfuron; METM=metsulfuron méthyl; RIMS=3-rimsulfuron et SULM=sulfométuron méthyl.

1.4. Effet de la photolyse UV

Dans le but d'évaluer la cinétique de formation du fluorophore, nous avons examiné l'évolution du signal de FIP en fonction du temps d'irradiation dans tous les solvants. Ainsi, nous avons mis en évidence deux types de courbes $f(I_F, t_{irr})=0$ correspondant à deux mécanismes de photolyse différents. Pour chaque mécanisme, l'allure des courbes est à peu près la même pour l'ensemble des pesticides. Dans tous les cas, on peut admettre qu'un photoproduit responsable de l'exaltation du signal de fluorescence se forme au fur et à mesure que le temps d'irradiation augmente.

Dans le mécanisme du premier type (mécanisme en deux étapes) dans lequel la courbe passe par un maximum, le photoproduit fluorescent formé doit atteindre une concentration maximum au bout d'un temps d'irradiation égal à t_{irr}^{opt} et se décompose ensuite en un second photoproduit non fluorescent (Fig. 2a et 2b).

Dans le mécanisme du second type (mécanisme en une seule étape), on observe une évolution continue du signal de fluorescence du photoproduit formé. Il n'y a pas de temps d'irradiation optimal car la courbe ne présente pas de maximum (Fig. 2a).

➤ Pour les pesticides aromatiques, les photoproduits obtenus sont stables à la température ambiante pendant quelques heures, mais évoluent de manière plus ou moins importante quand on conserve l'échantillon pendant plusieurs jours. En effet, le signal de fluorescence d'une solution 10^{-6} M de fénitrothion n'évolue pas 6 heures après l'irradiation, mais diminue d'environ 20 % lorsqu'elle est conservée à l'abri de la lumière pendant deux jours après irradiation. Une étude similaire effectuée sur les autres pesticides montre qu'il se produit une augmentation du signal de 8% après 5 heures et 43% au bout de 2 jours pour la deltaméthrine, une augmentation de 35% au bout de 2 jours pour la fenvalérate et enfin une réduction du signal de 2% après 16 heures et de 22% après 10 jours pour le diflubenzuron.

➤ Pour les herbicides sulfonyles, le photoproduit dérivé du metsulfuron méthyl est instable dans les mélanges binaires DMSO/H₂O et MeCN/H₂O, d'où les valeurs relativement courtes et peu reproductibles du t_{irr}^{opt} dans ces solvants.

➤ Pour l'ensemble des pesticides, les différents t_{irr}^{opt} ont été mesurés à diverses concentrations en faisant la moyenne d'au moins cinq valeurs. La reproductibilité est très bonne à l'exception de la deltaméthrine dans le méthanol pour lequel il se produit une variation d'environ 13% du t_{irr}^{opt} avec la concentration. Les valeurs du t_{irr}^{opt} varient entre 50 secondes et 48

minutes selon le pesticide et le solvant, ce qui indique des différences de réactivité photochimiques importantes entre ces pesticides.

Enfin, aucune variation de température des solutions au cours des réactions de photolyse n'a été remarquée.

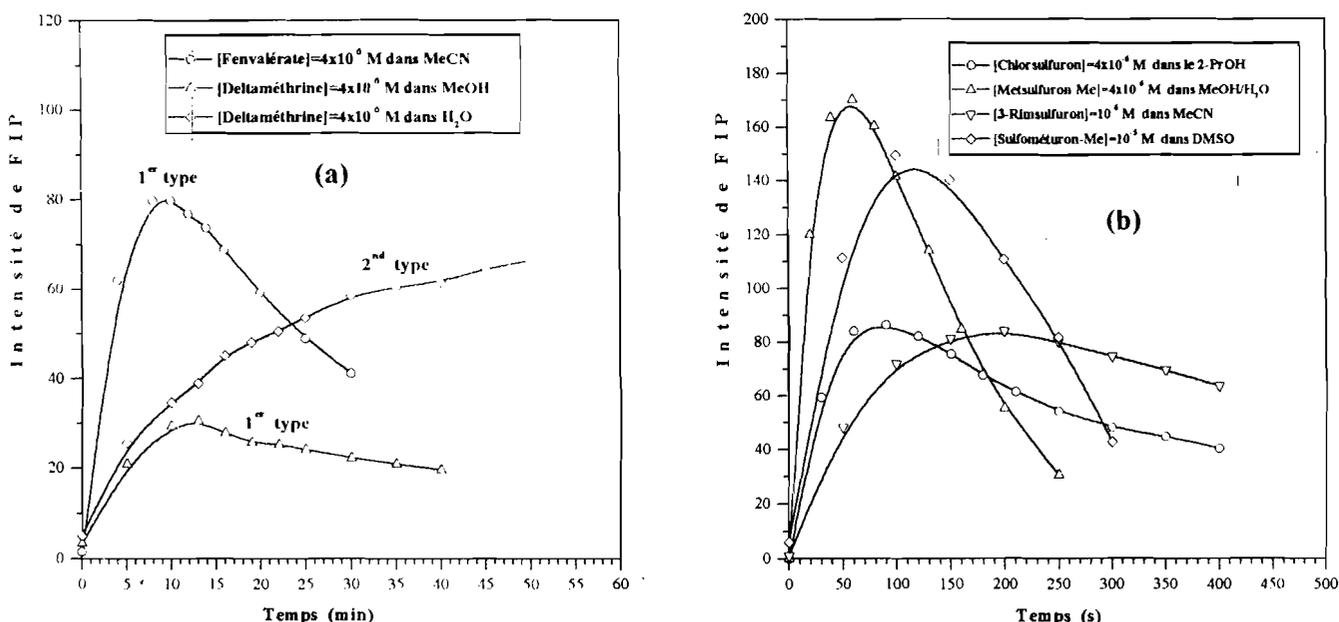


Fig. 2: Effet du temps d'irradiation sur l'intensité de FIP des (a) pesticides aromatiques et (b) herbicides sulfonylurées. Mise en évidence des mécanismes de premier et second type.

1.5. Structure des photoproduits fluorescents

Nous présentons dans la Fig. 3 les structures des photoproduits fluorescents dans le cas de la deltaméthrine, du fénitrothion et de la fenvalérate, qui ont été déterminées par CPG-SM. Dans le cas du diflubenzuron qui est un composé thermolabile, donc difficile à analyser par CPG-SM, nous n'avons pas pu élucider la structure du photoproduit. Le mécanisme détaillé de la réaction de photodégradation de ces molécules sera présenté au chapitre 4.

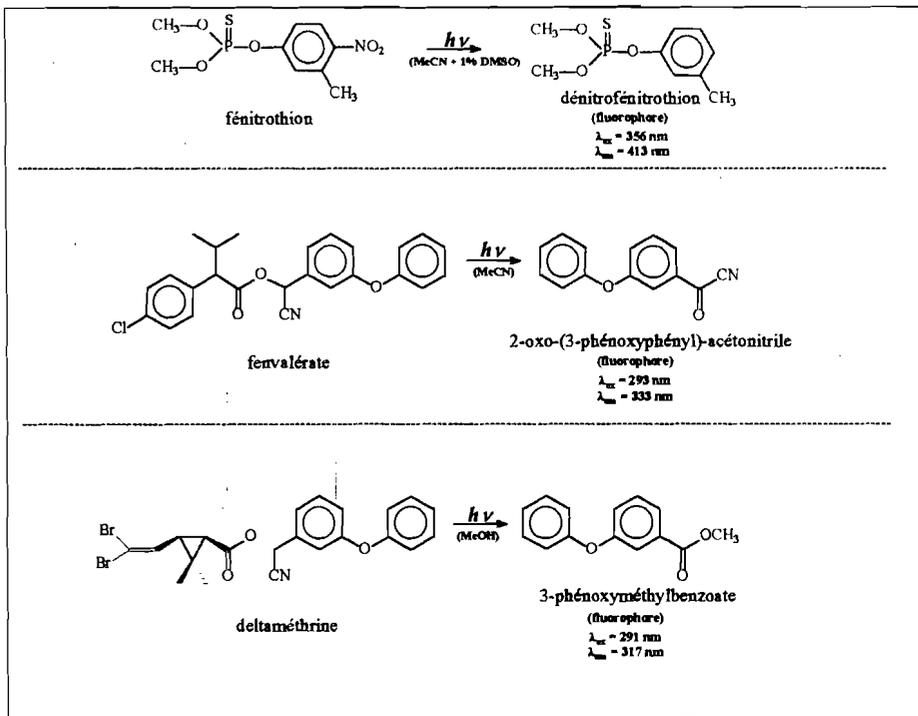


Fig. 3: Structure des fluorophores (photoproduits) obtenus pour trois des pesticides aromatiques étudiés.

2. Performances analytiques

Nous avons établi les droites d'étalonnage fluorimétrique et FIP $\text{Log } f(I_F, C, t_{\text{irr}}^{\text{opt}}) = 0$ au temps d'irradiation optimal pour chaque pesticide sur la base d'au moins dix mesures ($n \geq 10$), desquelles le signal du solvant a été retranché. Chaque point de la droite correspond à la moyenne arithmétique de trois mesures différentes effectuées à la même concentration pour les faibles valeurs de $t_{\text{irr}}^{\text{opt}} (\leq 16 \text{ min})$ et de deux mesures réalisées à la même concentration pour $t_{\text{irr}}^{\text{opt}} > 16 \text{ min}$. La reproductibilité est excellente comme l'indique la déviation standard relative (DSR) comprise entre 1.4 et 6.2% (Tableau 5).

Le signal du solvant a été calculé dans chaque cas à partir de la moyenne de 8 valeurs ($n=8$). La déviation standard obtenue nous a permis d'évaluer les limites de détection (LD) et de quantification (LQ) selon les définitions classiques (respectivement, $S/N=3$ et 10). Le traitement statistique des données analytiques (Tableau 5) montre que les domaines de linéarité sont assez larges, puisqu'ils s'étendent sur plus de deux ordres de grandeurs en concentration.

Les droites d'étalonnage $\text{Log } f(I_F, C, t_{\text{irr}}^{\text{opt}}) = 0$ obtenues sont d'une excellente précision puisque les coefficients de corrélation dépassent largement 0.99. De plus, les pentes des droites

sont proches de l'unité ce qui indique une bonne proportionnalité entre le signal de fluorescence et la concentration de pesticide.

Pour l'ensemble des pesticides étudiés, les LD obtenues sont relativement basses et varient entre et 0.07 et 31 ng ml⁻¹ suivant les composés. Nous les avons comparées à celles de la littérature obtenues par d'autres méthodes analytiques (Tableau 11).

Tableau 5: Paramètres analytiques des droites d'étalonnage fluorimétrique et FIP des pesticides.

Pesticide	Domaine de linéarité (ng ml ⁻¹)	Pente ^a	r ^b	LD ^c (ng ml ⁻¹)	LQ ^c (ng ml ⁻¹)	DSR ^d (%)
Méthode fluorimétrique						
Bendiocarb	20 - 6000	0.92	0.9998	20.9	85.1	6.1
Chlorophacinone	10 - 3000	0.93	0.9996	8.3	30.5	5.9
Coumatétralyl	0.08 - 30	0.82	0.9995	0.07	0.3	6.2
Pirimiphos méthyl	0.3 - 100	0.94	0.9999	0.3	1.3	5.5
Méthode FIP						
<i>Cas des pesticides aromatiques</i>						
Deltaméthrine	35 - 3025	0.97	0.9996	30.7	110.2	4.4
Diflubenzuron	24 - 1250	0.83	0.9977	4.9	21.1	4.0
Fénitrothion	2 - 122	0.82	0.9997	0.7	2.9	2.6
Fenvalérate	42 - 1430	0.95	0.9993	8.7	35.7	4.8
<i>Cas des herbicides sulfonylurées</i>						
Chlorsulfuron	36 - 180	0.84	0.9974	0.5	2.3	1.4
Metsulfuron-Me	15 - 92	0.92	0.9982	0.2	0.9	1.5
3-Rimsulfuron	8 - 173	1.20	0.9952	2.2	6.0	2.9
Sulfométuron-Me	36 - 364	0.88	0.9915	1.2	4.6	2.8

^aPente des droites log-log de calibration; ^bCoefficients de corrélation; ^cLimite de détection (LD) et de quantification (LQ), définie comme étant la concentration de pesticide correspondant au rapport signal/bruit égal à, respectivement 3 et 10; ^dDéviati on standard relative (n=3).

3. Applications analytiques

➤ Dans le but d'évaluer l'applicabilité des détections fluorimétrique et fluorimétrique induite photochimiquement à l'analyse d'échantillons authentiques des pesticides aromatiques, nous avons pris comme modèle de matrices des formulations techniques de ces pesticides, destinées à la protection des récoltes. Pour cela, nous avons utilisé la méthode d'addition standard afin d'évaluer d'abord les effets de matrice avant d'estimer ensuite la concentration en composé actif.

➤ L'application analytique de la détection FIP à l'analyse des herbicides sulfonylurées sera étudiée dans le paragraphe suivant, (étude en milieux micellaires, paragraphe III.2).

3.1. Evaluation des effets de matrices: méthode d'addition standard

Nous présentons dans le Tableau 6 les pourcentages de récupération obtenus pour l'ensemble des pesticides aromatiques par la méthode d'addition standard.

➤ Pour la méthode fluorimétrique, les pourcentages moyens de récupération obtenus sont satisfaisants car ils se trouvent en bon accord avec les normes internationales (80-120%) [1], à l'exception du chlorophacinone pour lequel la déviation au parallélisme est grande (28%). Ces écarts un peu trop importants sont attribuables à des effets de matrices qui se manifestent surtout aux concentrations élevées. Dans le cas du bendiocarb, les pourcentages de récupération n'ont pu être calculés à cause des interférences de matrices trop importantes. Quatre essais d'extraction effectués successivement avec l'acétonitrile, le n-hexane, le dichlorométhane et l'éther n'ont pas abouti à un résultat satisfaisant. En effet, le spectre d'émission du filtrat dans l'acétonitrile présente une bande d'émission très intense, de longueur d'onde plus courte ($\lambda_{em}=322$ nm, $\lambda_{ex}=281$ nm) que la bande d'émission normale du bendiocarb ($\lambda_{em}=355$ nm, $\lambda_{ex}=277$ nm). Cette bande d'émission pourrait être due à un dérivé phénolique provenant de la décomposition du bendiocarb; en effet, ce dérivé obtenu dans la littérature par pyrolyse du bendiocarb [2] fournit des caractéristiques spectrales de fluorescence ($\lambda_{em}=326$ nm, $\lambda_{ex}=283$ nm) voisines de celles que nous avons obtenues.

Tableau 6: Pourcentages de récupération de la détermination fluorimétrique et FIP des pesticides aromatiques dans les formulations techniques par la méthode d'addition standard.

Pesticide	Domaine de Concentration (ng ml ⁻¹)	Récupération ^a (%)	Déviaton au parallélisme (%) ^b
Méthode fluorimétrique			
Chlorophacinone	18 - 3008	94.1 - 138.2	27.9
Coumatétralyl	0.2 - 30	84.7 - 101.7	6.1
Pirimiphos méthyl	9 - 98	88.3 - 99.2	4.9
Méthode FIP			
Deltaméthrine	25 - 3025	79.7 - 96.6	10.5
Diflubenzuron	25 - 1250	95.5 - 106.6	2.6
Fénitrothion	2 - 122	94.8 - 115.1	3.7

^aTaux effectif de la concentration du pesticide après addition standard; ^bDéviaton au parallélisme, c'est la différence (en valeur relative) entre les pentes des deux droites de la méthode d'addition standard.

➤ Pour la méthode FIP, les pourcentages moyens de récupération obtenus pour le fénitrothion et le diflubenzuron sont dans les limites des normes internationales fixées pour les pesticides et en bon accord avec les autres valeurs de la littérature déjà citées (Tableau 11). Par

contre, dans le cas de la deltaméthrine, les pourcentages de récupération sont légèrement plus faibles, probablement à cause des interférences de matrices déjà constatées sur les spectres d'absorption UV-visible, lesquels présentaient des bandes différentes pour l'échantillon réel et le témoin. Aucune détermination n'a pu être faite pour ce pesticide. Les droites d'addition standard et d'étalonnage sont presque parallèles avec une différence de pente variant entre 2.6 et 10.5% selon le pesticide.

3.2. Résolution du mélange binaire sumicombi

Le sumicombi est une formulation technique constituée d'un mélange de fénitrothion (250 g l⁻¹) et de fenvalérate (50 g l⁻¹). La détection simultanée des deux pesticides a donc nécessité une étude préliminaire des effets d'interférence sur l'émission de fluorescence de l'un des pesticides en présence de l'autre et réciproquement.

3.2.1 Position du problème

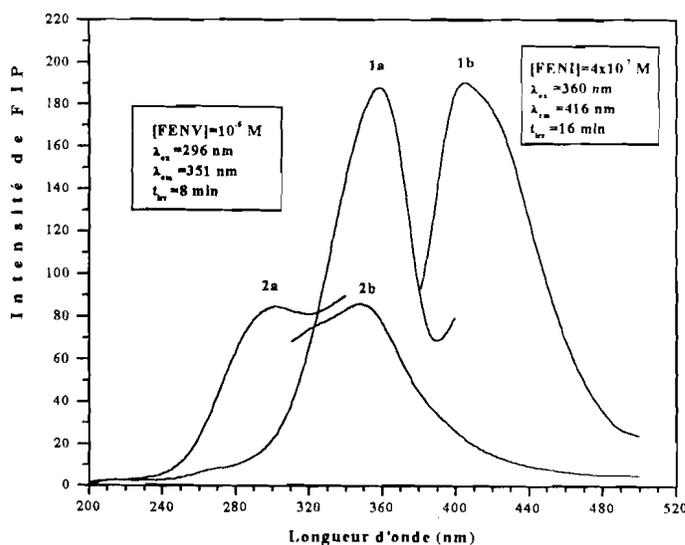


Fig. 4: Spectres (a) d'excitation et (b) d'émission du fénitrothion (1) et de la fenvalérate (2) dans le DMSO.

Les spectres d'excitation et d'émission de FIP des deux pesticides dans le DMSO (Fig. 4) montrent que l'écart entre les longueurs d'onde d'excitation et d'émission des deux composés est suffisamment grand pour éviter un recouvrement de ces bandes.

Au vu des résultats du Tableau 2, nous avons choisi le DMSO de préférence à l'acétonitrile en raison du temps d'irradiation plus court obtenu dans le premier solvant et malgré le plus faible signal de fluorescence de la fenvalérate dans celui-ci.

Avant toute application analytique, nous avons recherché si le signal de fluorescence de l'un des composés ne se trouvait pas perturbé du fait de la présence de l'autre.

3.2.2. Etude des interférences

Dans le but d'évaluer la possibilité de résoudre le mélange sans avoir recours à une procédure de séparation, une étude d'interférence a été développée concernant l'effet de la concentration de l'un des constituants sur la détermination du second et réciproquement, ce qui devrait permettre de déterminer les seuils de tolérance de chacun des constituants. La procédure consiste à ajouter des quantités croissantes de la substance interférente dans une solution contenant une concentration fixe de l'analyte et à mesurer les pourcentages de variation du signal de la substance à analyser. Les résultats obtenus montrent que: (i) jusqu'à une concentration de 416 ng ml^{-1} , l'interférent fénitrothion n'a aucune influence sur la formation, ni sur le signal d'émission du photoproduit de la fenvalérate. En effet les pourcentages de variation du signal de la fenvalérate sont compris entre 98.7 et 103.3% pour des rapports de concentration fénitrothion:fenvalérate allant de 1:200 à 1:0.7; (ii) jusqu'à une concentration de 5880 ng ml^{-1} , l'interférent fenvalérate a une influence négligeable sur la formation et/ou l'émission de fluorescence du photoproduit du fénitrothion, dont les pourcentages de variation s'échelonnent de 84.8 à 123.8% pour des rapports de concentration fénitrothion:fenvalérate compris entre 1:35 et 1:0.4. Ces résultats indiquent qu'il est possible de réaliser des courbes d'étalonnage pour les deux composés présents simultanément dans des rapports fénitrothion:fenvalérate compris entre 1:1 et 1:20 car dans ce domaine, aucune interférence significative ne se produit.

3.2.3. Résolution du problème

Compte tenu des différences de $t_{\text{irr}}^{\text{opt}}$ de la fenvalérate (8 min) et du fénitrothion (16 min), nous avons analysé les deux composés en réalisant l'irradiation en deux étapes. Ainsi, nous avons déterminé les concentrations de fenvalérate et de fénitrothion après 8 min et 16 min d'irradiation, respectivement. Les résultats obtenus sont donnés dans le Tableau 7.

L'ensemble de ces résultats est satisfaisant car les pourcentages de récupération obtenus (88-108%) sont compris dans les limites (80-120%) fixées par les normes analytiques internationales [1]. Cependant, les conditions expérimentales utilisées n'ont pas permis de détecter simultanément ces deux pesticides dans la formulation de sumicombi; seul le fénitrothion peut être effectivement dosé, car la fenvalérate se trouve en concentration trop faible ($2.6 \times 10^{-8} \text{ M} \approx 11 \text{ ng ml}^{-1}$) dans la formulation pour y être détectée.

Tableau 7: Détermination simultanée du fénitrothion et de la fenvalérate par la méthode d'addition standard dans le mélange binaire sumicombi.

Fénitrothion (ng ml^{-1})		Récupération ^a (%)	Rapport de Concentration	Fenvalérate (ng ml^{-1})		Récupération ^a (%)
Ajoutée	Trouvée			Ajoutée	Trouvée	
00.0	31.7 ± 1.9	-		00	109^b	-
13.9	45.3 ± 2.8	99.4	1:8	168	256.5 ± 10.9	92.6
55.5	76.4 ± 0.8	87.7	1:5	420	511.9 ± 18.6	96.8
110.9	138.9 ± 0.5	97.4	1:15	2520	2706.2 ± 13.4	102.9
166.4	183.1 ± 0.4	92.5	1:17	4200	4631.8 ± 76.2	107.5
194.1	215.4 ± 1.2	95.4	1:20	5880	6125.1 ± 11.2	102.3
221.8	242.3 ± 2.7	95.6	1:25	8400	8509.3 ± 23.4	100.0

^aTaux effectif de la concentration du pesticide après addition standard; ^bLe fénitrothion est environ 7.6 fois plus concentré que la fenvalérate dans le sumicombi et son signal de fluorescence est 22 fois plus intense dans le DMSO; il en résulte donc qu'un échantillon ayant une concentration de $2 \times 10^{-7} \text{ M}$ (signal à blanc) en fénitrothion possèdera une concentration de fenvalérate inférieure à sa limite de détection. Nous avons donc reporté comme concentration à blanc la LD de la fenvalérate égale à 109 ng ml^{-1} .

3.3. Evaluation des teneurs des formulations techniques

L'extrapolation des droites d'addition standard permet d'accéder à la concentration des pesticides dans les formulations techniques.

Les résultats du Tableau 8 indiquent que les formulations techniques de la coumatétralyl et du pirimiphos méthyl ont un taux de matière active apparemment bien inférieur au taux indiqué. En effet, il ne resterait plus que 47 et 70% en substance active, respectivement dans ces formulations. Ces faibles pourcentages pourraient s'expliquer par une dégradation ou une photodégradation de ces pesticides due aux mauvaises conditions de stockage et/ou de conservation dans les magasins de la DPV (Direction de la Protection des Végétaux, Dakar). Des pertes peuvent aussi se produire durant l'extraction, mais elles ne devraient pas être élevées. Quant au chlorophacinone, le pourcentage surestimé obtenu (139%) est probablement dû aux effets de matrices déjà évoqués qui provoquent une précision médiocre des mesures.

Tableau 8: Teneurs des formulations techniques des pesticides aromatiques étudiés

Pesticide	Type de formulation ^a (taux de matière active)	Solvant Extraction	Solvant Analyse	Teneurs mesurées ^b
Méthode fluorimétrique				
Chlorophacinone	ULV (2.5 g l ⁻¹)	MeCN	MeCN	3.47 g l ⁻¹ (139 %)
Coumatétralyl	DP (0.0375 %)	EtOH	EtOH	0.0176 % (47 %)
Pirimiphos méthyl	DP (2 %)	MeOH	MeOH	1.39 % (70 %)
Méthode FIP				
Diflubenzuron	ULV (450 g l ⁻¹)	DMSO	2-PrOH	98.2 g l ⁻¹ (22 %)
Fénitrothion	DP (3 %)	DMSO	DMSO	2.74 % (91 %)
Sumicombi ^c	EC (féni: 250 g l ⁻¹ (+ fenv: 50 g l ⁻¹))	n-Hexane	DMSO	135 g l ⁻¹ (54 %) ^c

^aConcentrations de pesticide affichées sur l'emballage des formulations techniques; ^bConcentrations obtenues après dosage par notre méthode. Les proportions de ces concentrations par rapport aux concentrations affichées sont données entre parenthèses; ^cSeul le fénitrothion a été dosé.

La formulation technique (DP) du fénitrothion conserve en très grande partie la concentration affichée (≈91%), tandis que celle du sumicombi (EC) est fortement déficitaire en fénitrothion (54% de la valeur affichée). Cette différence est probablement due au fait que les formulations en poudre sont généralement plus stables que les autres. La formulation technique du diflubenzuron est aussi fortement déficitaire (22%) par rapport à sa concentration affichée, probablement en raison d'une décomposition dans la formulation: ce résultat est confirmé par une étude en spectrométrie UV-visible qui aboutit au même taux.

4. Application à la détermination des pesticides dans les eaux

Nous avons évalué la possibilité d'appliquer notre méthode à la détermination des résidus de pesticides dans les eaux; ainsi, nous avons analysé quatre pesticides (bendiocarb, chlorophacinone, deltaméthrine et fenvalérate) dans des échantillons d'eau contenant des traces de ces composés. La procédure a consisté à dissoudre une quantité connue de pesticide dans un volume donné d'eau du robinet. Un petit volume de solvant organique est éventuellement ajoutée afin d'assurer une solubilité complète (8% de MeOH pour une concentration 10⁻⁵ M de deltaméthrine et 8% de MeCN pour la même concentration de fenvalérate). Le pesticide ainsi solubilisé dans l'eau est ensuite récupéré dans un solvant organique.

Les droites d'étalonnage $\text{Log } f(I_F, C, t_{\text{irr}}^{\text{opt}}) = 0$ ont été établies selon le même protocole que précédemment, les concentrations de pesticide étant estimées par la même procédure d'addition standard. Les résultats du traitement statistique des données analytiques sont rassemblés dans le Tableau 9.

Les LD obtenues sont moins bonnes pour l'ensemble des pesticides (entre 20 et 280 ng ml⁻¹) en raison de l'addition d'eau dans la solution employée, ce qui diminue la fluorescence de ces pesticides. Les droites d'étalonnage obtenues sont bien linéaires comme le montrent les coefficients de corrélation très proches de l'unité. Les déviations standard relatives (DSR) sont comprises entre 3.2 et 7.6%.

Tableau 9: Performances analytiques de la détermination des pesticides dans l'eau.

Pesticide	$\lambda_{ex}/\lambda_{em}$	Solvant ^a	Domaine de			LD ^d (ng ml ⁻¹)	t_{irr}^{opt} ^e (min)	DSR ^f (%)
			Linéarité (µg ml ⁻¹)	Pente ^b	r ^c			
Bendiocarb	278/354	MeCN/H ₂ O	1 - 32	0.82	0.996	280	-	7.4
Chlorophacinone	323/495	MeCN/H ₂ O	0.7 - 5.3	1.02	0.989	50	-	7.6
Deltaméthrine	291/319	MeOH/H ₂ O	0.03 - 2.2	0.92	0.993	20	45 ^g	4.8
Fenvalérate	284/326	MeOH/H ₂ O	0.16 - 3.4	1.07	0.999	30	14	3.2

^aLes pesticides ont été récupérés dans des solvants organiques contenant une certaine proportion d'eau (18 % pour le bendiocarb, 19.4 % pour le chlorophacinone et 9.2 % pour les deux pyréthroides); ^bPente des droites log-log de calibration; ^cCoefficient de corrélation; ^dLimite de détection: définie comme étant la concentration de pesticide correspondant au rapport signal/bruit égal à 3; ^eTemps d'irradiation optimal, correspond au maximum d'intensité du signal de FIP; ^fDéviations standard relatives (n=3); ^gDroite d'étalonnage établie au bout d'un temps d'irradiation de 23 min.

Nous avons aussi déterminé les concentrations de pesticide dans des échantillons d'eau fortifiés. Aucune procédure d'extraction ne s'est avérée nécessaire. Un volume constant de l'échantillon fortifié est introduit dans une fiole de précision de 5 ml et complété au trait de jauge avec le solvant d'analyse. Cette solution contient donc un pourcentage d'eau bien défini (18% pour le bendiocarb, 19.4% pour le chlorophacinone et 9.2% pour les deux pyréthroides). Comme l'eau exerce un effet non négligeable sur l'intensité de fluorescence de ces pesticides, nous avons réalisé les droites d'étalonnage des échantillons purs auxquels nous avons ajouté la même proportion d'eau (Tableau 9). L'effet de matrice se trouve ainsi annulé. Les résultats obtenus sont regroupés dans le Tableau 10.

On constate que les pourcentages expérimentaux obtenus sont en très bon accord avec les taux de fortification. Les droites d'addition standard (Fig. 5a et 5b) présentent des valeurs de pentes presque identiques à celles des droites d'étalonnage, avec un écart variant d'environ 0.1% à 5%.

Tableau 10: Taux de récupération des pesticides dans les échantillons d'eau fortifiés.

Pesticide	Concentration Ajoutée ($\mu\text{g ml}^{-1}$) ^a	Concentration Trouvée ($\mu\text{g ml}^{-1}$) ^b	Récupération (%)	Déviati on au parallélisme ^c
Bendiocarb	4.48	4.11 ± 0.31	91.7	2.97 %
Chlorophacinone	2.26	2.22 ± 0.01	98.4	5.38 %
Deltaméthrine	0.51	0.52 ± 0.01	103.2	3.62 %
Fenvalérate	0.42	0.44 ± 0.01	95.5	0.09 %

^aTaux de fortification; ^bMoyenne de la concentration trouvée par la méthode directe (interpolation) et par la méthode d'addition standard (extrapolation); ^cDifférence (en valeur relative) entre les pentes des deux droites de la méthode d'addition standard.

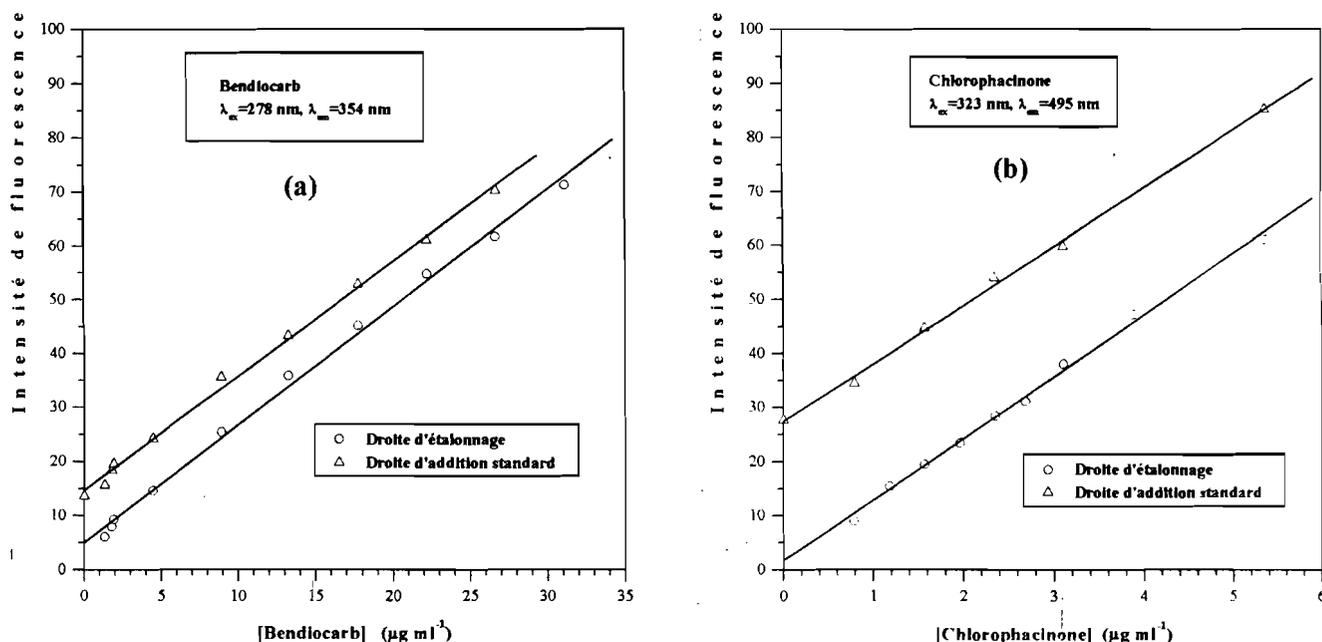


Fig. 5: Droites (O) d'étalonnage et (Δ) d'addition standard de la détermination dans l'eau: (a) bendiocarb (solvant, MeCN/H₂O 82:18, v/v), $\lambda_{ex}=278 \text{ nm}$, $\lambda_{em}=354 \text{ nm}$; (b) chlorophacinone (solvant, MeCN/H₂O 80.6:19.4, v/v), $\lambda_{ex}=323 \text{ nm}$, $\lambda_{em}=495 \text{ nm}$.

5. Comparaison de nos résultats avec ceux obtenus par d'autres méthodes

Dans ce paragraphe, nous avons comparé nos résultats expérimentaux avec ceux de la littérature obtenus par d'autres méthodes analytiques (Tableau 11).

Nos LD s'avèrent voisines de celles obtenues par diverses techniques chromatographiques dans le cas de la fenvalérate [17] et de la deltaméthrine [12], et plus basses dans le cas de la coumatétralyl [7,8], du pirimiphos méthyl [9,10], du fénitrothion [16], de la fenvalérate [18] et du diflubenzuron [14]. Par contre, les LD obtenues par CLHP pour le

bendiocarb [3,4], le chlorophacinone [5,6], le diflubenzuron [13], et le fénitrothion [15] sont meilleures que les nôtres.

Les taux de récupération évalués dans différents milieux (formulation, eau, sols, végétaux, aliments, tissus animaux) sont voisins des nôtres.

Tableau 11: Détection des pesticides par des méthodes analytiques de la littérature.

Méthodes	Pesticide	Matrice	Récupération (%)	LD (ng ml ⁻¹)	Référence
CLHP/D-F	Bendiocarb	Fruits	88-100	0.05	[3]
CLHP/D-E	Bendiocarb	Légumes	-	0.1	[4]
CLHP/D-UV	Chlorophacinone	Formulation	97-107	0.8	[5]
CLHP/D-UV	Chlorophacinone	Tissus animaux	86-91	1	[6]
CCM/D-F	Coumatétralyl	Eau	-	1	[7]
CLHP/D-UV	Coumatétralyl	Eau	80-92	10	[8]
CPG/D-SM	Pirimiphos méthyl	Aliments	83-93	5	[9]
CCMHP/D-IE	Pirimiphos méthyl	Aliments	-	5	[10]
CPG/D-CE	Deltaméthrine	Tissus animaux	67-104	-	[11]
CLHP/D-UV	Deltaméthrine	Riz	83-100	40	[12]
CLHP/D-E	Diflubenzuron	Sols	-	0.006	[13]
CLHP/D-UV	Diflubenzuron	Végétaux	82-97	50	[14]
CLHP/D-UV	Fénitrothion	Eau	98-99	0.07	[15]
CPG/D-FI	Fénitrothion	Tissus animaux	95	20	[16]
CLHP/D-UV	Fenvalérate	Aliments	94-103	5	[17]
CLHP/D-UV	Fenvalérate	Légumes	97-105	25	[18]

CLHP: Chromatographie liquide haute performance; CPG: Chromatographie en phase gazeuse; CCM: Chromatographie sur couche mince; CCMHP: CCM haute performance; D-F: Détecteur fluorimétrique; D-E: Détecteur électrochimique; D-UV: Détecteur ultra violet; D-SM: Détecteur par spectrométrie de masse; D-IE: Détection immuno enzymatique; D-CE: Détecteur à capture d'électron; D-FI: Détecteur à flamme thermoionique.

6. Remarques conclusives

L'étude en milieu organique des pesticides sélectionnés par fluorescence et fluorescence induite photochimiquement (FIP) s'avère satisfaisante, car les deux méthodes sont sensibles (LD entre 0.07-31 ng ml⁻¹), rapides (t_{int}^{opt} entre 1.4 et 23 min) et fiables (DSR entre 1.4 et 7.6%); de plus nous avons pu doser les échantillons de formulations techniques et résoudre un mélange binaire de ces mêmes formulations. L'application à la détermination de ces pesticides dans l'eau s'est avérée être une méthode limitée du fait de leur faible émission dans ce milieu.

Dans le paragraphe suivant, nous nous proposons d'améliorer les performances analytiques de ces méthodes dans des milieux aqueux en employant les cyclodextrines et les micelles, lesquels ont l'avantage d'augmenter la solubilité des solutés et la sensibilité des mesures. Les milieux aqueux présentent aussi l'avantage d'être non toxiques, non polluants et peu coûteux.

III. ETUDE EN MILIEUX ORGANISES

Ce paragraphe est consacré à l'étude de neuf pesticides en solutions aqueuses de cyclodextrines (CDs) et dans les micelles. Nous n'avons présenté que les molécules pour lesquelles l'effet d'exaltation du milieu organisé est assez significatif pour que le signal fluorimétrique résultant soit analytiquement exploitable. L'étude réalisée en milieu CDs concerne 5 pesticides (coumatétralyl, pirimiphos méthyl, chlorpyrifos, deltaméthrine et fenvalérate) et celle développée en milieu micellaire est basée sur 6 pesticides (deltaméthrine, fenvalérate et quatre herbicides sulfonyles: chlorsulfuron, metsulfuron méthyl, 3-rimsulfuron et sulfométuron méthyl). Il ressort de ce travail que seules les molécules peu solubles dans l'eau ont une interaction notable avec de tels milieux, probablement en raison de leur solubilisation accrue dans ces conditions.

1. Etude des pesticides en milieu cyclodextrine

Avant de développer cette nouvelle approche analytique, nous présenterons, en premier lieu, une courte revue bibliographique décrivant la famille des cyclodextrines ainsi que leurs propriétés physico-chimiques intrinsèques et celles des molécules incluses dans leur cavité.

1.1. Etude bibliographique: présentation et applications analytiques des cyclodextrines

1.1.1. Généralités sur les CDs

Les cyclodextrines (CDs) [19-25] sont des oligosaccharides cycliques composés de 6, 7 ou 8 unités de glucopyranose (reliés par liaison osidique α -1,4), qui sont désignés par les lettres α -, β - ou γ -CDs, respectivement. Il s'agit de composés naturels obtenus par l'action de la cycloglucosyltransférase (enzyme CGTase, Fig. 5) du *Bacillus macerans* sur l'amidon et des substances analogues. La structure générale de ces composés est celle d'un cône tronqué (forme torique) dont la grande base est occupée par les groupes C2- et C3-hydroxy secondaires et la petite par le groupe C6-hydroxy primaire. La rigidité structurale de ces composés est due à la stabilité des liaisons hydrogène intramoléculaires formées entre les groupes C2- et C3-hydroxy des unités glucopyranose adjacents. De plus l'arrangement géométrique du groupe C6-hydroxy (à l'opposé des liaisons hydrogène intramoléculaires des groupes C2- et C3-hydroxy) pousse les paires libres du pont oxygène glycosidique à l'intérieur de la cavité, lui conférant ainsi un caractère de base de Lewis. Le nombre d'unités glucopyranoses détermine la taille et les dimensions de la cavité intérieure qui se comporte

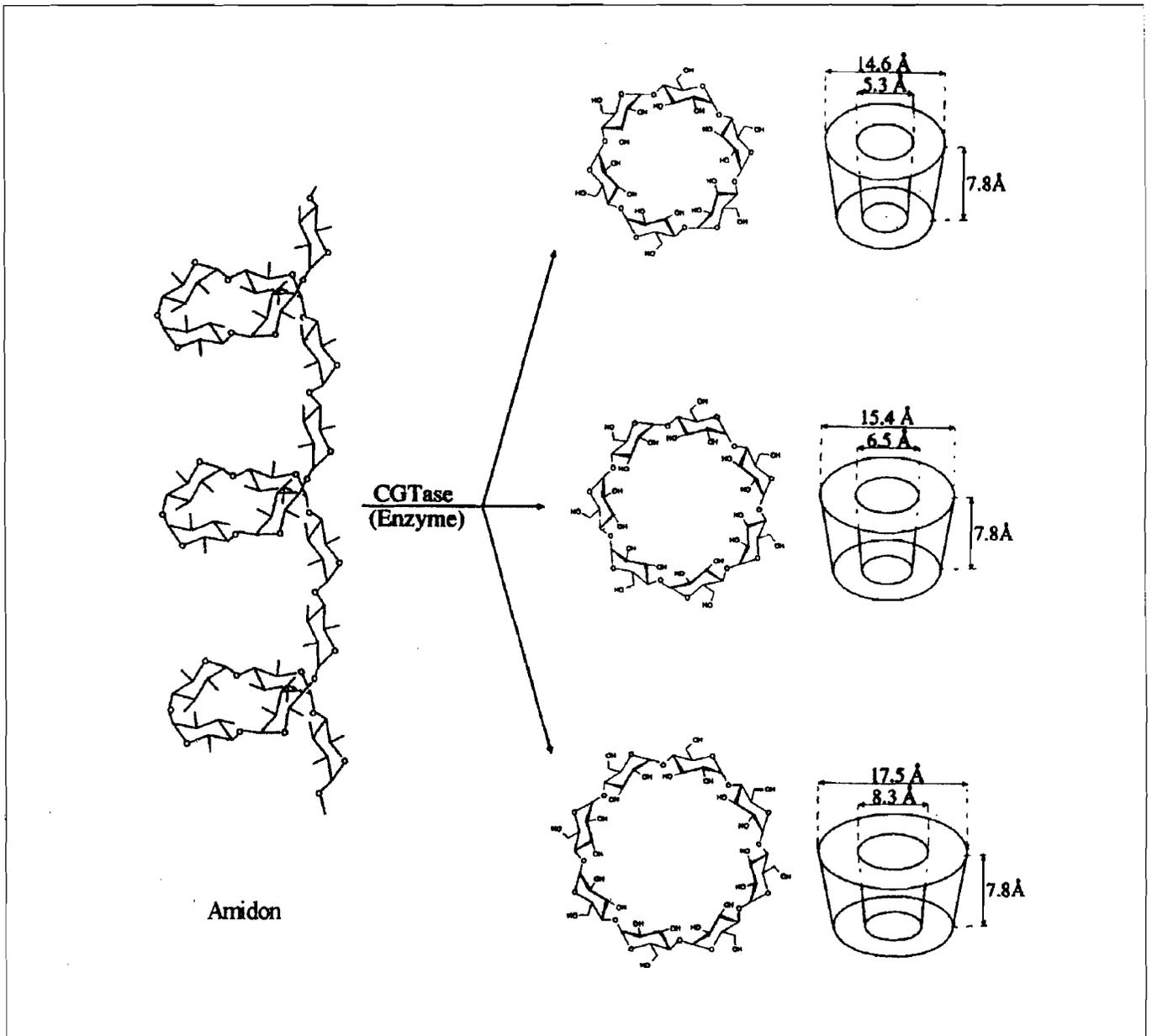
comme un milieu relativement apolaire et hydrophobe alors que la surface extérieure est hydrophile.

En raison de leur structure et de leurs propriétés physico-chimiques uniques qui en découlent, les CDs peuvent former des complexes d'inclusion avec une large gamme de molécules hydrophobes de diamètre compris entre 5 et 8 Å. La formation des complexes (récepteur:substrat) met en jeu des interactions de nature purement physique (sans formation de liaisons chimiques) dues à l'action, combinée ou non, de liaisons hydrogène, de forces de Van der Waals et d'interactions hydrophobes. L'inclusion peut avoir lieu soit en solution aqueuse ou organique soit à l'état solide. Elle peut être totale ou partielle et dépend beaucoup plus de facteurs géométriques et stériques que des propriétés chimiques et de la structure moléculaire du substrat.

En solution aqueuse, des molécules hydrophobes de dimensions adéquates peuvent s'incorporer à l'intérieur de la cavité par suite d'une répulsion avec les molécules d'eau pour donner un complexe d'inclusion hydrophobe. Bien que la stœchiométrie des complexes d'inclusion soit généralement de type 1:1, on a aussi observé des cas dans lesquels deux molécules de CDs peuvent accueillir une molécule organique. En général, les CDs réceptrices modifient de manière notable les propriétés des substrats incluses en une augmentant leur solubilité. Cette propriété intéressante est abondamment exploitée sur le plan industriel et pharmaceutique.

La solubilité des CDs naturelles dans l'eau est très faible, ce qui a limité leur usage comme agents complexants. Dans les années soixante, on a découvert que la substitution des sites C2-, C3-, ou C6-hydroxy augmentait leur solubilité qui dépendait toutefois du degré de substitution chimique et de la nature des substituants employés. Néanmoins, la plupart des CDs chimiquement modifiées peuvent atteindre des concentrations de 50% (m/v) en solution aqueuse.

La taille de la cavité est un facteur déterminant pour employer les CDs comme agent complexant. Celle de la α -CD est trop petite et ne permet d'accueillir que peu de structures moléculaires, tandis que la cavité de la γ -CD est trop grande et ne facilite pas les interactions intermoléculaires. Par contre, le diamètre de la cavité de la β -CD présente une valeur intermédiaire, ce qui aboutit généralement aux complexes d'inclusion les plus stables. Il en résulte de nombreuses applications industrielles, cliniques et pharmaceutiques.



	α-CD (haut)	β-CD (milieu)	γ-CD (bas)
Masse molaire (g mol ⁻¹)	973	1135	1297
Unité de glucose	6	7	8
Rotation spécifique [α] _D ₂₅	150.5	162.5	177.4
Volume de la cavité (ml g ⁻¹)	0.10	0.14	0.20
Molécules d'eau incluses en solution	6	11	17

Fig. 6: Synthèse enzymatique, structures, dimensions moléculaires et autres propriétés des cyclodextrines

1.1.2. Application des CDs à l'analyse fluorimétrique

Depuis leur découverte en 1891 par Villiers [26], les CDs ont fait l'objet de nombreuses recherches fondamentales et applications industrielles. Sur le plan analytique, leurs propriétés intéressantes ont permis d'améliorer, ces vingt dernières années, les méthodologies et de développer parallèlement de nouveaux concepts tant en analyse quantitative [25,27-32] que qualitative [25,33-36]. Parmi les nombreuses méthodes analytiques auxquelles les CDs ont été associés [37] (*e.g.*, spectrophotométrie UV visible, RMN, électrochimie analytique, chromatographie, électrophorèse capillaire, etc.), la spectrométrie de luminescence demeure l'approche la plus intéressante et la mieux adaptée à l'analyse et/ou à la caractérisation des complexes d'inclusion de CDs, en raison de l'exaltation souvent importante du signal induit. En effet, plus le signal induit par le milieu organisé est élevé, plus les mesures analytiques seront sensibles et précises. Néanmoins, peu de travaux ont été consacrés à l'étude par fluorescence des complexes d'inclusion des CDs avec les pesticides [38-41]. Le signal de fluorescence des rodenticides anticoagulants comme la warfarine [38,39], la bromadiolone [39], et la coumatétralyl [40], généralement très intense en milieu organique, mais inhibé en solution aqueuse peut être restauré en présence des CDs. La formation d'un complexe d'inclusion du type 1:1 de la warfarine avec la β -CD a été observée par Marquez et al. [38], qui ont pu déterminer ce rodenticide par fluorimétrie dans les eaux d'irrigation. Les propriétés spectroscopiques d'absorption et de fluorescence des complexes d'inclusion de deux régulateurs de croissances (acide 2-naphthyloxyacétique et acide 1-naphthylacétique) avec la β -CD ont été aussi examinés en vue de caractériser les processus d'inclusion mis en jeu [41]. La technique de fluorescence synchrone à angle variable a été également proposée pour résoudre un mélange ternaire synthétique d'aminocarb, de carbendazime et de coumatétralyl en présence d'une concentration 10^{-2} M de β -CD [40].

De façon générale, une exaltation du signal de fluorescence a été observée pour une grande variété de composés organiques en présence de β -CD [42-53] ou de β -CD chimiquement modifiée [31,54,55]. Par contre, l'effet des CDs sur les propriétés de fluorescence induite photochimiquement a été seulement examiné dans le cas de deux phénothiazines photoréactives [56,57].

1.2. Etude expérimentale des complexes d'inclusion de β -CD avec les pesticides étudiés

Dans ce paragraphe, nous nous proposons d'étudier les propriétés des complexes d'inclusion de la β -CD et de l'hydroxypropyl- β -CD (HP- β -CD) avec cinq pesticides: coumatétralyl, pirimiphos méthyl, chlorpyrifos, deltaméthrine et fenvalérate. Rappelons que les deux premières molécules sont naturellement fluorescentes tandis que les trois dernières ont un signal de fluorescence induit photochimiquement (FIP). Nous avons évalué les performances analytiques de la méthode et nous l'avons appliquée à l'analyse d'échantillons réels d'eaux fortifiées.

1.2.1. Effet des β -CD sur les propriétés spectrales de fluorescence et de FIP

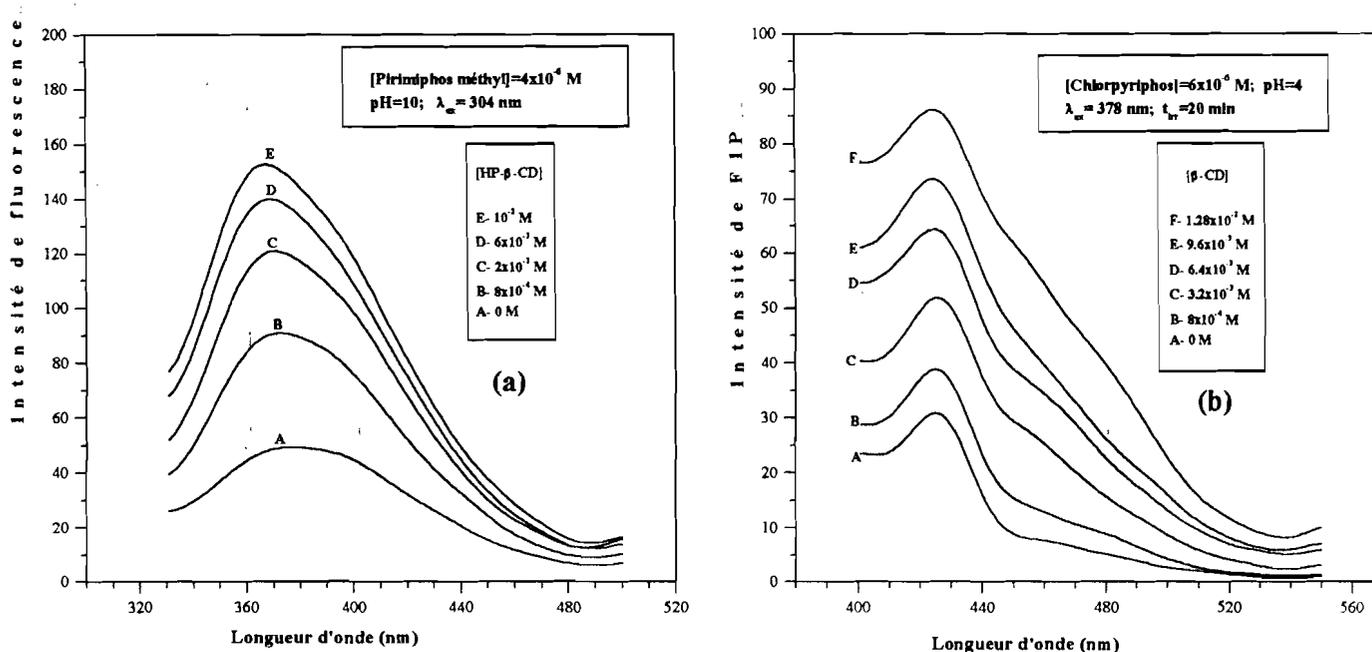


Fig. 7: Spectres d'émission du (a) pirimiphos méthyl et du (b) chlorpyrifos dans l'eau et à différentes concentrations croissantes de CDs.

En raison de l'aptitude des CDs à former des complexes, le signal de fluorescence du substrat est généralement exalté, car le fluorophore incorporé dans la cavité interne est isolé de la phase aqueuse prédominante, ce qui permet de protéger son état excité singulet contre les divers processus de désactivation. Nous avons examiné l'effet des CDs sur les propriétés spectrales de fluorescence et de FIP des pesticides (Tableau 12). Les spectres ont été enregistrés dans l'eau et en présence de concentrations croissantes de CDs (Fig. 7). Sauf dans

les cas du chlorpyrifos et de la deltaméthrine, on note des déplacements variables des maxima des spectres d'excitation et d'émission. En effet, quand on passe de l'eau pure aux deux CDs, on observe un déplacement hypsochrome de λ_{em} d'environ 5 à 10 nm (pour la coumatétralyl) et 19 nm (pour le pirimiphos méthyl) tandis que pour la fenvalérate, on remarque un déplacement bathochrome (d'environ 28 nm) à la fois de λ_{ex} et de λ_{em} . De plus, le pic d'émission du pirimiphos méthyl (Fig. 7a) se déplace progressivement vers le bleu (de 380 à 365 nm) quand la concentration de la HP- β -CD augmente (de 0 à 10^{-2} M).

Pour l'ensemble des pesticides, on observe également une exaltation de l'intensité de fluorescence et de FIP en présence de concentrations croissantes de β -CD et de HP- β -CD, le facteur d'exaltation dépendant du type de CDs employé. A l'exception de la fenvalérate, le signal induit est plus intense dans le cas de la HP- β -CD, probablement en raison des aptitudes à la complexation très différentes déjà signalées pour ces deux CDs [31,55]. Le facteur d'exaltation pour une concentration 10^{-2} M en CDs varie entre 1.5 et 7.3 selon le pesticide. On peut attribuer l'origine de l'exaltation du signal à plusieurs facteurs [55] tels que: l'augmentation de la constante de vitesse radiative, la baisse des degrés de libertés et des mouvements moléculaires, la prévention de la désactivation par collisions, l'augmentation de la polarité ou de la viscosité du microenvironnement et la protection de l'état excité singulet contre les molécules d'eau, d'oxygène moléculaire, ou d'autres espèces inhibitrices présentes dans la phase aqueuse prédominante.

1.2.2. Effet de pH

L'influence du pH sur les spectres d'excitation et d'émission et sur l'intensité de fluorescence et de FIP des complexes β -CD:pesticide a été examiné.

➤ A l'exception de la fenvalérate et du chlorpyrifos, les valeurs des maxima des spectres d'excitation et d'émission sont constantes quand le pH de la solution des complexes formés varie de 1 à 13. Dans le cas de la fenvalérate, jusqu'à une valeur de pH égale à 7, les valeurs initiales (λ_{ex} =293 nm, λ_{em} =333 nm) restent constantes, puis augmentent progressivement avec le pH pour se stabiliser à (λ_{ex} =320 nm, λ_{em} =362 nm) dès que $pH \geq 10$. En ce qui concerne le chlorpyrifos, on observe à partir des valeurs de $pH \geq 9$ l'apparition d'une bande (λ_{ex} =386 nm, λ_{em} =481 nm) avant irradiation, qui disparaît progressivement pendant l'irradiation. Toutefois, l'intensité de cette nouvelle bande n'est pas exploitable d'un point de

vue analytique par rapport à celle obtenu après irradiation ($\lambda_{ex}=378$ nm, $\lambda_{em}=428$ nm) pour des valeurs de pH < 9.

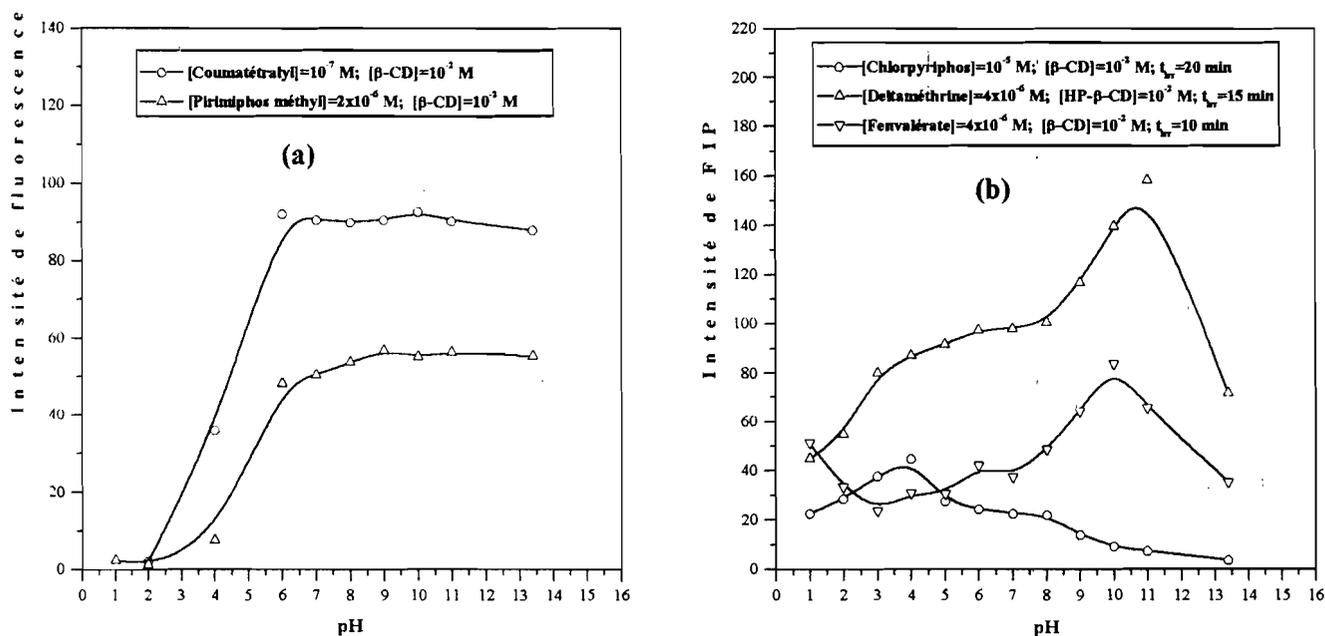


Fig. 8: Effet de pH sur (a) la fluorescence et (b) la FIP des pesticides en milieu aqueux en présence des CDs. Coumatétralyl ($\lambda_{ex}=314$ nm, $\lambda_{em}=380$ nm), pirimiphos méthyl ($\lambda_{ex}=305$ nm, $\lambda_{em}=366$ nm), chlorpyrifos, ($\lambda_{ex}=378$ nm, $\lambda_{em}=428$ nm), deltaméthrine, ($\lambda_{ex}=291$ nm, $\lambda_{em}=314$ nm), fenvalérate ($\lambda_{ex}=320$ nm, $\lambda_{em}=362$ nm).

➤ En ce qui concerne l'effet de pH sur l'intensité de fluorescence et de FIP des pesticides étudiés, nous pouvons distinguer deux cas (Fig. 8):

Pour la méthode fluorimétrique (Fig. 8a), le signal de fluorescence des complexes de β -CD augmente en fonction du pH, puis se stabilise pour des valeurs de pH comprises entre 6-13 pour la coumatétralyl et 9-13 pour le pirimiphos méthyl. La valeur optimale de pH retenue est de 10 pour le pirimiphos méthyl, tandis que pour la coumatétralyl, une solution aqueuse non tamponnée a été employée car l'intensité de fluorescence dans ce milieu est la même que celle obtenue dans les solutions tampons de pH 6-13.

Dans le cas de la méthode FIP (Fig. 8b), la courbe de variation de l'intensité du signal des complexes de β -CD en fonction du pH se caractérise par des maximums bien définis apparaissant à des valeurs de pH de 4, 10 et 11, respectivement, pour le chlorpyrifos, la fenvalérate et la deltaméthrine.

► Pour l'ensemble des pesticides, le pH a été fixé à sa valeur optimale en ajoutant 20% (v/v) de la solution tamponnée correspondante à la solution des complexes de cyclodextrines.

1.2.3. Effet du solvant organique sur la formation des complexes d'inclusion

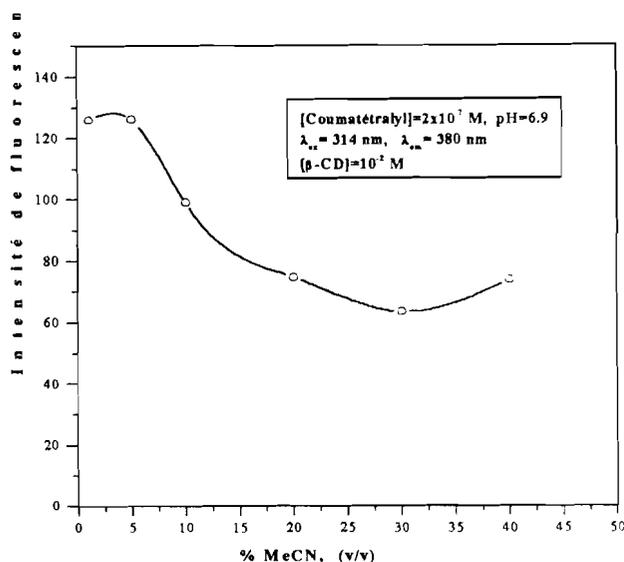


Fig. 9: Effet de la teneur en acétonitrile sur l'intensité de fluorescence du complexe coumatétralyl:β-CD.

Comme la plupart des pesticides sont peu solubles dans l'eau, nous avons dû préparer les solutions-mères dans un solvant organique avant d'effectuer des dilutions avec les solutions de CDs. Il est donc important d'évaluer l'influence de la quantité du solvant organique (restant) sur la formation des complexes d'inclusion. Nous avons procédé à cette étude dans le cas du complexe coumatétralyl: β-CD. Pour une solution de β-CD 10^{-2} M, le signal de fluorescence du complexe ne change pratiquement pas pour des proportions de MeCN dans l'eau comprises entre 0 et 5% (v/v), puis diminue au fur et à mesure que la proportion de MeCN augmente jusqu'à une valeur de 30% (v/v), au delà de laquelle, on observe une légère augmentation du signal (Fig. 9). En conséquence, la teneur maximale de solvant organique tolérée a été fixée à 1% (v/v) pour toutes les mesures faites en présence de β-CD ou de HP-β-CD. La baisse de l'intensité de fluorescence observée dans l'intervalle 5-30% (v/v) est probablement due à un phénomène de compétition entre les molécules de solvant et de pesticide pour les sites de complexation à l'intérieur de la cavité protectrice des CDs. D'autres études ont montré des pertes similaires de sensibilité en présence d'autres solvants organiques [42,46,55,58] ou d'urées [59].

Tableau 12: Effet des milieux organisés sur l'intensité de fluorescence et de FIP des pesticides aromatiques.

Pesticide	Solvant ^a	pH ^b	$\lambda_{ex} / \lambda_{em}$ (nm)	I_F ^c	t_{irr}^{opt} (min) ^d
Coumatétralyl (10^{-7} M)	H ₂ O	6.9 ^e	312/390	1.7	-
	β -CD	6.9 ^e	314/380	11.3	-
	HP- β -CD	6.9 ^e	316/385	12.4	-
	SDS	6.9 ^e	308/398	1.0	-
Pirimiphos méthyl (2×10^{-6} M)	H ₂ O	10	304/385	1.0	-
	β -CD	10	305/366	1.9	-
	HP- β -CD	10	305/366	2.9	-
	SDS	10	301/366	3.1	-
Chlorpyrifos (6×10^{-6} M)	H ₂ O	6.9 ^e	378/428	1.0	25 ^f
	H ₂ O	4	378/428	1.2	25 ^f
	β -CD	4	378/428	3.7	20
	HP- β -CD	4	378/428	3.2	20
	SDS	6.9 ^e	378/428	2.0	30
	SDS	4	378/428	2.0	30
Deltaméthrine (4×10^{-6} M)	H ₂ O	6.9 ^e	291/313	1.8	25 ^f
	H ₂ O	11	NF ^g	NF ^g	NF ^g
	β -CD	11	291/313	2.7	22
	HP- β -CD	11	291/312	4.1	22
	SDS	6.9 ^e	291/318	3.7	22
	SDS	11	291/317	2.3	16
Fenvalérate (4×10^{-6} M)	H ₂ O	6.9 ^e	293/333	1.4	08
	H ₂ O	10	293/333	1.0	08
	β -CD	10	320/362	3.5	08
	HP- β -CD	10	320/362	2.6	25 ^f
	SDS	6.9 ^e	293/340	10.2	08
	SDS	10	293/340	4.2	08

^aConcentration des CDs: 10^{-2} M; Concentration du SDS: 5×10^{-2} M; ^bpH de la solution tampon utilisée pour les mesures analytiques; ^cIntensité relative de fluorescence ou de FIP corrigée et normalisée par rapport au signal du solvant le moins intense pour chaque pesticide; ^dTemps d'irradiation optimal, correspond au maximum d'intensité de signal de FIP (I_F); ^eMesures effectuées dans l'eau distillée de pH = 6.9; ^fLa courbe de variation de $I_F = f(t_{irr})$ n'ayant pas de maximum, I_F est mesuré pour $t_{irr} = 25$ min; ^gNF: non fluorescent.

1.2.4. Effet de la concentration des CDs

L'augmentation progressive de la concentration des CDs s'accompagne d'une exaltation proportionnelle du signal de fluorescence ou de FIP; ce qui est comparable avec le comportement généralement observé pour d'autres molécules organiques [30,38,41,55-57]. Toutefois, dans le cas des pesticides étudiés, nous observons deux types différents d'évolution du signal en fonction de la concentration des CDs. Le premier type de courbe obtenu pour le chlorpyrifos et la fenvalérate est caractérisé par une évolution continue du signal (Fig. 10a), tandis que dans le second type, le signal croît et se stabilise rapidement pour une concentration en CDs de l'ordre de 10^{-2} M, atteignant ainsi un plateau (Fig. 10b). Ce second type de courbe a été obtenu pour la coumatétralyl, le pirimiphos méthyl et la deltaméthrine en présence des deux CDs. Nous avons choisi la valeur 10^{-2} M comme concentration optimale des CDs.

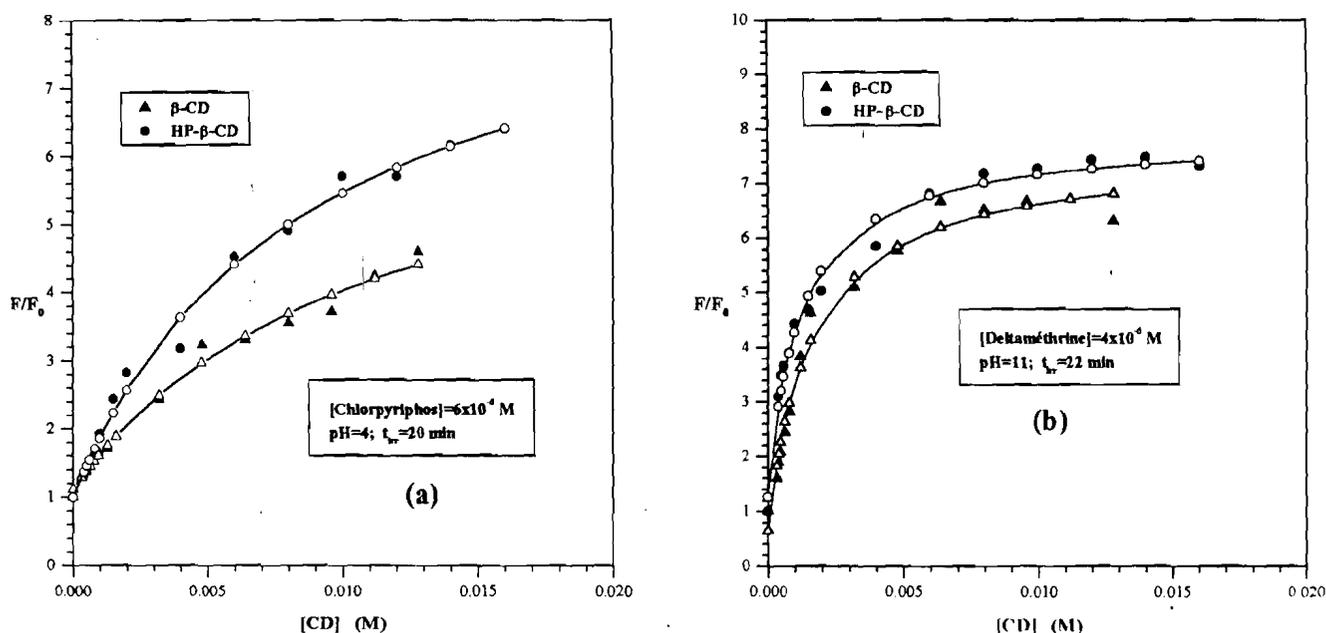


Fig. 10: Influence de la concentration des CDs sur l'intensité de FIP du (a) chlorpyrifos ($\lambda_{ex}=378$ nm, $\lambda_{em}=428$ nm) et de (b) la deltaméthrine ($\lambda_{ex}=291$ nm, $\lambda_{em}=312$ nm): (●, ▲, points expérimentaux), (○, Δ, courbes calculées par la méthode de régression non linéaire).

1.2.5. Etude de la photolyse UV en présence des CDs

1.2.5.1. Méthode fluorimétrique: Dans le but de déterminer la cinétique de photodégradation des pesticides naturellement fluorescents dans l'environnement, nous avons examiné l'influence de l'irradiation UV sur leur signal de fluorescence dans trois milieux différents: H₂O, β-CD et

HP- β -CD. Dans tous les cas, on observe une décroissance importante du signal en fonction du temps d'irradiation traduisant une photodégradation relativement rapide des deux pesticides (Fig. 11). Le fait majeur est que les CDs accentuent cette photodégradation avec un effet plus marquant dans le cas de la coumatétralyl; la décroissance étant légèrement plus rapide en présence de HP- β -CD que de β -CD. En effet, au bout de 30 min d'irradiation, le signal de la coumatétralyl est réduit à 0.4-0.5% du signal initial en présence des CDs, ce qui montre que plus de 99.5% du pesticide a été dégradé photolytiquement. Par contre, dans le cas du pirimiphos méthyl, au même temps d'irradiation, le signal de fluorescence se stabilise à 15.7 et 13.7% de la valeur initiale, respectivement, pour la β -CD et la HP- β -CD. Ce signal résiduel continue néanmoins de décroître lentement quand on continue à irradier le milieu réactionnel. La cinétique de la réaction de photolyse est du premier ordre pour la coumatétralyl ($k=0.65 \times 10^{-3}$, 3.38×10^{-3} , $4.60 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$, respectivement, pour H_2O , β -CD et HP- β -CD), mais pour le pirimiphos méthyl, l'ordre 1 n'est probablement vérifié que pour de faibles temps d'irradiation ($\leq 1 \text{ min}$). Les durées de demi-vie varient considérablement avec le milieu, puisqu'elles sont estimées à 17, 3 et 1 min, respectivement, dans l'eau, la β -CD et la HP- β -CD dans le cas de la coumatétralyl; les valeurs correspondantes sont de 8, 8 et 0.5 min pour le pirimiphos méthyl.

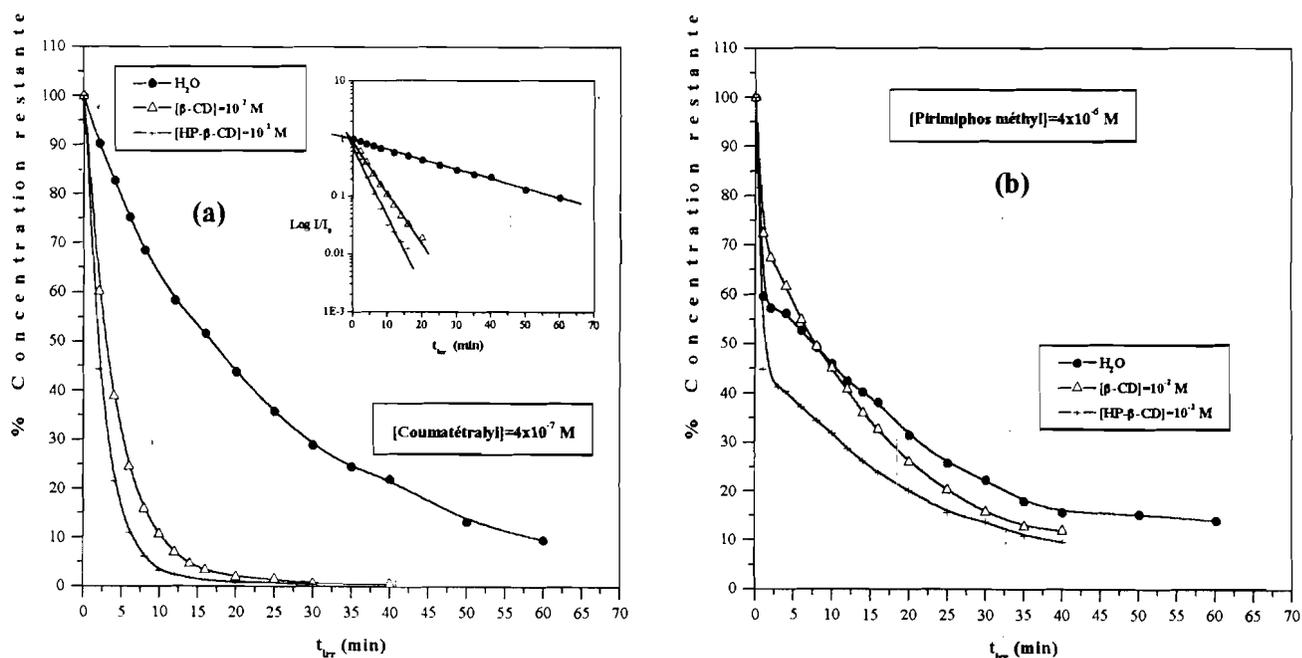


Fig. 11: Effet de la photolyse UT sur l'intensité de fluorescence de (a) la coumatétralyl et (b) du pirimiphos méthyl dans l'eau et les CDs.

Bien que ces expériences ne permettent pas de simuler les conditions réelles de l'environnement, elles fournissent un résultat important sur le plan analytique, à savoir que ces pesticides ne devraient pas être exposés à la lumière UV-visible durant les mesures fluorimétriques, leur irradiation entraînant une perte de sensibilité. De plus, la méthode fluorimétrique s'avère applicable à l'évaluation de la vitesse de photodégradation des pesticides dans l'environnement.

1.2.5.2. Méthode FIP. Afin d'évaluer la cinétique de formation du fluorophore, nous avons examiné l'évolution du signal de FIP en fonction du temps d'irradiation UV à la fois pour les pesticides libres et complexés dans la cavité des CDs. Cette étude avait déjà été faite dans les milieux organiques pour les deux pyréthroides (deltaméthrine et fenvalérate); aucun changement particulier du comportement photochimique n'a été observé en présence des CDs (Fig. 12a). En revanche, pour le chlorpyrifos, bien que l'évolution cinétique de la photoréaction soit la même que celui des deux pyréthroides en milieu organique, on remarque une variation significative en présence des CDs. Il apparaît en effet, un troisième type de mécanisme pour la photolyse du chlorpyrifos en milieu β -CD (Fig. 12b). L'allure de la courbe qui présente une augmentation puis une décroissance de I_F suivie d'un palier, indique qu'un équilibre dynamique s'est probablement instauré entre le photoproduit du chlorpyrifos (identifié par CPG-SM comme le chlorpyrifos déchloré) et son produit de dégradation.

D'autre part, la structure générale des trois pesticides est telle qu'il est possible de former des complexes d'inclusion β -CD:pesticide avant irradiation ce qui implique que le processus de photodégradation ait lieu à l'intérieur de la cavité des CDs. Les valeurs élevées des facteurs d'exaltation (compris entre 1.5 et 7.3) obtenus sont en accord avec cette dernière hypothèse. Un autre argument favorable est que la plupart des photoproduits formés dans le cas de la fenvalérate (6 photoproduits), la deltaméthrine (7 photoproduits) et le chlorpyrifos (1 photoproduit) ont potentiellement des aptitudes différentes à la complexation, ce qui pourrait entraîner un phénomène de compétition pour les sites de complexation avec les CDs, et une baisse considérable du signal de FIP. Le comportement photoréactif des trois pesticides étudiés dépend de la nature des CDs. En effet, la deltaméthrine met en jeu le premier type de mécanisme dans les deux CDs tandis que la fenvalérate obéit au premier mécanisme dans la β -CD et au deuxième mécanisme dans la HP- β -CD (Fig. 12a). Enfin pour le chlorpyrifos, on

observe le troisième type de mécanisme dans la β -CD (Fig. 12b) et le premier mécanisme dans la HP- β -CD.

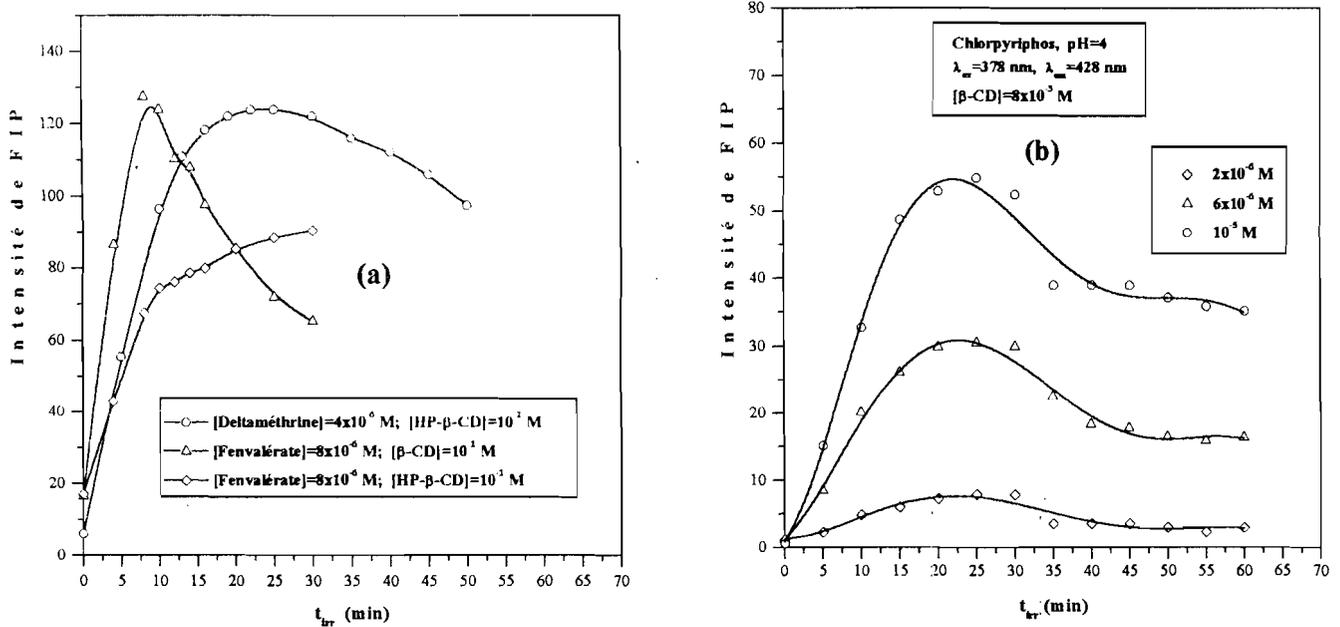


Fig. 12: (a) et (b), Evolution de l'intensité de FIP des pesticides étudiés, en fonction du temps d'irradiation et en présence des CDs. (b) Mise en évidence du mécanisme de troisième type.

1.2.6. Détermination de la stœchiométrie et des constantes d'association

Nous avons déterminé la stœchiométrie des complexes d'inclusion formés avec les deux CDs et la valeur des constantes d'association à l'aide des procédures décrite dans la partie expérimentale (deuxième partie). Dans la Fig. 13, nous présentons un graphe typique de la "double représentation inverse" pour le complexe coumatétralyl:HP- β -CD. Pour tous les pesticides, nous avons obtenu une relation linéaire pour la fonction $1/(F-F_0) = f(1/[CD]_0)$ avec un coefficient de corrélation compris entre 0.987 et 0.998. Ceci confirme bien la validité du modèle de stœchiométrie du type 1:1. Par contre, on obtient une courbe concave lorsque les mêmes données sont portées en fonction de $1/[CD]_0^2$, selon le modèle de stœchiométrie 2:1, ce qui indique clairement que la stœchiométrie du complexe n'est pas 2:1. Les valeurs de K_1 et F_{∞} estimées à partir des graphes de Benesi-Hildebrand sont utilisées pour la procédure de régression non linéaire (RNL). Les courbes de la Fig. 10 sont calculées à partir de l'équation Eq.(3) (voir partie expérimentale, III.3.1.) selon la procédure RNL. La convergence entre les valeurs calculées et celles observées de F est excellente (χ^2 compris entre 0.0025 et 0.0801).

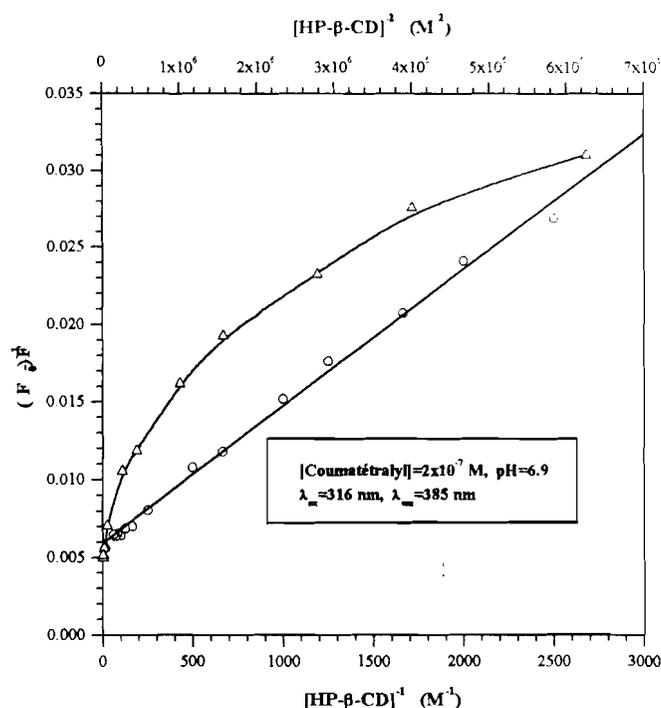


Fig. 13: Double représentation inverse pour le complexe HP- β -CD: Coumatétralyl. Une relation linéaire (O) est obtenue lorsque les données sont représentées dans l'hypothèse du schéma réactionnel du type 1:1, et une courbe concave (Δ) dans le cas d'une stœchiométrie du type 2:1.

Tableau 13: Constantes d'association des pesticides avec les CDs.

Pesticide	Cyclodextrines	K_1 (M^{-1})
Méthode Fluorimétrique		
Coumatétralyl	β -CD	565 ± 42
	HP- β -CD	615 ± 39
Pirimiphos méthyl	β -CD	171 ± 34
	HP- β -CD	736 ± 59
Méthode FIP		
Chlorpyrifos	β -CD	90 ± 28
	HP- β -CD	116 ± 19
Deltaméthrine	β -CD	627 ± 104
	HP- β -CD	828 ± 124
Fenvalérate	β -CD	316 ± 61
	HP- β -CD	150 ± 46

Le Tableau 13 donne les constantes d'association des pesticides, obtenues à partir des résultats des méthodes fluorimétrique et FIP. A l'exception de la fenvalérate, les constantes d'association ont des valeurs plus élevées pour la complexation avec la HP- β -CD qu'avec la β -CD. Les

constantes d'association du chlorpyrifos sont nettement plus faibles que celles des autres pesticides, probablement à cause d'un encombrement stérique dû à la présence de trois atomes de chlore au sein de la molécule qui pourraient inhiber l'inclusion dans la cavité des CDs. La valeur de K_1 trouvée pour le complexe β -CD:coumatétralyl est en bon accord avec celle estimée par fluorescence synchrone ($K_1=669 \text{ M}^{-1}$ [40]). Pour les autres pesticides, aucune donnée n'est disponible dans la littérature.

1.2.7. Performances analytiques

Afin d'évaluer l'intérêt analytique de l'approche des CDs, nous avons établi les droites de calibration dans les conditions optimales (Tableau 14). Les droites obtenues sont linéaires comme le montrent les coefficients de corrélation largement supérieurs à 0.99 tandis que les LD sont relativement basses et varient entre 0.2 et 54 ng ml^{-1} . A l'exception de la deltaméthrine, ces LD sont moins bonnes que celles déterminées en milieu organique, mais l'avantage évident des CDs est leur aptitude au dosage direct des pesticides en milieux aqueux sans qu'il soit nécessaire de recourir à des procédures d'extraction et de purification.

Tableau 14: Performances analytiques de la détermination fluorimétrique et FIP des pesticides aromatiques.

Pesticide	Solvant ^a	$\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}}$ (nm)	Domaine de linéarité (ng ml^{-1})	Pente ^b	r ^c	LD ^d (ng ml^{-1})	LQ ^d (ng ml^{-1})	$t_{\text{irr}}^{\text{opt}}$ ^e (min)	DSR ^f (%)
Méthode Fluorimétrique									
Coumatétralyl	β -CD	314/380	2-60	0.95	0.999	0.2	0.8	-	1.2
	HP- β -CD	316/385	1-60	0.96	0.999	0.2	0.6	-	1.0
Pirimiphos-Me	β -CD	305/366	24-1830	0.84	0.998	4.8	20	-	2.8
	HP- β -CD	304/366	18-1833	0.97	0.999	5.2	18	-	1.3
Méthode FIP									
Chlorpyrifos	β -CD	378/428	106-4224	0.93	0.998	44	160	20	4.3
	HP- β -CD	378/428	106-4224	1.03	0.998	54	174	20	3.2
Deltaméthrine	β -CD	291/312	50-2032	0.82	0.997	6.9	29	22	2.4
	HP- β -CD	291/312	40-2540	1.06	0.997	6.8	21	22	4.4
Fenvalérate	β -CD	320/362	84-2940	0.92	0.993	22	80	08	2.6
	HP- β -CD	320/362	105-4200	0.92	0.997	32	116	16	1.8

^aConcentration des CDs: 10^{-2} M ; ^bPente des droites log-log de calibration; ^cCoefficient de corrélation; ^dLimite de détection (LD) et de quantification (LQ), définie comme étant la concentration de pesticide donnant un rapport signal/bruit égal, respectivement, à 3 et 10; ^eTemps d'irradiation optimum, correspond au maximum d'intensité de FIP (I_F); ^fDéviations standard relatives ($n=3$).

1.2.8. Applications analytiques

Dans le but de déterminer si notre méthode est applicable à l'analyse d'échantillons réels, des eaux de ville et de fleuve (Seine) ont été analysées. La procédure consiste à ajouter une quantité donnée de pesticide dans ces eaux et à évaluer les taux de récupération par la méthode d'interpolation (Tableau 15).

Les résultats obtenus pour l'eau de ville sont satisfaisants car les taux de récupération sont compris entre 88 et 111% pour la méthode fluorimétrique et entre 94 et 108% pour la méthode FIP.

Dans le cas de l'eau de Seine, les tests préliminaires ont révélé la présence d'une substance organique fluorescente, présentant un maximum d'émission de fluorescence à 433 nm ($\lambda_{ex}=361$ nm), à une longueur d'onde voisine de celle du chlorpyrifos ($\lambda_{em}=428$ nm, $\lambda_{ex}=378$ nm). Par conséquent, une procédure d'extraction décrite dans la partie expérimentale a été développée pour le chlorpyrifos.

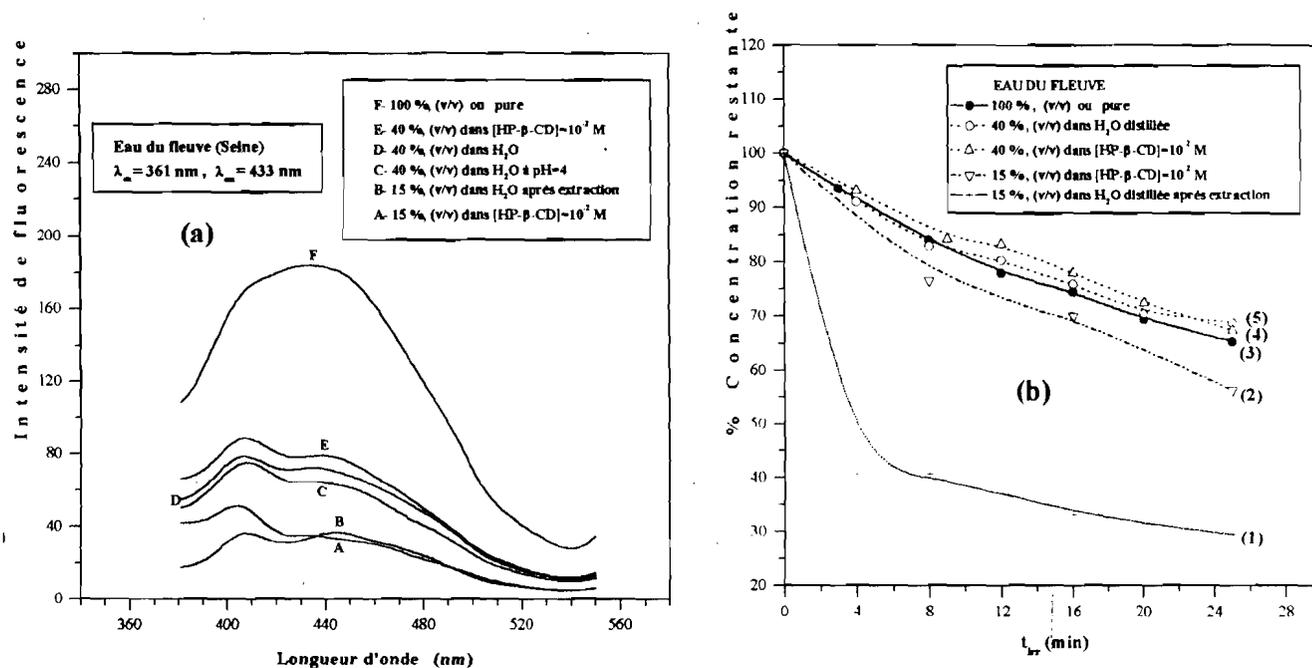


Fig. 14: Analyse de l'eau du fleuve: (a) Spectre d'émission de l'impureté organique fluorescente présente dans cette eau, (b) Evolution de sa concentration à différents temps d'irradiation.

D'autre part, cette substance s'avère résistante aux radiations UV, et son signal varie très peu en présence d'une solution 10^{-2} M de HP- β -CD et/ou d'une solution tampon pH 4; ce qui signifie que son aptitude à la complexation est faible (Fig. 14a). Bien que le dichlorométhane n'ait pas permis d'éliminer complètement cette substance organique, son comportement photochimique après extraction est plus qu'intéressant. En effet, avant extraction, le pourcentage de sa concentration restante était de 83 et 67% (Fig. 14b, courbe 5) après respectivement 8 et 25 min d'irradiation tandis qu'après extraction, les valeurs correspondantes sont 40 et 29% (Fig. 14b, courbe 1). En conséquence, nous avons décidé d'analyser le chlorpyrifos dans cette dernière condition (courbe 1). Les données analytiques sont rassemblées dans le Tableau 15. On remarque que les taux de récupération sont satisfaisants pour l'ensemble des pesticides étudiés et sont compris entre 104-116% pour la méthode fluorimétrique et 93-109% pour la méthode FIP. Il est probable qu'une portion significative des quelques autres impuretés dissoutes dans l'eau de Seine, et qui affectaient les réactions de photolyse en atténuant les radiations UV ont pu être éliminés après extraction, ce qui a réduit les effets de matrices. D'autre part, dans le but d'améliorer les pourcentages de récupération en minimisant l'influence soit de la substance organique fluorescente, soit d'autres impuretés, nous avons limité à 15% (v/v) la proportion d'eau naturelle dans le volume final (5ml) de la solution à analyser.

Des deux méthodes, la méthode FIP donne les meilleurs résultats en ce qui concerne les taux de récupération. Ceci fait de la méthode FIP un outil puissant pour l'analyse d'échantillons réels complexes prélevés dans l'environnement.

Tableau 15: Détermination des pesticides aromatiques dans les eaux de ville et de fleuve.

Pesticide	Concentration (ng ml ⁻¹)		Récupération ^b (%)
	Ajoutée	Trouvée ^a	
Analyse de l'eau de ville			
Coumatétralyl (HP-β-CD)	5.9	6.0 ± 0.6	103.1
	11.7	13.0 ± 1.5	111.3
	17.5	19.0 ± 0.9	108.4
Pirimiphos méthyl (β-CD)	152.7	142.4 ± 5.2	93.2
	305.5	306.3 ± 13.2	100.3
	458.2	402.3 ± 11.9	87.8
Chlorpyriphos (β-CD)	176	169 ± 4	95.9
	352	329 ± 7	93.5
	528	497 ± 12	94.1
Deltaméthrine (HP-β-CD)	101.6	99.9 ± 3.3	98.4
	203.2	219.9 ± 6.6	108.3
	304.8	328.9 ± 12.1	107.9
Fenvalérate (β-CD)	210	210 ± 13	100
	420	422 ± 28	100.5
	630	605 ± 33	96.1
Analyse de l'eau de fleuve			
Coumatétralyl (β-CD)	5.9	6.8 ± 0.1	115.6
	11.7	13.2 ± 0.4	112.6
	17.5	20.1 ± 0.2	114.6
Pirimiphos méthyl (HP-β-CD)	152.7	159.4 ± 3.6	104.3
	305.5	320.0 ± 5.1	104.8
	458.2	476.7 ± 4.6	104.0
Chlorpyriphos (HP-β-CD)	176	175 ± 5	99.1
	352	358 ± 12	101.7
	528	576 ± 24	109.1
Deltaméthrine (β-CD)	101.6	96.9 ± 3.2	95.4
	203.2	194.7 ± 4.2	95.8
	304.8	283.4 ± 3.5	92.9
Fenvalérate (HP-β-CD)	210	208 ± 7	98.8
	420	412 ± 17	98.0
	630	603 ± 14	95.7

^aMoyenne ± déviation standard (n=3); ^bValeurs déterminées par la méthode directe.

1.3. Remarques conclusives

Nous venons de démontrer l'utilité de l'effet des cyclodextrines pour l'amélioration de la sélectivité et de la simplicité des méthodes fluorimétrique et fluorimétrique induite photochimiquement (FIP) appliquées à la détermination de cinq pesticides aromatiques dans les échantillons d'eau fortifiés. Nous avons pu doser nos pesticides avec une bonne sensibilité (LD entre 0.2 et 54 ng ml⁻¹), en des temps d'irradiation relativement courts (t_{irr}^{opt} compris entre 8 et 22 min). Nos résultats montrent que la méthode a peu souffert des effets d'interférence due à l'eau de ville ou de fleuve employée, puisque les taux de récupération s'échelonnent entre 88 et 116%). Néanmoins, à cause de leur sélectivité par la taille, les domaines d'application des cyclodextrines sont relativement limités. Dans le paragraphe suivant, nous nous proposons d'évaluer l'effet des tensioactifs (capables de solubiliser les molécules de tailles et de polarité variables) en vue d'améliorer la sélectivité et/ou la sensibilité des méthodes fluorimétrique et FIP à l'analyse des échantillons environnementaux.

2. Etude des pesticides en milieux micellaires

Dans ce paragraphe, nous étudierons l'effet des systèmes micellaires sur la détermination fluorimétrique induite photochimiquement de six pesticides comprenant deux insecticides pyréthroides (deltaméthrine et fenvalérate) et quatre herbicides sulfonylurées (chlorsulfuron, metsulfuron méthyl, 3-rimsulfuron et sulfométuron méthyl). Nous avons sélectionné ces molécules car leur étude FIP dans les micelles aboutit à une amélioration de la sensibilité par rapport aux solvants organiques. Avant d'aborder l'étude analytique, nous commencerons par présenter les micelles étudiées.

2.1. Etude bibliographique sur les micelles

Pour décrire la structure des micelles [60,61], nous avons employé le symbolisme couramment adopté pour les phospholipides. Les phospholipides sont des molécules amphiphiles (Fig. 15), possédant une partie polaire hydrophile appelée "*tête*" et une partie non polaire hydrophobe appelée "*queue*". La chaîne alkyle de la partie hydrophobe doit comporter au minimum huit atomes de carbone.

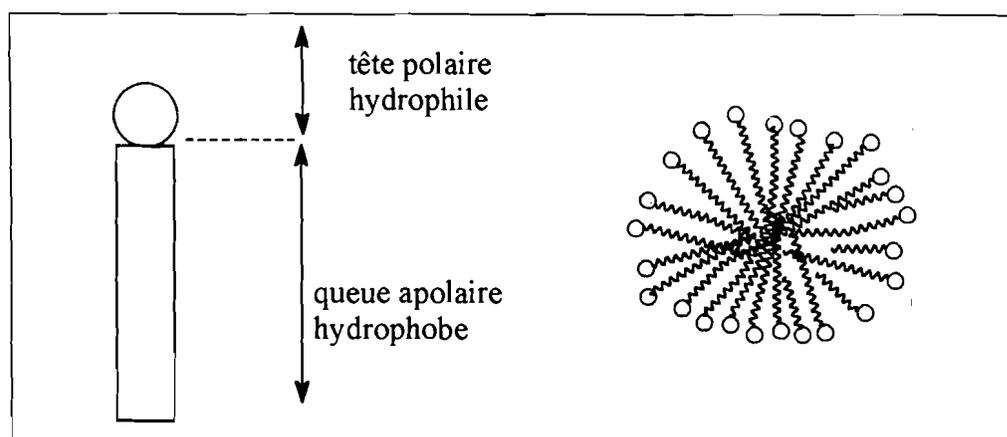


Fig. 15: Symboles utilisés pour les molécules amphiphiles et structure des micelles

Les micelles constituent des agrégats de molécules amphiphiles formés en solution par l'action combinée des trois interactions primaires suivantes: (i) interactions répulsives hydrophobes entre les queues non polaires des monomères et l'environnement aqueux; (ii) répulsion des charges des têtes ioniques; (iii) attraction de Van Der Waals entre les chaînes alkyles.

La différence de polarité entre les deux parties du monomère est très grande. La queue non polaire hydrophobe est généralement constituée par une longue chaîne hydrocarbonée tandis que la tête polaire hydrophile est soit ionique (cationique, anionique ou zwitterionique), soit neutre. A une concentration aqueuse supérieure à la concentration micellaire critique (cmc), il se forme des micelles sphériques ou ellipsoïdes dont les queues non polaires s'orientent vers l'intérieur de la capsule tandis que les têtes polaires se tournent en direction de l'environnement aqueux extérieur. La cmc correspond à la concentration minimale de monomère nécessaire pour produire la micellisation. La longueur de la chaîne alkyle, la taille et la structure des têtes polaires ainsi que l'interaction des chaînes alkyles avec les molécules du solvant déterminent la cmc, la taille des micelles et le nombre d'agrégats ou nombre d'unités monomères par agrégat micellaire. Les micelles sont généralement de taille suffisamment petite (3-6 nm de diamètre) pour que leur emploi en spectrométrie UV-visible ne provoque pas de diffusion de la lumière par les microcapsules, contrairement au cas des émulsions.

Les micelles constituent des assemblées de molécules en équilibre dynamique avec la phase prédominante constituée par le solvant extérieur. Dans ce processus dynamique de base, il se produit des échanges avec le solvant et d'autres micelles ainsi qu'avec des monomères, dimères, trimères etc, et une réorganisation de la micelle entière après ces processus. Cette

nature dynamique de la micelle a un impact profond sur la capacité d'encapsulation du soluté à l'intérieur ou à la surface.

Le modèle physique présenté habituellement pour décrire le caractère de solubilisation ou l'affinité d'une substance pour les micelles est celui dans lequel le substrat est incorporé à l'intérieur des micelles et/ou adsorbé à leur surface [62]. La position du substrat à l'intérieur des micelles dépend essentiellement de la nature relative de son caractère hydrophobe ou hydrophile. Il n'est pas fixé rigidement à l'intérieur des micelles car non seulement il peut s'y déplacer, mais il se trouve aussi en équilibre dynamique avec la phase aqueuse extérieure.

De très nombreux facteurs influencent la valeur du rapport des constantes de vitesse d'entrée/sortie (ou constante d'association) et le coefficient de partition d'un composé avec les micelles: *(i)* si le composé est très polaire, il restera de préférence à l'extérieur dans la phase aqueuse polaire. Dans ces conditions, l'effet micellaire observé est minimal; *(ii)* si le composé est anionique, il est repoussé par une micelle anionique ou stabilisé par une micelle cationique et vice-versa pour un composé cationique. Les paramètres importants capables d'influencer ce type d'association sont le pH et la force ionique. Un ajustement du pH du milieu peut permettre de convertir le composé en une forme interagissant fortement avec les micelles; *(iii)* généralement, en l'absence d'effets secondaires, l'augmentation du caractère hydrophobe du composé entraîne une augmentation de son degré d'association avec les micelles; *(iv)* si le composé est polaire et possède aussi une extrémité hydrophobe, il est adsorbé à la surface intérieure des micelles.

Ainsi, parmi les principaux critères à prendre en compte pour l'emploi analytique des systèmes micellaires, il faut considérer la polarité du composé et des micelles, la charge des micelles ainsi que le choix de tensioactifs susceptibles de s'associer avec les analytes. Il peut aussi s'avérer nécessaire d'adjoindre des réactifs pour favoriser ces associations. D'autres facteurs sont à retenir lorsqu'il s'agit d'étudier l'effet d'exaltation micellaire de l'émission de fluorescence: le composé doit être à la fois hydrophobe et faiblement fluorescent en solution aqueuse.

Dans notre travail, nous avons utilisé deux types de tensioactifs: le CTAC (cationique) et le SDS (anionique) (Fig. 16). En solution aqueuse, les valeurs de la cmc sont, respectivement, d'environ 1.3×10^{-3} M pour le CTAC et 8.6×10^{-3} M pour le SDS, le nombre de monomère par agrégat de micelles (\bar{n}) étant évalué respectivement à 60 et 62 [60,63]. Pour les applications analytiques, il est recommandé de choisir des concentrations suffisantes de tensioactif (3 à 5 fois supérieures à la cmc) afin d'accroître le taux de formation des micelles.

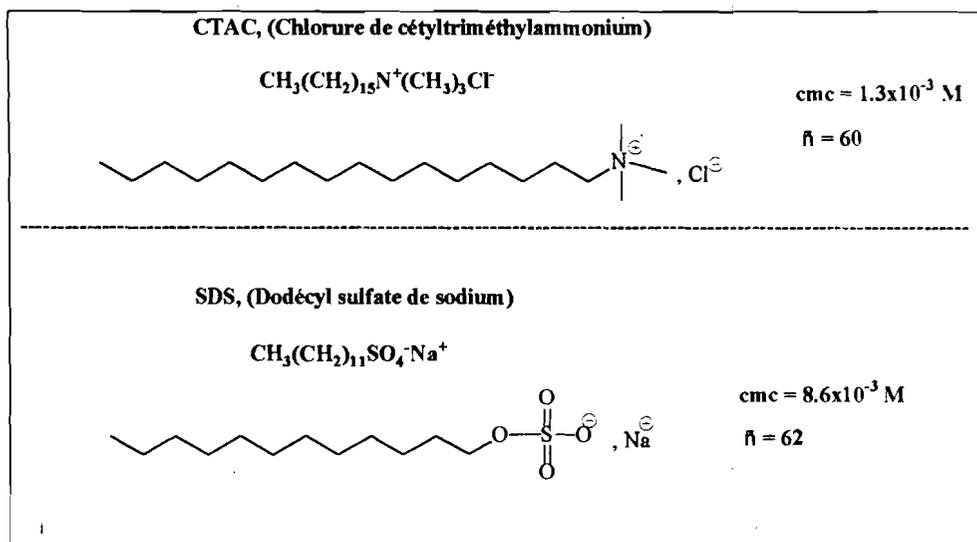


Fig. 16: Structure chimique des tensioactifs employés

2.2. Application des micelles à l'analyse fluorimétrique

Initialement, l'intérêt suscité par les micelles était dû essentiellement à leur utilisation comme modèle de membrane pour l'étude de certains processus biologiques [60,63]. On a utilisé alors la technique de fluorescence pour étudier la structure, les propriétés de micellisation et la dynamique de ces systèmes [63,64]. Plus tard, on a découvert que certains types de tensioactifs tels que le SDS solubilisent sélectivement de nombreux composés luminophores en raison de la formation de micelles, ce qui provoquait une exaltation de leur signal de fluorescence [29,60,65]. Ces résultats montrent que le microenvironnement autour du soluté fluorescent solubilisé dans les micelles est très différent de celui d'un solvant classique et que, dans certains cas, les micelles assurent la protection du premier état singulet excité du soluté contre divers processus d'inhibition et de désactivation. En conséquence, l'exaltation de 2 à 150 fois [63] de l'intensité de fluorescence ainsi qu'une amélioration des LD par des facteurs de 1.5 à 100 [65] ont été observées. En dépit de l'intérêt analytique potentiel de ces résultats, il existe très peu d'applications fluorimétriques concernant l'analyse en milieu micellaire de résidus de pesticides dans l'environnement [64,66].

2.3. Etude expérimentale des pesticides en milieux micellaires

Nous nous proposons d'étudier les propriétés de fluorescence induite photochimiquement de deux insecticides pyréthroides (en milieu SDS) et de quatre herbicides sulfonylurées (en milieu SDS et CTAC). Les six pesticides ne fluorescent pas naturellement,

mais ont un signal de fluorescence induit photochimiquement. Par conséquent, les spectres d'excitation et d'émission ont été obtenus après irradiation d'une solution pendant un temps bien déterminé qui dépend généralement de la structure de la molécule et du solvant employé.

➤ Pour les insecticides pyréthroides, l'effet de solvant organique et du temps d'irradiation optimal (t_{irr}^{opt}) sur l'intensité relative de FIP (I_F) ont été déjà examinés dans les paragraphes précédents (II.1). Il en est de même de la nature des photoproduits fluorescents générés au cours des réactions de photolyse.

➤ Pour les herbicides sulfonylurées, les valeurs des longueurs d'onde d'excitation (λ_{ex}) et d'émission (λ_{em}), des t_{irr}^{opt} et de I_F dans une variété de solvants organiques ont été aussi examinées dans les paragraphes précédents (II.1). D'autre part, ces herbicides présentent des structures chimiques très similaires comprenant trois parties distinctes [67]: un noyau benzène ou pyridine substitué, un pont sulfonylurée et un hétérocycle azoté (à base triazine ou pyrimidine). Le pont sulfonylurée est très labile et peut être rompu thermiquement [68,69], hydrolytiquement [70-72] et photochimiquement [73] des deux côtés de la fonction carbonyle pour générer les dérivés aryl sulfonamide et amino hétérocycle. Le dérivé hétérocyclique est non fluorescent [74], ce qui suggère que le signal d'émission de FIP observé est probablement dû au noyau aryl sulfonamide.

2.3.1. Propriétés spectrales de FIP dans les micelles

Nous avons étudié l'effet micellaire sur les propriétés spectrales de FIP des six pesticides.

➤ Pour les insecticides pyréthroides, les spectres de FIP ont été enregistrés en milieux micellaires et non micellaires et au temps d'irradiation optimal, (Figs. 17a et 17b). Il apparaît ainsi que les maxima des spectres d'excitation des deux pyréthroides ne subissent aucun déplacement notable tandis que pour les maxima des spectres d'émission, on observe un faible déplacement bathochrome de 5 nm (pour la deltaméthrine) et 7 nm (pour la fenvalérate) quand on passe de l'eau aux micelles (Tableau 16). La forme particulière des spectres d'émission obtenus dans l'eau (présentant un minimum dans la région 350-380 nm) résulte probablement de la diffusion de la lumière par les agrégats de molécules de pesticide qui se trouvent en suspension en raison de leur insolubilité. En effet, la deltaméthrine et la fenvalérate sont deux pesticides particulièrement hydrophobes et leur solubilité dans l'eau est très faible ($<0.1 \mu\text{g ml}^{-1}$). En présence d'une solution 5×10^{-2} M en SDS, on observe une augmentation importante du

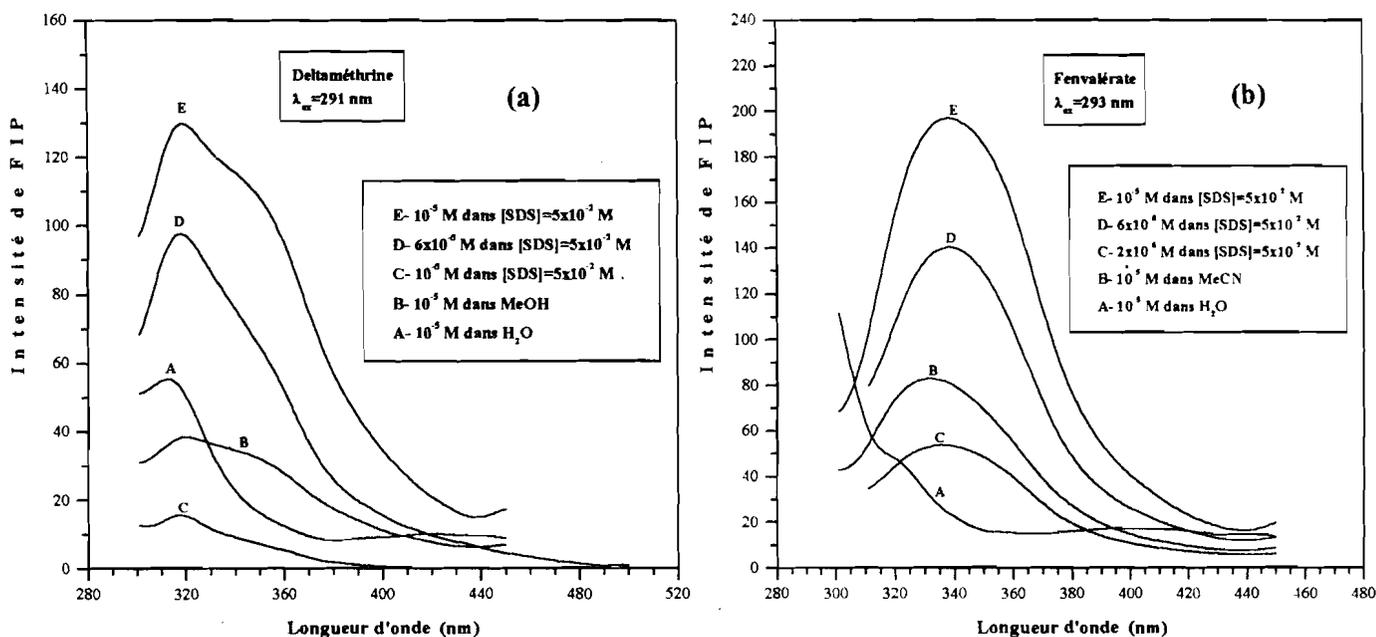


Fig. 17: Spectres d'émission de (a) la deltaméthrine et (b) la fenvalérate dans différents milieux, enregistrés dans les conditions optimales du Tableau 16.

signal de FIP due à la solubilisation de ces deux pesticides dans les micelles. Le facteur d'exaltation est d'environ 3.7 pour la deltaméthrine et 2.5 pour la fenvalérate par rapport aux solvants organiques usuels (Tableau 16). Cette dépendance de l'intensité de FIP avec la concentration du SDS indique clairement que la présence des micelles exalte considérablement le signal d'émission de ces deux insecticides (Fig. 17).

➤ Dans le cas des herbicides sulfonurées, il n'apparaît aucun déplacement significatif (à l'exception du metsulfuron méthyl) des longueurs d'onde d'excitation (λ_{ex}) et d'émission (λ_{em}) en allant de l'eau aux micelles (Tableau 16). En revanche, le t_{irr}^{opt} et I_F subissent des variations importantes. De plus les signaux les plus intenses ont été obtenus dans les micelles, ce qui fait des micelles le milieu le plus approprié en analyse quantitative (Fig. 18). Ce comportement est en bon accord avec les résultats de la littérature pour lesquels il a été observé que la solubilité des substances organiques ainsi que leur signal de fluorescence augmentaient en présence des micelles [63,65]. Les conditions analytiques optimales sélectionnées sont résumées dans le Tableau 17.

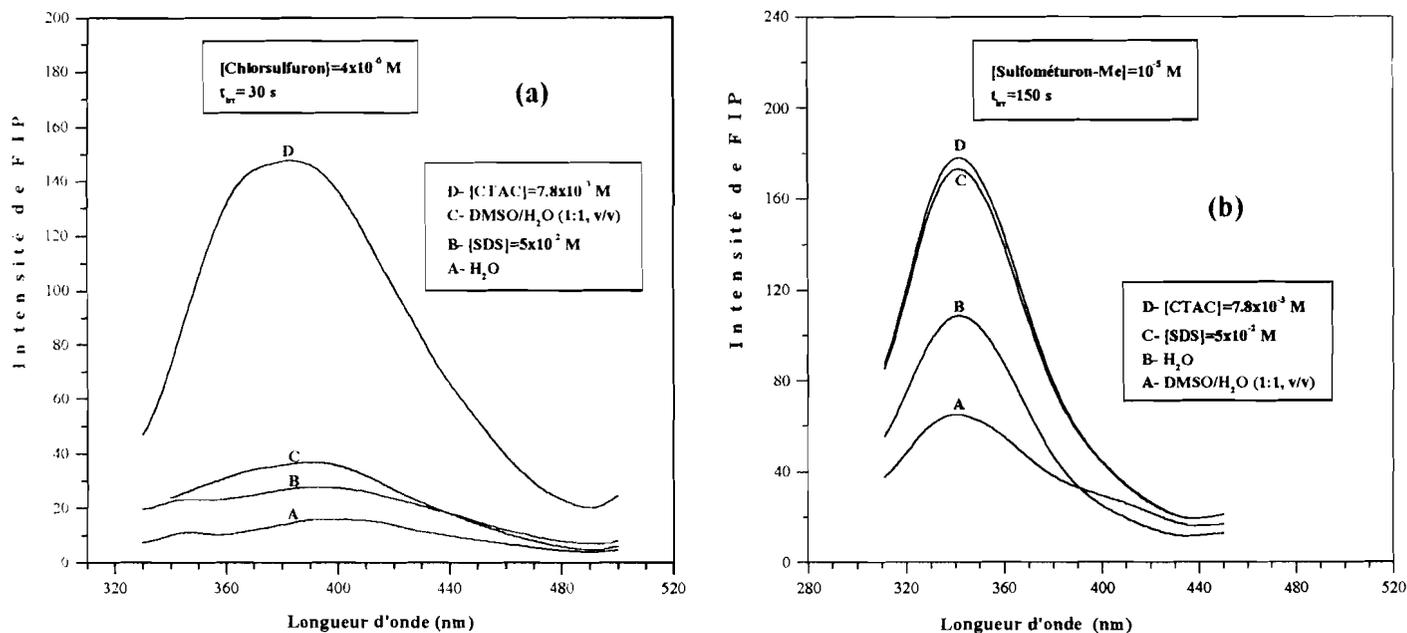


Fig. 18: Spectres d'émission du (a) chlorsulfuron et (b) sulfométuron méthyl dans différents milieux, enregistrés au bout de 30 et 150 s d'irradiation, respectivement.

Tableau 16: Propriétés spectroscopiques de FIP des pesticides étudiés dans les micelles.

Solvant	Deltaméthrine C = 4×10^{-6} M					Fenvalérate C = 4×10^{-6} M				
	pH	λ_{ex}^b	λ_{em}^b	I_F^c	$t_{irr}^{opt d}$	pH	λ_{ex}^b	λ_{em}^b	I_F^c	$t_{irr}^{opt d}$
H ₂ O	6.9 ^a	291	313	1.8	ND ^e	6.9 ^a	293	333	1.0	8
SDS	6.9 ^a	291	318	3.7	22	6.9 ^a	293	340	7.3	8
MeOH	-	291	317	1.0	12	-	-	-	-	-
MeCN	-	-	-	-	-	-	293	333	3.0	8

Solvant	Chlorsulfuron C = 4×10^{-6} M					Metsulfuron méthyl C = 4×10^{-6} M				
	pH	λ_{ex}^b	λ_{em}^b	I_F^c	$t_{irr}^{opt d}$	pH	λ_{ex}^b	λ_{em}^b	I_F^c	$t_{irr}^{opt d}$
H ₂ O	12	312	398	1.0	5	12	315	392	1.8 ^f	0.7 ^f
CTAC	12	314	380	3.1	2.5	12	308	418	1.0	2.7
SDS	12	312	398	1.2	4.2	12	322	378	12.6	1

Solvant	3-Rimsulfuron C = 10^{-6} M					Sulfométuron méthyl C = 10^{-5} M				
	pH	λ_{ex}^b	λ_{em}^b	I_F^c	$t_{irr}^{opt d}$	pH	λ_{ex}^b	λ_{em}^b	I_F^c	$t_{irr}^{opt d}$
H ₂ O	7	317	365	1.1	5	9	291	343	1.0	10
CTAC	7	317	365	1.3	2.5	9	290	341	1.5	2.5
SDS	7	318	364	1.0	4.2	9	291	341	1.4	2.5

^aMesures effectuées dans l'eau distillée de pH=6.9; ^bLongueurs d'onde d'excitation (λ_{ex}) et d'émission (λ_{em}) du pesticide en nanomètre; ^cIntensité relative de fluorescence corrigée et normalisée par rapport au signal du solvant le moins intense pour chaque pesticide; ^dTemps d'irradiation optimal (min): est défini comme étant le temps au bout duquel le signal de FIP (I_F) est maximal; ^eND signifie que la courbe de variation de I_F en fonction du temps d'irradiation (t_{irr}) n'a pas de maximum et est caractérisée par une évolution continu du signal, I_F a été mesuré pour $t_{irr}=25$ min; ^fValeurs approximatives car le fluorophore généré est peu stable.

2.3.2. Effet de pH

➤ Pour les insecticides pyréthroides, l'effet de pH avait déjà été examiné lors de l'étude en milieu CDs (Tableau 12). Il ressortait de ce travail que les solutions aqueuses non tamponnées de SDS présentaient les signaux les plus intenses. Nous les avons donc employées pour mener à bien ce travail.

➤ Pour les herbicides sulfonylurées, nous avons examiné l'effet de pH sur le signal de FIP en milieux aqueux et organiques. Les résultats obtenus en milieux aqueux (Fig. 19) montrent que les longueurs d'onde d'excitation et d'émission des herbicides ne subissent aucun déplacement lorsque le pH varie de 2 à 13. En revanche, les courbes de variation du signal de FIP en fonction du pH présentent des caractéristiques très différentes selon la structure moléculaire de l'herbicide. En effet, les herbicides à base triazine (chlorsulfuron et metsulfuron méthyl) ont un signal de FIP maximum pour des valeurs de pH comprises entre 12 et 13, tandis que les herbicides de structure pyrimidinique (3-rimsulfuron et sulfométuron méthyl) présentent des signaux de FIP très intenses sur un large domaine de pH allant de 2 à 8 pour le 3-rimsulfuron et de 5 à 11 pour le sulfométuron méthyl. Pour ces derniers herbicides, les solutions aqueuses non tamponnées donnent aussi des signaux FIP intenses. Les conditions optimales de pH retenues sont donc les suivantes: solution aqueuses 0.01 M de NaOH (pH=12.1) pour le chlorsulfuron et le metsulfuron méthyl, solutions tampon pH 7 et pH 9 respectivement pour le 3-rimsulfuron et sulfométuron méthyl.

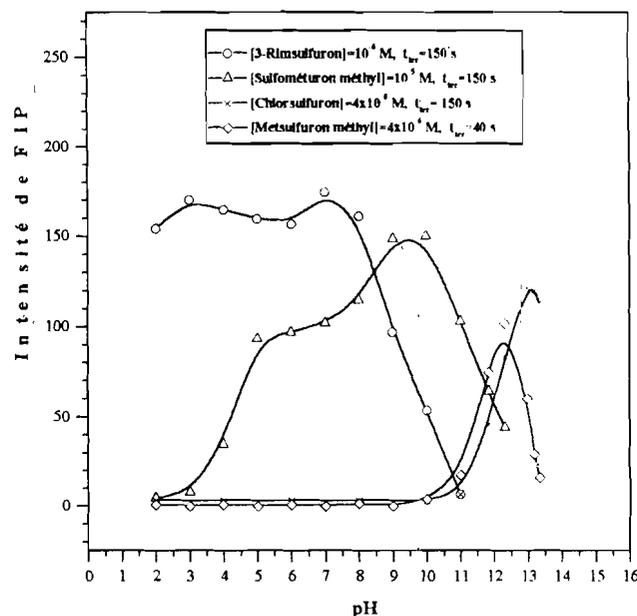


Fig. 19: Effet de pH sur l'intensité de FIP des herbicides sulfonylurées.

2.3.3. Effet de concentration des tensioactifs

La concentration des tensioactifs exerce une influence notable sur l'intensité du signal de fluorescence des substances organiques étudiées [63,75]. Dans le but d'établir les conditions analytiques optimales, nous avons étudié la variation de l'intensité de FIP des pesticides en fonction de la concentration des différents tensioactifs (Figs. 20a et 20b). L'allure générale de ces courbes est en bon accord avec celles obtenues précédemment pour d'autres composés aromatiques en présence de micelles [63,75].

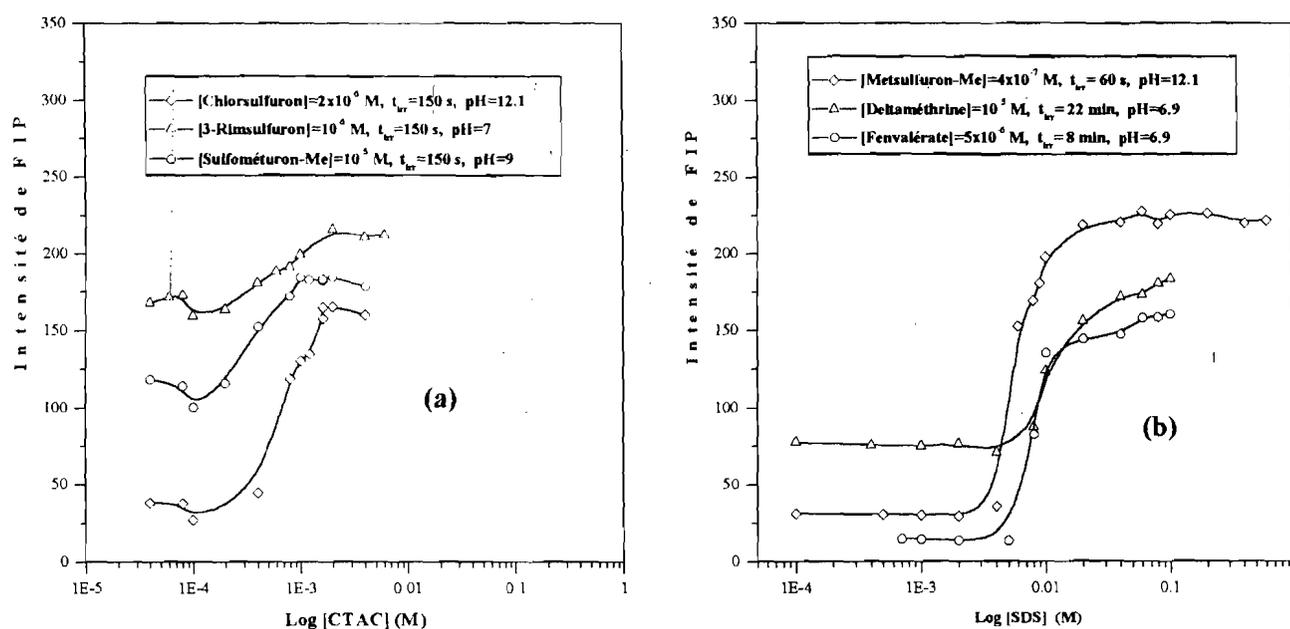


Fig. 20: Influence de la concentration des tensioactifs sur l'intensité de FIP des pesticides étudiés.

Aux concentrations de tensioactif très inférieures à la cmc, l'intensité FIP est relativement faible. Dans ces conditions, les molécules de pesticide se trouvent dispersées dans une suspension de monomères de tensioactif répartis aléatoirement dans le milieu aqueux. Lorsque la concentration de tensioactif augmente, le signal FIP varie peu jusqu'à ce que la valeur de la cmc soit atteinte. Au voisinage de la cmc, les monomères s'assemblent progressivement en agrégats micellaires de forme approximativement sphérique. On observe alors une augmentation brutale du signal FIP du pesticide, lequel s'accroît proportionnellement au nombre de micelles formées. Quand la concentration de tensioactif dépasse la cmc, le nombre et la taille des micelles augmente, et un équilibre dynamique s'instaure entre les molécules de pesticides adsorbées à la surface interne des micelles et celles qui se trouvent dans la phase aqueuse. Il en résulte un phénomène de saturation; l'intensité FIP n'augmente

plus que très faiblement et atteint un palier. Les concentrations optimales de tensioactif que nous avons retenues sont présentées dans le Tableau 17. Elles sont égales à environ 1.5 à 6 fois la cmc.

2.3.4. Etude de la photolyse en milieu micellaire

En vue d'étudier la cinétique de formation du fluorophore, nous avons examiné l'évolution du signal de FIP en fonction du temps d'irradiation en milieu micellaire. Pour tous les pesticides, l'allure générale des courbes $f(I_F, t_{irr})=0$ obtenues dans les micelles indique que la photolyse obéit à un mécanisme de premier type comportant un maximum de fluorescence (paragraphe II.1.4)

➤ Pour les insecticides pyréthroides, la valeur de t_{irr}^{opt} est la même (8 min) dans les différents milieux pour la fenvalérate (Tableau 16). En revanche, elle est plus élevée en milieu micellaire qu'en solution organique pour la deltaméthrine (22 min dans le SDS contre 12 min dans le MeOH).

➤ Pour les herbicides sulfonylurées, les valeurs de t_{irr}^{opt} dans les milieux micellaires varient de 60 à 250 s selon la structure de l'herbicide et la nature du tensioactif (Tableau 16). Dans le cas du metsulfuron méthyl, le photoproduit est instable dans l'eau pure; il en résulte des valeurs faibles et peu reproductibles du t_{irr}^{opt} dans ce solvant. Ces valeurs de t_{irr}^{opt} , beaucoup plus faibles dans les milieux micellaires que dans l'eau, devraient permettre de déterminer rapidement les herbicides sulfonylurées.

2.3.5. Performances analytiques

Dans le but d'évaluer l'intérêt analytique de notre méthode, nous avons établi les courbes d'étalonnage $\text{Log } f(I_F, C, t_{irr}^{opt})=0$ pour l'ensemble des pesticides dans les conditions optimales et aussi dans les solvants organiques usuels (MeOH pour la deltaméthrine, MeCN pour la fenvalérate). La linéarité est satisfaisante, comme l'indiquent les coefficients de corrélation très proches de l'unité (Tableau 18).

Dans le cas des insecticides pyréthroides, les LD obtenues en milieux micellaires sont plus de deux fois plus basses (7 et 11 ng ml⁻¹) que dans les solvants organiques. Les domaines de linéarité sont plus grands en présence de SDS et la reproductibilité est bonne car les DSR sont comprises entre 3.7 et 5.2%.

Tableau 17: Conditions analytiques optimales de FIP des pesticides étudiés

Pesticide	Milieu	pH	$\lambda_{ex} / \lambda_{em}$ (nm)	t_{irr}^{opt} (min)
Insecticides pyréthroides				
Deltaméthrine	[SDS], 4×10^{-2} M	6.9 ^a	291 / 318	22
Fenvalérate	[SDS], 4×10^{-2} M	6.9 ^a	293 / 340	8
Herbicides sulfonylurées				
Chlorsulfuron	[CTAC], 2×10^{-3} M	12.1 ^b	314 / 380	2.5
Metsulfuron méthyl	[SDS], 6×10^{-2} M	12.1 ^b	322 / 378	1
3-Rimsulfuron	[CTAC], 2×10^{-3} M	7	317 / 365	2.5
Sulfométuron méthyl	[CTAC], 2×10^{-3} M	9	290 / 341	2.5

^aMesures effectuées dans l'eau distillée; ^bValeurs correspondantes à $[NaOH] = 0.01$ M.

Tableau 18: Performances analytiques de la détermination des pesticides en milieux micellaires

Pesticide	Milieu	$\lambda_{ex} / \lambda_{em}$ (nm)	Domaine de linéarité (ng ml ⁻¹)	Pente ^a	r ^b	LD ^c	LDA ^d	LQ ^c	DSR ^e
						(ng ml ⁻¹)	(ng)	(ng ml ⁻¹)	(%)
Insecticides pyréthroides									
Deltaméthrine	SDS	291/318	20-5040	0.98	0.995	10.8	37.9	39	5.2
	MeOH	291/317	50-5040	0.85	0.994	27	94.4	98	2.9
Fenvalérate	SDS	293/340	10-2520	1.05	0.998	7.4	26.0	27	3.7
	MeCN	293/333	42-2520	1.00	0.992	16.6	58.1	60	2.5
Herbicides sulfonylurées									
Chlorsulfuron	CTAC	314/380	1 - 720	0.90	0.998	0.5	1.7	1.9	3.9
Metsulfuron-Me	SDS	322/378	0.2 - 192	0.82	0.997	0.2	0.6	0.8	1.2
3-Rimsulfuron	CTAC	317/365	2 - 303	1.08	0.994	0.8	2.7	2.4	2.8
Sulfométuron-Me	CTAC	290/341	14-2912	1.02	0.998	6	21	19	1.5

^aPente des droites log-log de calibration; ^bCoefficient de corrélation; ^cLimite de détection (LD) et de quantification (LQ), définie comme étant la concentration du pesticide correspondant à un rapport signal/bruit égal à respectivement 3 et 10; ^dLimite de détection absolue (LDA), calculée avec un volume de 3.5 ml; ^eDéviatoin standard relative ($n=4$).

Pour les herbicides sulfonylurées, les LD varient entre 0.2 et 6 ng ml⁻¹ selon les composés et les LD absolues entre 0.6 et 21 ng. La reproductibilité est de 1.2-3.9%. Ces faibles valeurs de LD démontrent que la détection par FIP peut être généralement appliquée à la détermination de ces herbicides dans les eaux naturelles. Néanmoins, dans le cas des eaux de ruissellement agricoles dans lesquelles des quantités plus faibles d'herbicides (≤ 0.05 ng ml⁻¹) ont été trouvées [76], des procédures de préconcentration et/ou de purification seraient indispensables avant analyse. Ces LD se comparent favorablement à celles rapportées par des méthodes plus sophistiquées. Ainsi dans le cas du chlorsulfuron, des LD de 0.2, 1 et 0.4 ng ml⁻¹ dans les sols sont obtenues respectivement par CLHP-DPC (détecteur par photoconductivité) [77], CPG-DCE (détecteur à capture d'électron) [78], et ELISA (analyse immunoenzymatique)

[79]. De même, dans la détermination du chlorsulfuron et du metsulfuron méthyl dans l'eau du robinet par électrophorèse capillaire, une LD de 0.1 ng ml^{-1} a été trouvée [80]. Nos LD sont également plus basses que celles obtenues pour le chlorsulfuron par CLHP-DPC dans les végétaux ($10\text{-}50 \text{ ng ml}^{-1}$ [81]). Néanmoins, des valeurs de LD de 0.025 ng ml^{-1} obtenues dans l'eau par CPG-DCE pour le chlorsulfuron [76] et de 0.01 ng ml^{-1} pour le metsulfuron méthyl [72] s'avèrent plus faibles que les nôtres.

2.3.6. Applications analytiques

Nous avons appliqué notre méthode à la détermination des pesticides étudiés dans les formulations techniques et dans l'eau du robinet (pour les insecticides) ou du fleuve (pour les herbicides). Dans les deux cas, les taux de récupération obtenus par addition standard sont satisfaisants.

Les deux insecticides pyréthroides ont été déterminés dans les formulations techniques traitées (après extraction) ou non traitées (sans procédures d'extraction, mais solubilisation directe dans les micelles) et dans l'eau du robinet. Les taux de récupération rassemblés dans le Tableau 19 varient entre 93-109% pour les échantillons traités, 88-113% pour les échantillons non traités et entre 95-104% pour l'eau du robinet.

Pour les herbicides sulfonilurées, la moyenne des taux de récupération mesurés à six concentrations différentes pour chaque herbicide est comprise entre 90 et 100% (Tableau 20). Les courbes d'addition standard et d'étalonnage (Fig. 21) sont linéaires pour les domaines de concentration examinés: de plus, les valeurs des pentes des droites correspondantes sont pratiquement identiques, ce qui démontre que les interférences de matrices (eau de Seine) sont négligeables.

Tableau 19: Détermination des insecticides pyréthroides dans les formulations techniques et dans l'eau du robinet.

Pesticide	Concentration (ng ml ⁻¹)		Récupération ^b (%)
	Ajoutée	Trouvée ^a	
<i>Analyse des formulations traitées</i>			
Fenvalérate	867	832 ± 8	96.0
	1245	1209 ± 3	97.1
	2085	1960 ± 18	94.0
	2505	2324 ± 8	92.8
Deltaméthrine	379	414 ± 6	109.2
	546	579 ± 9	106.0
	1359	1340 ± 6	98.6
	2883	3021 ± 6	104.8
<i>Analyse des formulations non traitées</i>			
Fenvalérate	872	859 ± 5	98.5
	1124	1021 ± 3	90.8
	1250	1156 ± 3	92.5
	2090	1848 ± 8	88.4
Deltaméthrine	704	775 ± 25	110.1
	871	981 ± 9	112.6
	2192	2175 ± 104	99.2
	3208	3064 ± 74	95.5
<i>Analyse de l'eau du robinet</i>			
Fenvalérate	558	528 ± 5	94.6
	1524	1586 ± 3	104.0
	1944	2002 ± 8	102.9
	2364	2301 ± 15	97.3
Deltaméthrine	184	180 ± 6	97.8
	657	678 ± 6	103.2
	1673	1617 ± 25	96.6
	2689	2665 ± 18	99.1

^aMoyenne ± déviation standard (n=3); ^bValeurs mesurées par la méthode d'addition standard.

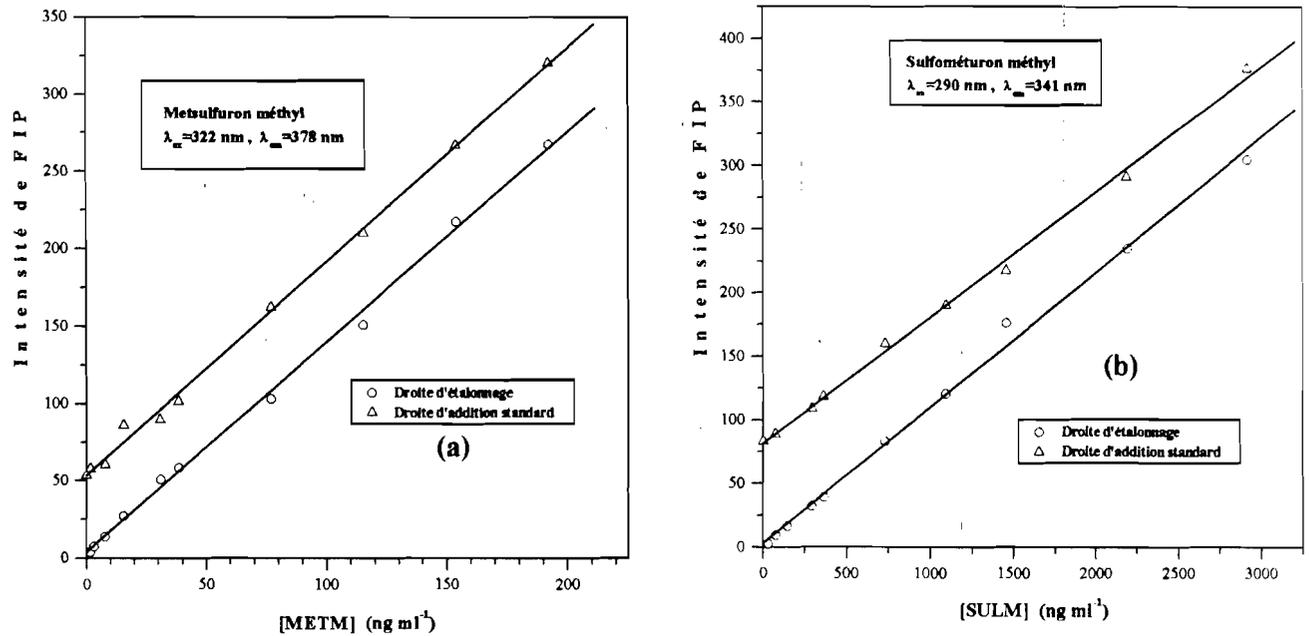


Fig. 21: Droites de (O) calibration et (Δ) d'addition standard de la détermination du (a) metsulfuron méthyl et du (b) sulfométuron méthyl dans l'eau de la Seine.

Tableau 20: Détermination des herbicides sulfonurées dans l'eau de la Seine.

Pesticide	Concentration (ng ml^{-1})		Récupération ^b (%)
	Ajoutée	Trouvée ^a	
Chlorsulfuron	299.3	265.2 \pm 3.4	88.6
	313.7	290.5 \pm 4.5	92.6
	356.9	370.8 \pm 2.6	103.9
	428.9	409.1 \pm 2.6	95.4
	500.9	491.1 \pm 2.7	98.0
	572.9	529.6 \pm 0.9	92.5
			(95.2 \pm 4.9)
Metsulfuron méthyl	38.0	39.6 \pm 0.9	104.2
	44.2	41.4 \pm 0.8	93.7
	74.9	71.7 \pm 0.3	95.7
	113.3	116.4 \pm 0.7	102.7
	151.7	151.6 \pm 0.9	99.9
	228.5	232.8 \pm 1.3	101.9
			(99.7 \pm 3.8)
3-Rimsulfuron	63.5	61.7 \pm 0.7	97.2
	80.8	67.0 \pm 1.3	82.9
	98.1	78.4 \pm 0.3	80.0
	227.7	204.7 \pm 2.0	89.9
	270.9	258.9 \pm 1.9	95.6
	314.1	302.6 \pm 1.6	96.4
			(90.4 \pm 6.8)
Sulfométuron méthyl	824.5	804.3 \pm 2.8	97.6
	1042.9	995.9 \pm 11.3	95.5
	1479.7	1473.4 \pm 13.6	99.6
	1843.7	1753.3 \pm 7.1	95.1
	2935.7	2705.7 \pm 19.3	92.2
	3663.7	3510.1 \pm 25.4	95.8
			(96.0 \pm 2.3)

^aMoyenne \pm déviation standard ($n=3$); ^bValeurs mesurées par la méthode d'addition standard.

2.3.7. *Avantages analytiques de la méthode FIP pour les herbicides sulfonylurées*

Les résultats obtenus par l'approche FIP pour l'analyse des herbicides sulfonylurées mettent en relief plusieurs avantages analytiques par rapport aux méthodes décrites dans la littérature. Par exemple, la CLHP avec détection par UV [82-86] ne convient pas à cause de la très grande sensibilité requise pour ce groupe d'herbicides. Le détecteur par photoconductivité [73,77,81,87-89] nécessite une mise en œuvre trop longue des échantillons réels avec des procédures de purification assez laborieuses. Etant donné la nature trop polaire des herbicides sulfonylurées, une dérivatisation chimique est indispensable avant toute détection par CPG [68,69,72,76,78,90-92], ce qui accroît les temps d'analyse. Les techniques biologiques [93-102] les plus usuelles sont capables de détecter les herbicides sulfonylurées au niveau du nanogramme; toutefois, elles ne sont pas sélectives et surtout, elles s'avèrent longues à mettre en œuvre puisqu'elles nécessitent souvent un temps d'analyse total de plusieurs semaines. Les méthodes immunoenzymatiques [79,103-107] et d'électrophorèse capillaire [80,108] permettent de réduire considérablement les temps d'analyse et sont plutôt sensibles, mais elles sont relativement onéreuses. En revanche, la méthode FIP est simple (équipement peu coûteux, aucune procédure complexe de traitement des échantillons), sensible (LD dans les limites du ng), rapide (t_{int}^{opt} entre 60-150s) et reproductible. Un autre aspect analytique intéressant de notre méthode est qu'elle peut être appliquée à la résolution des mélanges d'herbicides sulfonylurées sans avoir recours à des techniques de séparation. Ainsi, on peut envisager d'utiliser les spectres dérivés de fluorescence, la fluorescence synchrone et/ou la méthode chimiométrique de calibration multivariable (PLS), en combinaison avec la FIP (Chapitre 3).

2.3.8. *Interprétation de l'exaltation du signal FIP*

La relation quantitative de luminescence Eq.(1) appliquée en milieu très dilué indique que l'exaltation du signal FIP, observée en milieu micellaire par rapport à l'eau et aux solvants organiques, dans les mêmes conditions instrumentales (I_0 et l constants) et de concentration, ne

$$I_F = 2.303 \cdot \Phi_F \cdot I_0 \cdot \epsilon \cdot l \cdot C \quad (1)$$

peut résulter que d'une augmentation du rendement quantique de fluorescence (Φ_F) et/ou du coefficient d'absorption molaire (ϵ). Les spectres d'absorption des photoproduits des insecticides pyréthroides obtenus en milieux micellaires et organiques, indiquant l'absence de

différence notable d'intensité d'absorption dans les deux milieux, l'exaltation du signal de FIP ne peut provenir que de l'augmentation de (Φ_F) en milieu micellaire.

Cette augmentation de Φ_F implique une diminution de la vitesse des processus non radiatifs dans les micelles, ce qui peut être dû à l'effet de divers facteurs à savoir, la variation de la micropolarité et de la microviscosité du milieu, et la protection effective de l'état excité singulet contre des inhibiteurs comme l'oxygène moléculaire [63,65].

Le tableau 21 résume l'effet de ces paramètres sur l'intensité FIP des deux insecticides pyréthroides étudiés.

Tableau 21: Etude de l'effet de divers facteurs de milieu sur l'exaltation du signal FIP des insecticides pyréthroides.

Pesticide	Solvant	Polarité ^a	Viscosité ^b	I _F ^c	t _{irr} ^{opt}
Deltaméthrine	SDS	40-55	28-39	3.7	35
	Ethylène glycol	37.7	19.9	5.8	20
	MeOH désoxygéné ^d	32.63	0.547	2.4	23
	MeOH	32.63	0.547	1.0	23
Fenvalérate	SDS	40-55	28-39	3.4	12
	Ethylène glycol	37.7	19.9	5.4	15
	MeCN désoxygéné ^d	37.5	0.345	1.5	10
	MeCN	37.5	0.345	1.0	10

^aConstante diélectrique: pour les micelles, voir la réf. [63]; ^bViscosité en centipoise réf. [63].

^cIntensité relative de FIP, corrigée et normalisée par rapport au signal du solvant le moins intense pour chaque insecticide; ^dTemps de désoxygénation: 30 min.

2.3.8.1. Influence de la micropolarité: Le Tableau 21 montre que l'éthylène glycol est moins polaire que le SDS; néanmoins, le signal de FIP des deux insecticides est nettement plus intense dans l'éthylène glycol que dans le SDS. Nous pouvons en conclure que la polarité du milieu exerce un effet limité sur l'exaltation de l'intensité FIP observée.

2.3.8.2. Influence de l'oxygène moléculaire: L'oxygène moléculaire est considéré comme un inhibiteur efficace de l'état excité singulet. Nous avons constaté que des solutions organiques d'insecticides soigneusement désoxygénées pendant 30 min ont vu leur signal FIP augmenter de manière significative par rapport aux mesures réalisées dans les mêmes solvants aérés. Il est donc probable que les micelles jouent un rôle de bouclier vis-à-vis des différents agents

inhibiteurs présent en solution, en provoquant une diminution de la concentration locale d'oxygène [63].

2.3.8.3. Influence de la viscosité: Les signaux FIP des insecticides augmentent fortement dans des milieux de viscosité élevée comme le SDS et l'éthylène glycol par rapport à des solvants organiques de faible viscosité et de polarité voisine comme le MeCN et le MeOH. Nous pouvons en déduire que la viscosité du milieu explique en partie l'exaltation du signal FIP observé. Le signal FIP plus intense dans l'éthylène glycol que dans le SDS pourrait être dû à l'intervention de liaisons hydrogène qui exercent un effet non négligeable pour stabiliser l'état excité singulet.

L'étude des différents facteurs capables d'induire une exaltation du signal FIP en milieux micellaires démontre que sous l'action combinée de certains de ces facteurs (augmentation de viscosité et inhibition de l'action de l'oxygène moléculaire), les micelles instaurent un microenvironnement favorable à la fluorescence des pesticides étudiés, entraînant une stabilisation de leur état excité singulet et une augmentation du rendement quantique de fluorescence.

2.3.9. Constantes d'association des pesticides avec les micelles

Nous avons aussi calculé à l'aide de la relation Eq.(2) les constantes d'association K_m et les valeurs des cmc qui sont compilées dans le Tableau 22. Nous avons de même évalué directement les valeurs de cmc à partir des courbes de la Fig. 20.

$$K_m ([D]_0 - [P]_0 f) - K_m [cmc] = \frac{f}{1-f} \quad (2)$$

Les valeurs de cmc obtenues par les deux procédures sont en assez bon accord avec celles de la littérature (8.6×10^{-3} M pour le SDS et 1.3×10^{-3} M pour le CTAC). Toutefois, de plus faibles valeurs sont observées pour le CTAC à pH alcalin (pH 9-12): la présence d'ion OH^- pourrait rapprocher les têtes polaires (cationiques) des micelles éliminant l'eau des molécules de CTAC et les rendant ainsi plus hydrophobes.

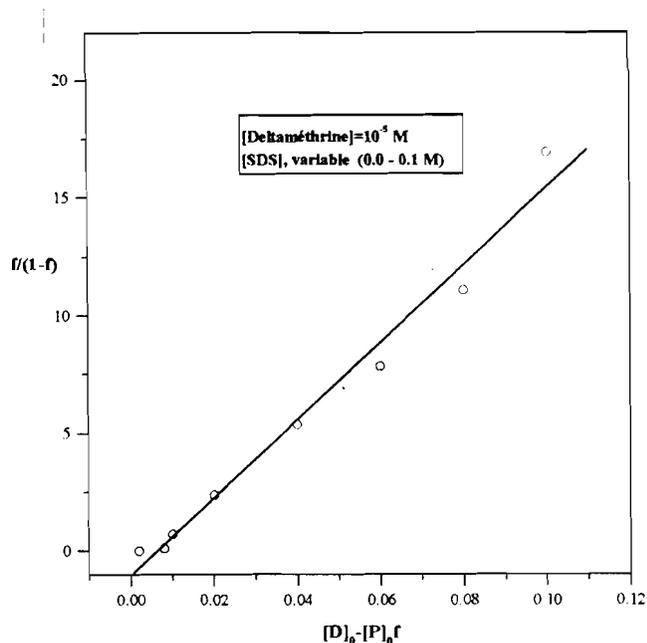


Fig. 22: Détermination graphique de la constante d'association de la deltaméthrine avec le SDS.

Tableau 22: Constantes d'association avec les micelles des pesticides étudiés.

Pesticide	Micelle	K_m (M^{-1})	[cmc] (M) ^a	[cmc] (M) ^b
Insecticides pyréthroides				
Deltaméthrine	SDS	165 ± 9	$(6.2 \pm 0.4) \times 10^{-3}$	9.9×10^{-3}
Fenvalérate	SDS	276 ± 23	$(4.0 \pm 0.1) \times 10^{-3}$	8.3×10^{-3}
Herbicides Sulfonylurées				
Chlorsulfuron	CTAC	4356 ± 251	$(3.7 \pm 0.7) \times 10^{-4}$	7.0×10^{-4}
Metsulfuron méthyl	SDS	2636 ± 257	$(6.0 \pm 0.5) \times 10^{-3}$	5.7×10^{-3}
3-Rimsulfuron	CTAC	3000 ± 323	$(3.0 \pm 0.5) \times 10^{-4}$	5.3×10^{-4}
Sulfométuron méthyl	CTAC	8217 ± 733	$(1.5 \pm 0.1) \times 10^{-4}$	4.3×10^{-4}

^aValeurs calculées à partir de la relation Eq. (2); ^bValeurs approximativement obtenues à partir des courbes $I_F = f([SDS])$ ou $I_F = f([CTAC])$ de la Fig. 20.

Les données des constantes d'association (K_m) indiquent de plus grandes valeurs dans le cas du CTAC (3000 à 8200 M^{-1} selon le pesticide) qu'en présence de SDS (165 à 2630 M^{-1} selon le pesticide), ce qui suggère que le premier type de micelle fournisse un environnement plus hydrophobe pour les photoproduits des pesticides. De plus, la valeur de K_m du metsulfuron méthyl est beaucoup plus élevée (environ un ordre de grandeur) que celle de la deltaméthrine (Fig. 22) et de la fenvalérate dans le SDS, ce qui indique une association

hydrophobe plus prononcée pour le premier type de pesticide, résultant probablement d'une différence de nature des photoproduits.

2.4. Remarques conclusives

Nous venons de démontrer que l'irradiation UV des insecticides pyréthroides et des herbicides sulfonilurées en milieux micellaires conduit à des photoproduits fluorescents. Nous avons donc suivant cette approche photochimique, développé une méthode simple, efficace, reproductible et appliquée à l'analyse des résidus de ces pesticides dans les formulations techniques et dans les échantillons d'eau fortifiés avec des taux de récupération satisfaisants car compris entre 80 et 113%. L'effet d'exaltation micellaire du signal analytique et la grandeur des constantes d'association avec les pesticides se sont avérés dépendre de beaucoup de facteurs dû au milieu, comme la viscosité, la polarité, la présence d'oxygène moléculaire, le pH, etc. Les micelles ont ainsi démontré leur utilité à l'analyse des insecticides pyréthroides et des herbicides sulfonilurées dans les eaux naturelles.

IV. CONCLUSION

L'étude en solution stationnaire des pesticides sélectionnés par fluorescence et fluorescence induite photochimiquement s'avère satisfaisante dans les deux milieux: solvants organiques et solutions aqueuses de cyclodextrines et de micelles. En effet, l'étude en milieux organiques qui a conduit au choix de solvants organiques de forte polarité (DMSO, MeCN, MeOH) a permis d'atteindre de basses limites de détection (entre 0.07 et 31 ng ml⁻¹) et d'obtenir des taux de récupération satisfaisants en ce qui concerne l'analyse des formulations techniques. Toutefois, l'étude en milieu organique de la détermination des pesticides aromatiques dans les échantillons d'eau fortifiés s'est avéré limitée (LD plus élevées, entre 20 et 280 ng ml⁻¹) du fait de l'action inhibitrice des molécules d'eau sur l'émission de fluorescence de ces pesticides. Afin de pouvoir appliquer notre méthode à la détermination de ces pesticides dans les eaux naturelles, nous avons employé les solutions aqueuses de cyclodextrines et de micelles, ce qui nous a permis d'améliorer les LD des insecticides pyréthroides et des herbicides sulfonilurées par rapport aux solvants organiques et, d'obtenir des taux de récupération satisfaisants (entre 80 et 104%) pour l'analyse des eaux. De même, nos résultats analytiques se sont révélés être en bon accord avec ceux déterminés par d'autres techniques plus sophistiquées, ce qui constitue un avantage. Le système de détection pourrait être connecté à

un dispositif d'injection en flux dynamique de solvant (FIA) pour une évaluation rapide de ces pesticides dans les milieux naturels.

V. REFERENCES

- [1] ACS Committee on Environmental Improvement: Guidelines for Data Acquisition and Data Quality Evaluation in Environmental Chemistry, *Anal. Chem.* **52** (1980) 2242.
- [2] M.L. Hitchman, S. Ramanathan, *Anal. Chim. Acta* **157** (1984) 349.
- [3] A. De Kok, M. Hiemstra, C.P. Vreeker, *Chromatographia* **24** (1987) 469.
- [4] M.B. Thomas, P.E. Sturrock, *J. Chromatogr.* **357** (1986) 318.
- [5] R.G. Grant, R.K. Pike, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **62** (1979) 1001.
- [6] K. Hunter, *J. Chromatogr.* **299** (1984) 405.
- [7] B. Wyhowski De Bukanski, J.M. Degroodt, H. Beernaert, *Z. Lebeusm. Unters. Forsch.* **193** (1991) 130.
- [8] A. Di Muccio et al. *J. Chromatogr.* **553** (1991) 305.
- [9] G.C. Mattern, M. Wiston, J.D. Rosen, *J. Food Saf.* **11** (1990) 1.
- [10] O.V. Vashkevich, E.S. Gankina, *J. Planar Chromatogr.-Mod. TLC* **3** (1990) 354.
- [11] M.H. Akhtar, *J. Chromatogr.* **246** (1982) 81.
- [12] P.R. Haddad, J.G. Brayon, G.J. Sharp, S. Dilli, J.M. Desmarchelier, *J. Chromatogr.* **461** (1989) 337.
- [13] G. Chiavari, C. Bergamini, *J. Chromatogr.* **346** (1985) 369.
- [14] K.M.S. Sundaram, R. Nott, *J. Liq. Chromatogr.* **12** (1989) 2333.
- [15] A. Di Corcica, M. Marchetti, *Anal. Chem.* **63** (1991) 580.
- [16] A. Hladka, J. Kovac, V. Krampfl, *Z. Anal. Chem.* **274** (1975) 371.
- [17] H.E. Braun, J. Stanek, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **65** (1982) 685.
- [18] Y.W. Lee, N.D. Westcott, R.A. Reichle, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **61** (1978) 869.
- [19] J.H. Fendler, E.J. Fendler, *Catalysis in Micellar and Macromolecular Systems*, Academic Press, New York, 1975.
- [20] M.L. Bender, M. Komiyama, *Cyclodextrins Chemistry*, Springer-Verlag, New York, 1978.
- [21] J. Szejtli, *Cyclodextrins and Their Inclusion Complex*, Akademiai Kiado, Budapest, 1982.
- [22] J.L. Atwood, J.E.D. Davies, D. MacNicole, *Inclusion Compounds*, Academic Press, London, 1984, Vol. 3.
- [23] W.L. Hinze, D.W. Armstrong, Eds. *Ordered Media in Chemical Separation*, American Chemical Society: Washington, DC, 1987.
- [24] D. Duchène, Eds. *Cyclodextrins and Their Industrial Uses*, Ed. de la Santé, Paris, 1987.
- [25] J. Szejtli, *Cyclodextrin Technology*, Kluwer Academic Publisher, Boston, 1988.
- [26] A. Villiers, *C.R. Acad. Sci. Paris* **112** (1891) 536.
- [27] F. Garcia-Sanchez, M. Hernandez-Lopez, E. De Garcia-Villodores, *Mikrochim. Acta* **2** (1987) 217.
- [28] S. Takada, T. Fujita, I. Kokawara, *Jpn. Kokai Tokkyo Koho*, 1988, pp.5. Chem. Abstr. **111** (1989) 149497k.
- [29] L.J. Cline-Love, M. Grayeski, J. Noroski, R. Weinberger, *Anal. Chim. Acta* **170** (1985) 3.
- [30] I. Duran-Meras, A. Muñoz de la Peña, F. Salinas, I. Rodriguez-Caceres, *Analyst* **119** (1994) 1215.
- [31] M. Sbai, S. Ait Lyazidi, D.A. Lerner, B. Del Castillo, M.A. Matrin. a) *Anal. Chim. Acta* **303** (1995) 47. b) *Analyst* **121** (1996) 1561.

- [32] T. Matsue, V. Akiba, T. Osa, *Anal. Chem.* **58** (1986) 2096.
- [33] W.L. Hinze, *Sep. Purif. Methods* **10** (1981) 159.
- [34] P.M. Bersier, J. Bersier, B. Klinger, *Electroanalysis* **3** (1991) 443.
- [35] D. Greatbanks, R. Pickford, *Magn. Reson. Chem.* **25** (1987) 208.
- [36] J. Szejtli, B. Zsardon, T. Cserhati, *Ordered Media in Chemical Separations*, W.L. Hinze, D.W. Armstrong, Eds. American Chemical Society: Washington, DC, 1987, p 201.
- [37] S. Li, W.C. Purdy, *Chem. Rev.* **92** (1992) 1457.
- [38] J.C. Marquez, M. Hernandez, F. Garcia-Sanchez, *Analyst* **115** (1990) 1003.
- [39] S. Panadero, A. Gomez-Hens, D. Perez-Bendito, *Talanta* **40** (1993) 225.
- [40] F. Garcia-Sanchez, M. Cedazo, J. Lovillo, A. Navas-Dias, *Talanta* **43** (1996) 1327.
- [41] A. Muñoz de la Peña, F. Salinas, M.J. Gomez, M.I. Acedo, M. Sanchez-Peña, *J. Inclus. Phenom. Mol. Recogn. Chem.* **15** (1993) 131.
- [42] a) D.A. Lerner, B. Del Castillo, S. Muñoz-Botella, *Anal. Chim. Acta* **227** (1989) 297. b) S. Muñoz-Botella, D.A. Lerner, B. Del Castillo, M.A. Martin, *Analyst* **121** (1996) 1557.
- [43] F. Garcia-Sanchez, A.L. Ramos-Rubio, C. Cruces-Blanco, M. Hernandez-Lopez, J.C. Marquez-Gomez, C. Carnero, *Anal. Chim. Acta* **205** (1988) 139.
- [44] M. Hoshino, M. Imamura, K. Ikehara, Y. Hama, *J. Phys. Chem.* **85** (1981) 1820.
- [45] S. Hamai, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **55** (1982) 2721.
- [46] A. Orstan, J.B.A. Ross, *J. Phys. Chem.* **91** (1987) 2739.
- [47] D.J. Jobe, R.E. Verall, R. Palepu, V.C. Reinsborough, *J. Phys. Chem.* **92** (1988) 3582.
- [48] G.C. Catena, F.V. Bright, *Anal. Chem.* **61** (1989) 905.
- [49] A. Muñoz de la Peña, T.T. Ndou, J.B. Zung, I.M. Warner, *J. Phys. Chem.* **95** (1991) 3330.
- [50] D. Diaz, I. Vargas-Baca, J. Garcia-Mora, *J. Chem. Educ.* **71** (1994) 708.
- [51] E.L. Roberts, P.T. Chou, T.A. Alexander, R.A. Agbaria, I.M. Warner, *J. Phys. Chem.* **99** (1995) 5431.
- [52] M. Eddaoudi, A.W. Coleman, P. Prognon, P. Lopez-Mahia, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* (1996) 955.
- [53] S. Nigam, G. Durocher, *J. Phys. Chem.* **100** (1996) 7135.
- [54] Y. Kusumoto, *Chem. Phys. Lett.* **136** (1987) 535.
- [55] R.P. Frankewich, K.N. Thimmaiah, W.L. Hinze, *Anal. Chem.* **63** (1991) 2924.
- [56] J.-J. Aaron, B. Laassis, M.C. Mahedero, A. Muñoz de la Peña, F. Salinas, *J. Inclus. Phenom. Mol. Recogn. Chem.* **18** (1994) 69.
- [57] M. Maafi, B. Laassis, J.-J. Aaron, M.C. Mahedero, A. Muñoz de la Peña, F. Salinas, *J. Inclus. Phenom. Mol. Recogn. Chem.* **22** (1995) 235.
- [58] A. Muñoz de la Peña, T.T. Ndou, V.C. Anigbogu, I.M. Warner, *Anal. Chem.* **63** (1991) 1018.
- [59] W.L. Hinze, D.Y. Pharr, Z.S. Fu, W.G. Burkert, *Anal. Chem.* **61** (1989) 422.
- [60] L.J. Cline Love, J.G. Habarta, J.G. Dorsey, *Anal. Chem.* **56** (1984) 1132A.
- [61] L.J. Cline Love, M. Skrilec, J.G. Habarta, *Anal. Chem.* **52** (1980) 754.
- [62] M. Almgren, F. Grieser, J.K. Thomas, *J. Am. Chem. Soc.* **101** (1979) 279.
- [63] H. Singh, W.L. Hinze, *Anal. Lett.* **15** (1982) 221.

- [64] I.M. Warner, L.B. McGown, *Anal. Chem.* **64** (1992) 343R.
- [65] D.W. Armstrong, W.L. Hinze, K.H. Bui, H.N. Singh, *Anal. Lett.* **14** (1981) 1659.
- [66] M. De la Guardia, M.L. Hernandez, S. Sancenon, J.L. Carrion, *Colloids Surf.* **48** (1990) 57.
- [67] J.V. Hay, *Pestic. Sci.* **29** (1990) 247.
- [68] G.C. Galletti, G. Chiavari, F.A. Mellon, K. Parlsey, *J. Anal. Appl. Pyrolysis* **21** (1991) 239.
- [69] A.R. Long, L.C. Hsieh, M.S. Malbrough, C.R. Short, S.A. Barker, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **72** (1989) 813.
- [70] H.M. Brown, *Pestic. Sci.* **29** (1990) 263.
- [71] R.W. Reiser, A.C. Barefoot, R.F. Dietrich, A.J. Fogiel, W.R. Johnson, M.T. Scott, *J. Chromatogr.* **554** (1991) 91.
- [72] D.G. Thompson, L.M. MacDonald, *J. AOAC Int.* **75** (1992) 1084.
- [73] J.L. Prince, R.A. Guinivan, *J. Agric. Food Chem.* **36** (1988) 63.
- [74] M.C. Mahedero, J.-J. Aaron, *Analisis* **20** (1992) 53.
- [75] M.A. Kessler, O.S. Wolfbeis, *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.* **93** (1989) 927.
- [76] I. Ahmad, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **70** (1987) 745.
- [77] E.W. Zahnow, *J. Agric. Food Chem.* **30** (1982) 854.
- [78] I. Ahmad, G. Crawford, *J. Agric. Food Chem.* **38** (1990) 138.
- [79] M.M. Kelley, E.W. Zahnow, W.C. Petersen, S.T. Toy, *J. Agric. Food Chem.* **33** (1985) 962.
- [80] G. Dinelli, A. Vicari, P. Catizone, *J. Agric. Food Chem.* **41** (1993) 742.
- [81] R.V. Slates, *J. Agric. Food Chem.* **31** (1983) 113.
- [82] M.J.M. Wells, J.L. Michael, *J. Chromatogr. Sci.* **25** (1987) 345.
- [83] G. Nilvé, R. Stebbins, *Chromatographia* **32** (1991) 269.
- [84] A.L. Howard, L.T. Taylor, *J. Chromatogr. Sci.* **30** (1992) 374.
- [85] A.L. Howard, W.J. Yoo, L.T. Taylor, *J. Chromatogr. Sci.* **31** (1993) 401.
- [86] G. Nilvé, M. Knutsson, J.A. Joensson, *J. Chromatogr.* **688A** (1994) 75.
- [87] E.W. Zahnow, *J. Agric. Food Chem.* **33** (1985) 479.
- [88] E.W. Zahnow, *J. Agric. Food Chem.* **33** (1985) 1206.
- [89] R.V. Slates, *J. Agric. Food Chem.* **36** (1988) 1207.
- [90] E.G. Cotterill, *Pestic. Sci.* **34** (1992) 291.
- [91] P. Klaffenbach, P.T. Holland, *J. Agric. Food Chem.* **41** (1993) 396.
- [92] P. Klaffenbach, P.T. Holland, *Biol. Mass Spectrom.* **22** (1993) 565.
- [93] A.I. Hsiao, A.E. Smith, *Weed Res.* **23** (1983) 231.
- [94] A. Walker, P.A. Brown, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **30** (1983) 365.
- [95] H. Nilsson, *Weeds Weed Control* **25** (1984) 76.
- [96] D.W. Morishita, D.C. Thill, D.G. Flom, T.C. Campbell, G.A. Lee, *Weed Sci.* **33** (1985) 420.
- [97] W. Mersie, C.L. Foy, *Weed Sci.* **33** (1985) 564.
- [98] A.E. Smith, A.I. Hsiao, *Weed Sci.* **33** (1985) 555.
- [99] W. Iwanzick, H. Egli, *Proc. Brighton Crop Prot. Conf. Weeds* **3** (1989) 1145.
- [100] P. Gunther, A. Rahman, W. Pestemer, *Weed Res.* **29** (1989) 141.
- [101] D. Gomez de Barreda, E. Lorenzo, *Proc. Brighton Crop Prot. Conf. Weeds* **2** (1991) 515.

- [102] S.L. Sunderland, P.W. Santelmann, T.A. Baughman, *Weed Sci.* **39** (1991) 296.
- [103] M. Nord-Christerson, L. Bergstrom, *Proc. Brighton Crop Prot. Conf. Weeds* **3** (1989) 1127.
- [104] J.C. Hall, R.J.A. Deschamps, M.R. Mc Dermott, *Weed Technol.* **4** (1990) 226.
- [105] J.-M.A. Schlaeppli, W. Meyer, K. Ramsteiner, *J. Agric. Food Chem.* **40** (1992) 1093.
- [106] J.-M.A. Schlaeppli, A. Kessler, W. Foery, *J. Agric. Food Chem.* **42** (1994) 1914.
- [107] J.F. Brady, J. Turner, D.H. Skinner, *J. Agric. Food Chem.* **43** (1995) 2542.
- [108] G. Dinelli, A. Bonnetti, P. Catizone, G.C. Galletti, *J. Chromatogr.* **656B** (1994) 275.

Chapitre II

**Détermination des pesticides aromatiques et des herbicides
sulfonylurées par FIA avec détection fluorimétrique ou
fluorimétrique induite photochimiquement (FIP)**

I. INTRODUCTION

Nous présentons dans ce chapitre une étude de nos pesticides au moyen de la technique d'analyse par injection en flux (FIA, "*flow injection analysis*"). Après avoir brièvement rappelé les principes et les modalités d'application de la FIA, nous évaluerons de manière systématique son intérêt pour l'analyse environnementale des pesticides aromatiques et des herbicides sulfonylurées dans les formulations techniques ainsi que dans les eaux naturelles. Ainsi, nous essaierons de mettre en lumière les possibilités analytiques de cette technique. Comme dans le précédent chapitre, notre étude expérimentale sera divisée en deux parties: la première sera consacrée à une étude dans les milieux organiques et la seconde concerne les milieux organisés.

II. PRESENTATION DE LA FIA

La plupart des méthodes analytiques récentes sont fondées le plus souvent sur des appareillages sophistiqués dont le prix (investissement et maintenance) et la complexité d'emploi font qu'elles sont difficiles d'accès à un grand nombre de scientifiques. L'analyse par injection en flux (FIA) [1-9] est l'une des rares techniques à l'écart de cette règle générale. En effet, il s'agit d'une technique qui a suscité récemment un grand engouement en chimie analytique; elle permet moyennant une formation simple de l'opérateur, une instrumentation peu coûteuse et une grande souplesse d'utilisation, l'obtention rapide de résultats analytiques très reproductibles.

La FIA mise au point par Ruzicka et Hansen [1] vers le milieu des années soixante dix constitue une version simplifiée de l'analyse en flux segmenté par des bulles d'air; technique originalement développée en 1957 par Skeggs [10]. Elle consiste à injecter de faibles volumes d'échantillon (de l'ordre de quelques dizaines de μl) dans un système de flux de solvant en mouvement continu, non segmenté, circulant dans des tubes capillaires de faibles diamètre et propulsé par une pompe péristaltique (Fig. 1). L'échantillon injecté forme une zone bien définie qui est transportée vers le détecteur. Durant son transport, il est mélangé au flux de solvant de la phase mobile et éventuellement à d'autres réactifs qui peuvent être ajoutés séquentiellement au circuit en vue d'obtenir un produit de réaction. Lorsque l'échantillon à analyser (ou éventuellement son produit de réaction) passe devant le détecteur à flux continu, un signal transitoire est produit, puis enregistré. A l'instant de la détection, ni les processus physiques d'homogénéisation et de dispersion, ni les réactions chimiques qui ont lieu n'atteignent

nécessairement un état stable. La technique FIA appartient ainsi donc aux méthodes cinétiques d'analyse, et peut être considérée comme une méthode de mesure à temps fixe.

De plus, contrairement aux systèmes à flux segmenté, la technique FIA ne fait pas appel à la segmentation par des bulles d'air pour séparer les échantillons injectés, procédé utilisé en vue d'éviter une interaction entre deux échantillons successifs, phénomène désigné sous le nom de contamination inter-échantillon. Pour sauvegarder l'intégrité des échantillons, on veille à ce que les intervalles de temps entre les injections soient suffisamment longs pour permettre un rinçage suffisant du système.

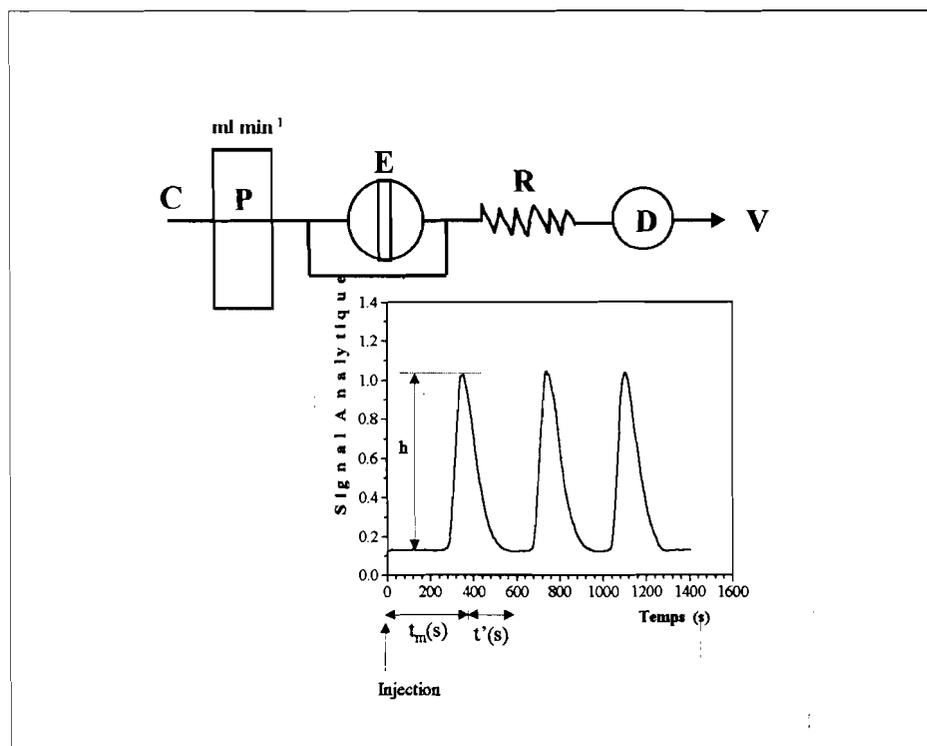


Fig. 1: Schéma général d'un système FIA simple. C: liquide porteur (phase mobile); P: pompe péristaltique; E: échantillon à injecter; R: Réacteur; D: détecteur; V: évacuation. En cartouche: FIA-gramme typique.

Les différentes composantes de base d'un système FIA (Fig. 1) comprennent: (i) une unité de propulsion; (ii) un système d'injection permettant l'insertion de l'échantillon sans interruption du flux; (iii) un module réactionnel dans lequel les réactions chimiques ou photochimiques ainsi que les processus de dispersion et d'homogénéisation se déroulent. Ce réacteur servant de relais entre les systèmes d'injection et de détection peut être fabriqué de diverses manières: il peut s'agir, soit d'un capillaire simple, enroulé autour d'un support ou tricoté, soit d'une chambre d'homogénéisation, soit d'un tube contenant une phase stationnaire

chimiquement inerte ou active, soit d'un photoréacteur commercial ou confectionné au laboratoire, soit d'un réacteur quelconque à usage spécifique, etc.; (iv) une cellule à flux incorporée dans un détecteur qui transmet le signal transitoire à un ordinateur; (v) un dispositif d'évacuation du flux.

Parmi les paramètres caractéristiques des FIA-grammes (cartouche dans la Fig. 1) on mentionnera: (i) la hauteur ou la surface des pics, proportionnelle à la concentration; (ii) le temps de résidence moyen t_m (s), défini comme le temps écoulé entre l'injection ($t = 0$) et le temps correspondant au maximum du signal analytique ($t = t_m$); (iii) le temps de retour t' (s), temps écoulé entre le maximum et la réapparition de la ligne de base.

Plusieurs variables peuvent affecter les FIA-grammes ainsi que les performances analytiques de la méthode, à savoir (i) la dispersion D , définie comme le rapport de la concentration de l'échantillon avant son injection (C_0) sur la concentration après injection et correspondant au maximum du pic (C_{max}) Eq. (1); (ii) le débit du flux V_p (ml min^{-1}) de la phase mobile; (iii) le volume de l'échantillon injecté V_i (μl); (iv) la longueur du réacteur L_r (cm).

$$D = \frac{C_0}{C_{max}} \quad (1)$$

La grande versatilité de cette technique est démontrée par les nombreuses variantes de la FIA, qui ont permis de résoudre plusieurs problèmes analytiques posés aux chercheurs [1-3,7]. On peut citer la procédure de la "boucle fermée", dans laquelle le flux recircule dans le système sans évacuation; le système de "pompe intermittente", comprenant par exemple une étape de flux arrêté; la "technique du gradient", basée sur la mesure du signal à un point autre que le maximum; la "zone d'échantillonnage", dans laquelle on introduit un second flux à un endroit précis du circuit; le système de "FIA inverse", dans lequel l'échantillon à analyser est mis en circulation dans le flux comme liquide porteur, pendant que le réactif est injecté; etc. Actuellement, la miniaturisation des systèmes au moyen de capillaires et de microconduits intégrés permettent d'obtenir des signaux et d'effectuer des analyses en des temps relativement courts.

III. ETUDE EXPERIMENTALE EN MILIEUX ORGANIQUES

Dans ce paragraphe, nous examinerons successivement l'application de la FIA à l'analyse de 8 pesticides aromatiques (bendiocarb, chlorophacinone, coumatétralyl, pirimiphos méthyl, deltaméthrine, diflubenzuron, fénitrothion et fenvalérate) en milieu organique à l'aide des deux méthodes de détection: fluorimétrique et fluorimétrique induite photochimiquement

(FIP). Nous rechercherons tout d'abord les conditions optimales de travail, avant de développer les procédures analytiques.

1. Optimisation et sélection des paramètres FIA

Certains paramètres comme les valeurs de I_F et du t_{irr}^{opt} et la nature du solvant ayant déjà été optimisés précédemment en solution stationnaire, les variables supplémentaires qu'il convient d'étudier comprennent: le débit du flux ou vitesse de la pompe (V_p , ml min⁻¹), le volume de la boucle d'injection (V_i , µl) ainsi que, dans le cas de la FIP, la longueur du réacteur photochimique (L_r , cm). L'influence de ces trois paramètres sur l'intensité de fluorescence ou de FIP des 8 pesticides étudiés a été examinée en employant soit l'eau, soit un solvant organique comme phase mobile. La procédure d'optimisation consiste à évaluer la réponse du signal d'une solution de concentration fixe en pesticide en maintenant constant l'un des paramètres et en faisant varier successivement les deux autres. Les valeurs optimales sont basées sur les résultats obtenus à la suite de trois injections successives d'une même concentration de pesticide.

1.1. Méthode fluorimétrique

Nous présentons dans la Fig. 2 l'effet de ces trois paramètres sur l'intensité de fluorescence de trois pesticides, en employant soit l'eau comme phase mobile (Fig. 2a-c), soit un solvant organique (Fig. 2d).

1.1.1. Influence du débit (V_p)

Le débit du flux a un effet négligeable sur l'intensité de fluorescence aussi bien avec l'eau (Fig. 2b,c), qu'avec l'acétonitrile (Fig. 2d) comme phase mobile. Toutefois, l'intensité du signal est légèrement plus grande pour les faibles débits dans les deux solvants. L'observation des FIA-grammes indique que la résolution des pics est très mauvaise aux faibles débits, ce phénomène étant plus accentué dans le cas de l'acétonitrile (Fig.2d). Lorsque la phase mobile est constituée d'acétonitrile, la résolution des pics du FIA-gramme est pratiquement la même pour les débits égaux ou supérieurs à 2.4 ml min⁻¹ (Fig. 2d). Par souci d'économie des solvants organiques de coût élevé, nous avons choisi pour la suite du travail une valeur optimale pour le débit qui limite à la fois la dispersion et la consommation excessive de solvant organique. Par contre, lorsque l'eau est utilisée comme phase mobile, nous avons optimisé le débit en

cherchant à obtenir la meilleure résolution possible des FIA-grammes obtenus et surtout les temps d'analyse les plus courts.

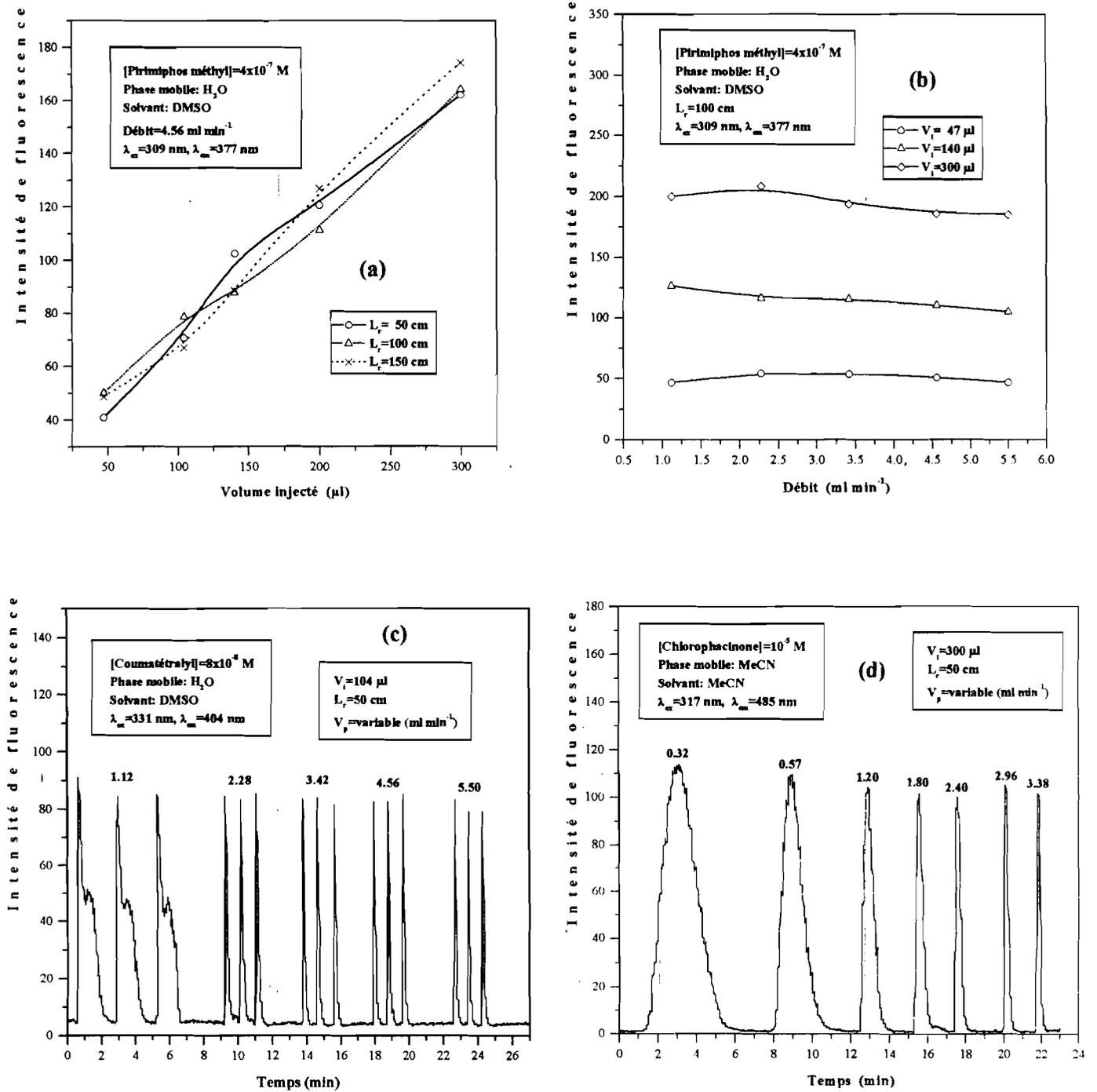


Fig 2: Optimisation des paramètres de la méthode fluorimétrique-FIA: (a) et (b), étude de l'influence de V_i , L_r et V_p sur le signal fluorimétrique; (c) et (d) mise en évidence de la mauvaise résolution des FIA-grammes pour les faibles débits avec (c) l'eau ou (d) l'acétonitrile comme phase mobile.

1.1.2. Influence du volume injecté (V_i)

Le volume injecté affecte considérablement le signal analytique (Fig. 2a,b): plus ce volume augmente, plus le signal est important. En effet, le pesticide injecté forme une zone bien définie à l'intérieur de ce système de flux de solvant en mouvement continu vers le détecteur. Comme la longueur de cette zone est proportionnelle au volume d'injection, ses temps d'exposition devant la source d'excitation s'accroissent proportionnellement. Il en résulte que les signaux obtenus seront plus intenses. Dans le cas des pesticides étudiés, nous n'avons pas observé de plateau [11] dans l'intervalle de V_i étudié (47-300 μl); nous avons donc retenu une valeur optimale de V_i correspondant à la limite supérieure de l'intervalle étudié.

1.1.3. Influence de la longueur du photoréacteur (L_r)

Comme on pouvait s'y attendre, la longueur L_r du photoréacteur n'a aucune influence sur I_F lorsqu'on fait varier le volume injecté (Fig. 2a) ou le débit; en effet, le photoréacteur n'est pas activé dans le mode de mesure fluorimétrique.

1.1.4. Choix des paramètres analytiques

Les valeurs optimales adoptées pour les variables de la méthode fluorimétrique-FIA sont résumées dans le Tableau 1: $L_r=50$ cm pour éviter des temps de résidence trop longs; $V_i=300$ μl pour la boucle d'injection; $V_p=3.42$ ml min^{-1} , 2.4 ml min^{-1} et 1.2 ml min^{-1} , respectivement pour l'eau, le méthanol et l'acétonitrile. Le débit est choisi en fonction de la nature du solvant et de son coût, en respectant les conditions déjà mentionnées ci-dessus (dispersion et consommation de solvant organique minimum). Il importe de souligner aussi que, dans ces conditions, la longueur totale, (L) parcourue par l'échantillon depuis son point d'injection jusqu'au détecteur est de 180 cm. Ces valeurs optimales permettent d'analyser les échantillons injectés en un temps minimum et avec une moindre dispersion.

1.1.5. Mesure du coefficient de dispersion (D)

Nous avons estimé le degré de dispersion (D) des échantillons injectés pour les trois éluants utilisés (H_2O , MeOH , MeCN). Mais, comme D est proportionnel au débit et à la racine carrée du temps de résidence moyen [4], nous avons réalisé cette mesure avec un débit minimum (1.2 ml min^{-1}), ce qui correspond à une situation de compromis pour nos pesticides. La valeur de D mesurée à une concentration donnée ($C_0 = 10^{-5}$ M) de chlorophacinone selon la

procédure classique [4-6], est de 1.00 ± 0.01 ; ce résultat montre que la dispersion D est pratiquement négligeable pour les échantillons injectés.

1.2. Méthode FIP

Les temps d'irradiation optimaux ($t_{\text{irr}}^{\text{opt}}$) des quatre pesticides déjà déterminés en solution stationnaire sont relativement longs ($t_{\text{irr}}^{\text{opt}} \geq 10$ min), ce qui indique que les réactions de dégradation photochimique sont relativement lentes. C'est donc la valeur de $t_{\text{irr}}^{\text{opt}}$ qui devrait conditionner le choix des deux autres variables FIA (V_p et L_r) qui n'influencent pas la sensibilité de la méthode fluorimétrique-FIA.

Nous présentons dans la Fig. 3 l'influence des trois paramètres (V_p , V_i et L_r) sur l'intensité de FIP de deux pesticides: le fénitrothion et la fenvalérate, en employant soit l'eau (Fig. 3a,b), soit un solvant organique (Fig. 3c,d) comme phase mobile.

1.2.1. Influence du débit (V_p)

Le débit de la pompe a une influence importante sur la sensibilité de la méthode FIP-FIA. En effet, l'intensité du signal décroît rapidement lorsque le débit augmente, cette décroissance étant plus rapide avec un solvant organique (Fig. 3c) qu'avec l'eau (Fig. 3b) comme phase mobile. Nous présentons dans la Fig. 4 un exemple de l'évolution des FIA-grammes obtenus en faisant passer le débit du solvant organique de 0.57 à 3.38 ml min^{-1} pour différents volumes d'injection (47, 104 et 300 μl). Dans les trois cas, il disparaît environ 82 % de l'intensité du signal lorsque le débit passe de 0.57 à 3.38 ml min^{-1} . Ces variations importantes s'expliquent par le fait que le temps de résidence t_r (s) du pesticide injecté dans le réacteur photochimique est plus long aux faibles débits, ce qui accroît le taux de conversion du pesticide, tandis qu'aux grands débits, la concentration du photoproduit formé est faible, ce qui réduit le signal FIP.

1.2.2. Influence du volume injecté (V_i)

Quand le temps de résidence dans le photoréacteur est assez long ($L_r = 100, 150$ cm), l'intensité du signal FIP augmente considérablement avec le volume injecté (Fig. 3a,d). Quand ce temps de résidence devient trop court ($L_r = 50$ cm), le signal FIP est pratiquement constant. Comme dans le cas des pesticides naturellement fluorescents, l'augmentation du signal avec le volume d'injection est due au fait que les temps d'exposition devant le détecteur de la zone

contenant l'échantillon injecté sont plus longs pour de plus grands volumes d'injection. Pour les solvants organiques, le signal FIP ne se stabilise qu'aux grands débits (Fig. 3c) ainsi qu'aux faibles longueurs de photoréacteur (Fig. 3a,d), l'échantillon injecté passant trop rapidement devant la lampe de photolyse et les photoproduits n'ayant pas le temps de se former. Par contre avec l'eau comme phase mobile, le comportement est différent, puisque le signal FIP est pratiquement constant aux faibles débits quel que soit le volume injecté (Fig. 3b), ce qui signifie que la quantité de photoproduit formée est presque maximale aux faibles débits.

1.2.3. Influence de la longueur du photoréacteur (L_r)

Les Figs. 3a et 3d montrent que l'augmentation de la longueur du réacteur dans l'intervalle 50-250 cm provoque une exaltation des signaux FIP obtenus. En effet, pour une valeur constante du débit, le temps de résidence dans le réacteur t_r (s) varie proportionnellement avec la longueur du réacteur, donc avec le taux de conversion photochimique du pesticide injecté. Les signaux FIP seront donc plus importants pour les réacteurs les plus longs.

1.2.4. Choix des paramètres analytiques

Les valeurs sélectionnées pour les variables photochimique fluorimétrique-FIA sont résumées dans le Tableau 1. Le volume d'injection (300 μ l) et la longueur du photoréacteur (250 cm) sont identiques pour tous les pesticides, tandis que le débit est de 0.571 ml min⁻¹ pour le fénitrothion, 0.314 ml min⁻¹ pour la fenvalérate et la deltaméthrine et 0.331 ml min⁻¹ pour le diflubenzuron.

Le choix du débit est fonction du temps d'irradiation optimal (t_{irr}^{opt}) du pesticide étudié, lequel dépend aussi du solvant d'analyse. Ainsi, pour les pesticides possédant des valeurs relativement élevées de t_{irr}^{opt} (≥ 10 min), il s'avère nécessaire d'utiliser de faibles débits afin d'accroître le taux de conversion photochimique.

1.2.5. Mesure du coefficient de dispersion (D)

Nous avons estimé la dispersion (D) des échantillons pour les quatre pesticides selon le même protocole que précédemment. Nous avons employé le débit le plus faible (0.314 ml min⁻¹) pour une concentration ($C_0=5 \times 10^{-6}$ M) de la fenvalérate, avec l'acétonitrile comme phase mobile. Nous avons trouvé une valeur de $D=1.26 \pm 0.05$. La dispersion s'avère donc légèrement plus grande pour la détection FIP que pour la détection fluorimétrique. Ce résultat

montre que le dosage des pesticides injectés peut être effectué dans des conditions satisfaisantes.

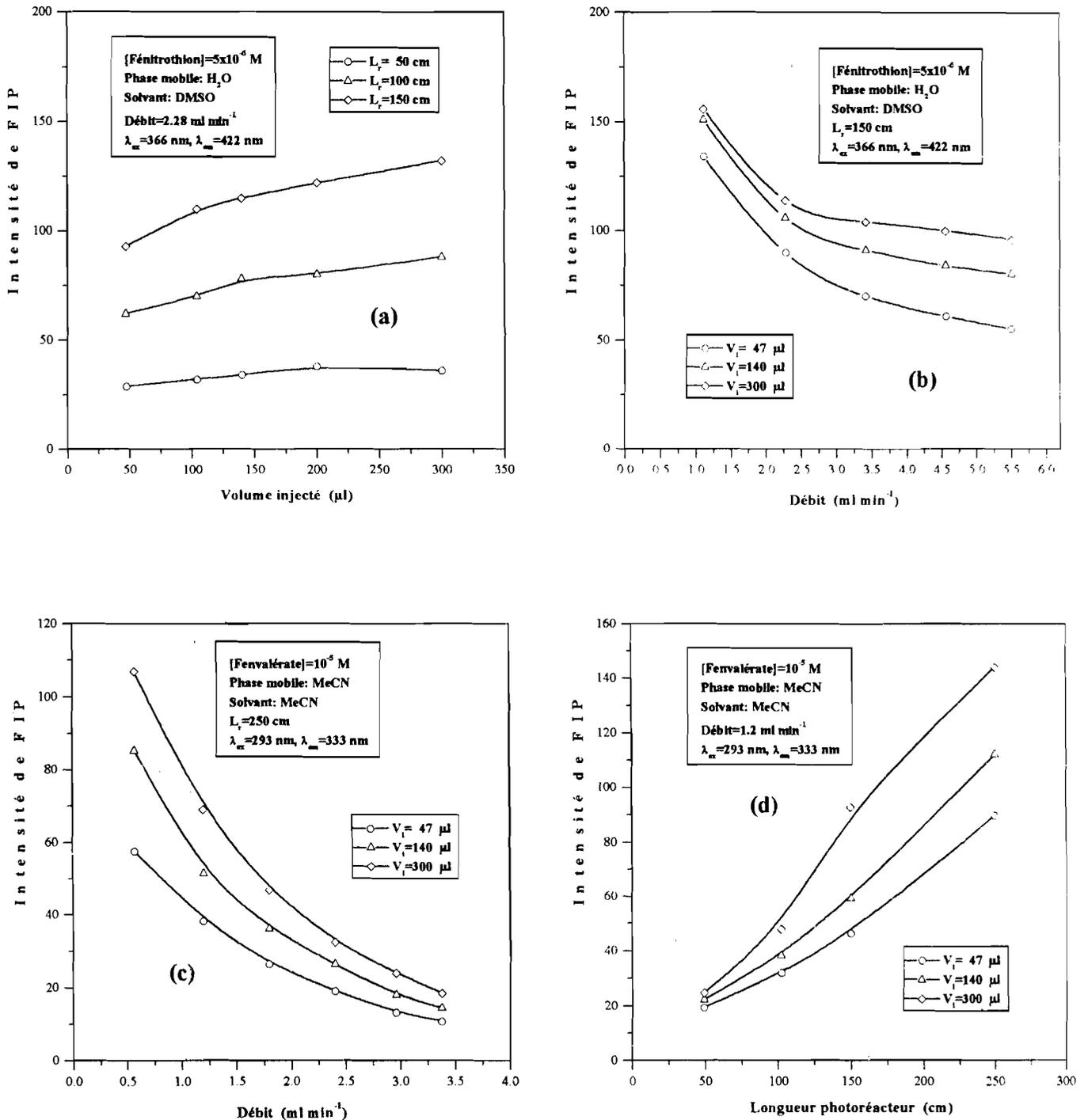


Fig. 3: Optimisation des paramètres de la méthode FIP-FIA: effet de V_i , (a), V_p (b,c) et L_r (d) sur l'intensité de FIP du fénitrothion (a,b) et de la fenvalérate (c,d). Phase mobile: (a,b) eau; (c,d) acétonitrile.

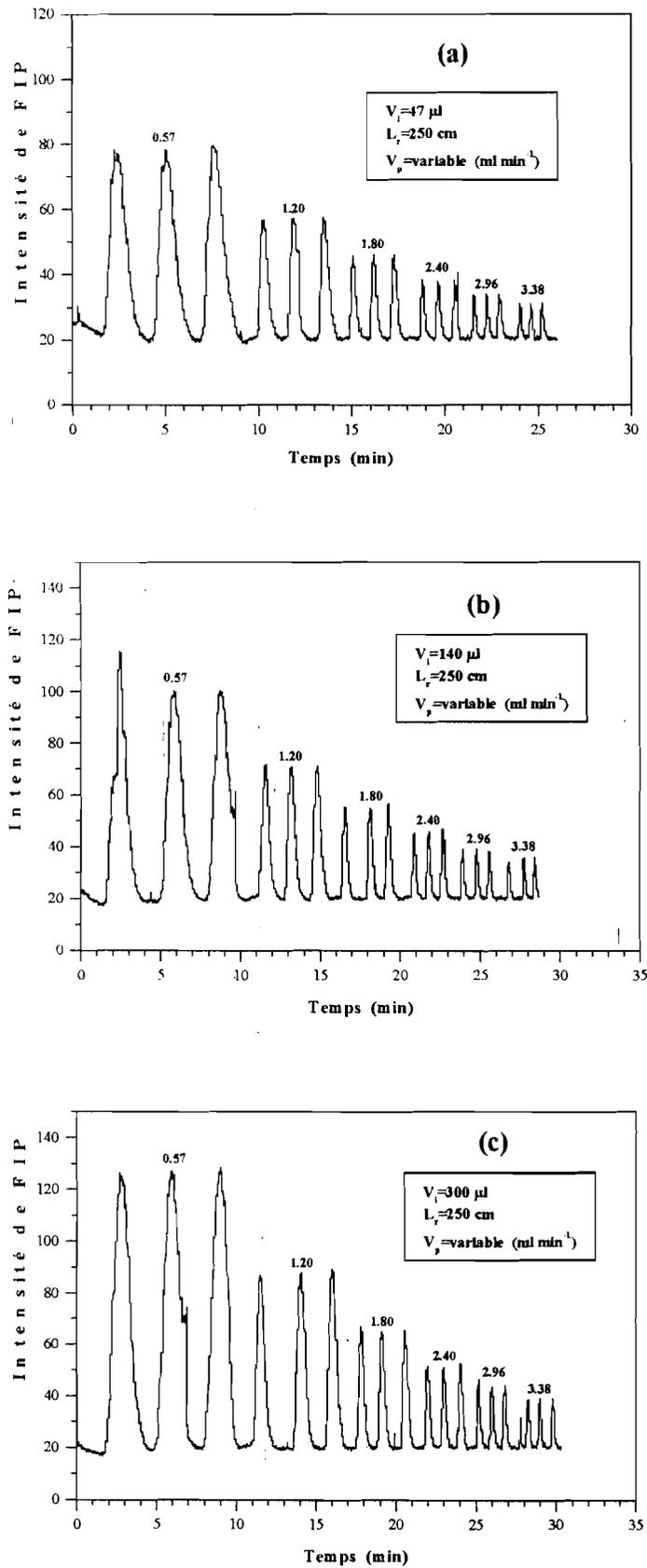


Fig. 4: Exemple d'évolution de l'intensité FIP de la fenvalérate ($C=10^5 \text{ M}$) avec le débit pour trois volumes d'injection différents: $\lambda_{\text{ex}}=293 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}}=333 \text{ nm}$, phase mobile = MeCN, solvant d'analyse = MeCN.

Tableau 1: Conditions analytiques optimales en FIA pour les détections fluorimétrique et FIP.

Pesticide	Phase mobile	Solvant ^a d'analyse	$\lambda_{ex} / \lambda_{em}$ (nm)	Débit (ml min ⁻¹)	Volume injecté (μl)	Longueur du réacteur (cm)
Méthode fluorimétrique						
Bendiocarb	MeCN	MeCN	277/355	1.20	300	50
Chlorophacinone	MeCN	MeCN	318/485	1.20	300	50
Coumatétralyl	H ₂ O	DMSO	331/404	3.42	300	50
Pirimiphos méthyl	MeOH	MeOH	306/366	2.40	300	50
Méthode FIP						
Deltaméthrine	EtOH	EtOH	291/317	0.314	300	250
Diflubenzuron	2-PrOH	2-PrOH	343/407	0.331	300	250
Fénitrothion	H ₂ O	DMSO	366/422	0.571	300	250
Fenvalérate	MeCN	MeCN	293/333	0.314	300	250
Sumicombi (fenvalérate)	MeOH	MeOH	295/338	0.571	300	250

^aSolvant dans lequel le pesticide a été solubilisé avant injection.

2. Performances analytiques

Nous avons établi les droites d'étalonnage fluorimétrique et FIP suivant le même protocole expérimental qu'en solution stationnaire. Les performances analytiques des deux méthodes FIA sont rassemblés dans le Tableau 2. La précision des résultats obtenus est satisfaisante, car la reproductibilité est comprise entre 1.4 et 5.8%. Les domaines de linéarité des droites d'étalonnage sont assez larges, puisqu'ils s'étendent sur environ deux ordres de grandeurs en concentration. Les limites de détection absolues (LDA) sont relativement basses, allant d'environ 20 pg à 22 ng selon le composé.

Tableau 2: Paramètres analytiques des droites d'étalonnage fluorimétrique et FIP en FIA.

Pesticide	Domaine de linéarité (ng ml ⁻¹)	Pente ^a	r ^b	LDA ^c (ng)	LQA ^c (ng)	DSR ^d (%)
Méthode fluorimétrique						
Bendiocarb	100-15700	0.89	0.998	22	89	2.3
Chlorophacinone	20-3800	0.81	0.999	1.7	7	5.8
Coumatétralyl	0.1-20	0.89	0.998	0.02	0.08	1.4
Pirimiphos méthyl	2-310	0.91	0.998	0.4	1.5	3.3
Méthode FIP						
Deltaméthrine	70-10100	0.79	0.999	18	76	3.2
Diflubenzuron	90-12500	1.06	0.999	19	80	4.7
Fénitrothion	10-4440	0.70	0.993	2.8	12	3.6
Fenvalérate	40-2700	0.89	0.998	11	40	2.5
Sumicombi (fenvalérate) ^e	80-3400	0.73	0.993	3.8	14	1.4

^aPente des droites log-log de calibration; ^bCoefficient de corrélation; ^cLimites de détection et de quantification absolues (calculée à partir du volume d'injection optimale correspondant), est définie comme étant la concentration de pesticide correspondant au rapport signal/bruit égal, respectivement, à 3 et 10; ^dDéviations standard relatives (n=3); ^eSeule la fenvalérate peut être dosée dans ces conditions de milieu, car le fénitrothion n'est pas fluorescent dans le méthanol.

3. Applications analytiques

Les applications analytiques ont été effectuées sur des formulations techniques ainsi que sur des eaux fortifiées avec les pesticides. La méthode d'addition standard nous a permis d'évaluer simultanément les effets de matrices ainsi que la teneur en pesticide des échantillons techniques et des eaux fortifiées.

3.1. Analyse des formulations techniques

3.1.1. Evaluation des effets de matrices: méthode d'addition standard

Les pourcentages de récupération obtenus sont consignés dans le Tableau 3, sauf pour le bendiocarb et la deltaméthrine, pour lesquels les pourcentages de récupération n'ont pu être déterminés en raison d'effets d'exaltation du signal de fluorescence par les co-extractants de l'échantillon réel.

Tableau 3: Pourcentages de récupération des pesticides dans les formulations techniques par la méthode d'addition standard.

Pesticide	Domaine de concentration (ng ml ⁻¹)	Récupération ^a (%)	Déviations au parallélisme (%) ^b
Méthode fluorimétrique			
Chlorophacinone	18-3760	90.3-112.2	4.5
Coumatétralyl	2-17	94.8-101.4	0.5
Pirimiphos méthyl	12-306	91.9-113.4	14.9
Méthode FIP			
Diflubenzuron	180-12500	87.7-105.7	2.4
Fénitrothion	2-111	95.5-106.8	2.9
Sumicombi (fenvalérate)	84-2940	91.6-107.9	0.8

^aTaux effectif de pesticide après addition standard; ^bDifférence (en valeur relative) entre les pentes des droites d'étalonnage et d'addition standard.

Pour la méthode fluorimétrique, la moyenne des pourcentages de récupération varie entre environ 97.9 et 104.8% avec une déviation standard relative de 2.0 à 7.5%, ce qui montre que les effets de matrices sont minimisés. Dans le cas du bendiocarb, malgré un nouveau changement de solvant d'extraction (l'eau étant utilisée pour la méthode FIA), nous avons été confronté aux mêmes problèmes que ceux rencontrés précédemment en solution stationnaire, et nous n'avons donc pas pu faire une application analytique pour ce pesticide dans une formulation technique. Dans le cas du chlorophacinone, le changement du solvant d'extraction (n-hexane au lieu d'acétonitrile) a permis d'éliminer certains co-extractants

interférents lors de sa détermination en solution stationnaire, et d'obtenir des pourcentages de récupération satisfaisants ($100.8 \pm 7.5\%$) en FIA. Pour la coumatétralyl et le pirimiphos méthyl, nous avons conservé les mêmes solvants d'extraction qu'en solution stationnaire, les pourcentages de récupération étant pratiquement les mêmes.

Les droites d'étalonnage et d'addition standard présentent un parallélisme remarquable (0.5 à 4.5% de déviation au parallélisme), sauf dans le cas du pirimiphos méthyl pour lequel on observe une différence de pente notable de 15% (Tableau 3).

Pour la méthode FIP, la moyenne des pourcentages de récupération obtenus (entre 96.5 et 101.2% avec une déviation standard relative de 3.7 à 7.3%) est satisfaisante et montre que les interférences de matrices sont négligeables. Dans le cas du sumicombi, la détection simultanée des deux pesticides est plus délicate à réaliser en FIA. En solution stationnaire, l'utilisation du DMSO comme solvant d'analyse avait permis de détecter sélectivement l'un des constituants du mélange, (le fénitrothion). La sélectivité du solvant (le MeOH dans le cas présent) a été utilisée en FIA pour détecter le second constituant, (la fenvalérate). Nous n'avons pas évalué à nouveau les interférences mutuelles d'espèces chimiques, puisque ce travail a déjà été réalisé précédemment. Les droites d'étalonnage et d'addition standard de la fenvalérate dans le sumicombi (Fig. 5) ont été établies en ajoutant au contenu de chaque fiole une même quantité de fénitrothion (8 fois plus forte que la fenvalérate) de façon à compenser les effets éventuels d'interférences.

3.1.2. Evaluation des teneurs des formulations techniques

En appliquant une procédure d'extrapolation à chaque droite d'étalonnage, nous avons calculé les teneurs des pesticides dans les formulations techniques (Tableau 4).

Dans le cas de la méthode fluorimétrique, les concentrations de la coumatétralyl et du pirimiphos méthyl sont nettement plus faibles que les valeurs affichées des formulations techniques. Par rapport aux mesures effectuées en solution stationnaire, nous trouvons pratiquement le même déficit (45%) pour la coumatétralyl tandis que dans le cas du pirimiphos méthyl, le déficit est plus important (53% contre 70%). Par contre, le changement du solvant d'extraction dans le cas du chlorophacinone a permis une détermination plus fiable de ce pesticide dont le déficit est seulement de 85% de la valeur affichée.

Tableau 4: Teneurs en pesticides des formulations techniques étudiés.

Pesticide	Type de formulation ^a (taux de matière active)	Solvant d'extraction	Solvant ^b d'analyse	Nouvelles ^c teneurs
Méthode fluorimétrique				
Chlorophacinone	ULV (2.5 g l ⁻¹)	n-Hexane	MeCN	2.12 g l ⁻¹ (85 %)
Coumatétralyl	DP (0.0375 %)	EtOH	DMSO	0.0167 % (45 %)
Pirimiphos méthyl	DP (2 %)	MeOH	MeOH	1.06 % (53 %)
Méthode FIP				
Diflubenzuron	ULV (450 g l ⁻¹)	MeOH	2-PrOH	23.5 g l ⁻¹ (6 %)
Fénitrothion	DP (3 %)	DMSO	DMSO	1.66 % (56 %)
Sumicombi (Fenvalérate)	CE (féni: 250 g l ⁻¹ + fenv: 50 g l ⁻¹)	n-Hexane	MeOH	47.9 g l ⁻¹ (96 %) ^d

^aConcentration affichée de pesticide dans les formulations techniques; ^bSolvant dans lequel le pesticide est solubilisé avant son injection; ^cConcentration ou teneur obtenue après dosage par notre méthode: les pourcentages de ces concentrations par rapport aux concentrations affichées sont données entre parenthèse; ^dSeule la fenvalérate a été dosée.

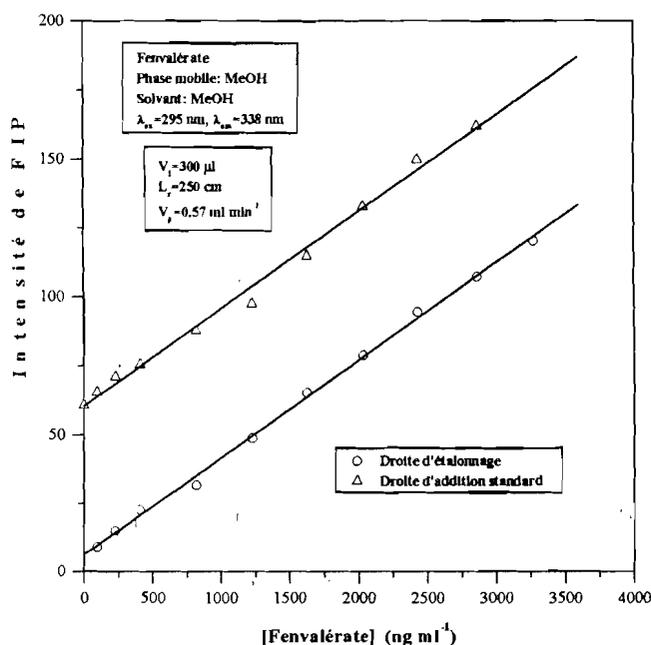


Fig. 5: Droites (O) d'étalonnage et (Δ) d'addition standard de la détermination de la fenvalérate dans le sumicombi par FIA-FIP; ($\lambda_{ex}=295\text{ nm}$, $\lambda_{em}=338\text{ nm}$, phase mobile = MeOH, solvant = MeOH).

Pour la méthode FIP, des modifications importantes ont été notées quand on passe des mesures en solution stationnaire aux mesures FIA. Dans le cas du fénitrothion pour lequel le solvant d'extraction est le même, le déficit est plus important en FIA, (56% contre 91% en solution stationnaire). Un comportement identique a été constaté pour le pirimiphos méthyl,

autre pesticide organophosphoré. Compte tenu de la température normale de conditionnement de 4 °C de ces deux organophosphorés, il est probable qu'une dégradation thermique de ces deux composés ait pu se produire dans l'intervalle de temps (environ un an) séparant les mesures effectuées en solution stationnaire de celles obtenues par FIA. La fenvalérate conserve encore une bonne partie de sa teneur initiale (96%) contrairement au fénitrothion pour lequel une teneur de 54% de la concentration affichée dans le mélange binaire sumicombi avait été déterminée en solution stationnaire. En ce qui concerne le diflubenzuron, le déficit important constaté (6%) est probablement dû à l'emploi du méthanol comme solvant d'extraction. En effet, ce pesticide s'avère très difficile à solubiliser dans les solvants de faible polarité ainsi que dans les alcools. Il est donc recommandé pour le diflubenzuron, d'employer des solvants de forte polarité (DMSO, MeCN) pour les procédures d'extraction.

3.2. Analyse des eaux fortifiées en pesticides

Nous avons examiné l'application de la FIA avec détection fluorimétrique ou FIP à la détermination de ces pesticides dans des échantillons d'eau du robinet. Après avoir fortifié un volume d'eau avec l'un des quatre pesticides sélectionnés (bendiocarb, chlorophacinone, fenvalérate et deltaméthrine), nous avons établi les droites d'étalonnage et d'addition standard (Fig. 6, Tableau 5) à partir desquelles les taux de récupération des échantillons fortifiés ont été évalués (Tableau 6). Nous avons sélectionné les mêmes paramètres analytiques que précédemment (Tableau 1).

Tableau 5: Performances analytiques de la détermination par FIA des pesticides dans l'eau.

Pesticide	$\lambda_{ex} / \lambda_{em}$	Solvant ^a d'analyse	Domaine de linéarité ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	pen ^b	r ^c	LDA ^d (ng)	DSR ^e (%)
Bendiocarb	278/354	MeCN/H ₂ O	2-32	0.85	0.997	96	5.2
Chlorophacinone	323/495	MeCN/ H ₂ O	0.7-5.3	1.17	0.993	34	3.3
Deltaméthrine	291/319	EtOH/ H ₂ O	0.1-15.2	0.98	0.995	25	7.9
Fenvalérate	284/326	MeOH/ H ₂ O	0.2-3.4	1.11	0.996	24	3.6

^aSolvant d'analyse contenant une teneur d'eau variable selon le pesticide (18% H₂O pour le bendiocarb, 19.4% H₂O pour le chlorophacinone et 9.2% H₂O pour les deux pyréthroides); la phase mobile étant constituée par le même solvant; ^bPente des droites log-log de calibration; ^cCoefficient de corrélation; ^dLimites de détection absolues (calculée avec le volume d'injection correspondant), est définie comme étant la concentration de pesticide correspondant à un rapport signal/bruit égale à 3; ^eDéviati^on standard relative (n=3).

Tableau 6: Taux de récupération des pesticides dans l'eau par FIA.

Pesticide	Concentration ^a ajoutée ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	Concentration ^b trouvée ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	Récupération (%)	Déviaton au parallélisme (%) ^c
Bendiocarb	4.48	4.51 ± 0.07	100.7	0.56
Chlorophacinone	2.26	2.00 ± 0.09	88.5	12.23
Deltaméthrine	0.51	0.49 ± 0.01	96.1	1.11
Fenvalérate	0.42	0.46 ± 0.01	109.5	0.41

^aTaux de fortification; ^bMoyenne de la concentration trouvée par la méthode directe (interpolation) et par la méthode d'addition standard (extrapolation); ^cDifférence (en valeur relative) entre les pentes des droites d'étalonnage et d'addition standard.

Pour l'ensemble des quatre pesticides, les taux de récupération des échantillons d'eau fortifiés sont satisfaisants (entre 89 et 110%, Tableau 6). En revanche, la sensibilité est moins bonne car les LD sont plus élevées que celles déterminées dans les solvants organiques purs (Tableau 2), en raison des traces d'eau qui exercent un effet inhibiteur sur l'émission de fluorescence des pesticides.

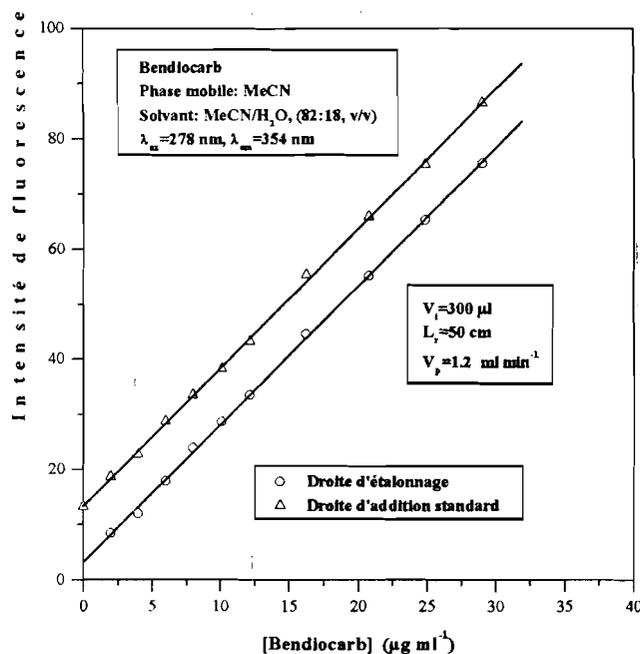


Fig. 6: Droites (O) d'étalonnage et (Δ) d'addition standard de la détermination du bendiocarb dans l'eau par FIA ($\lambda_{\text{ex}}=278 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}}=354 \text{ nm}$, phase mobile = MeCN, solvant=MeCN+18% H₂O).

4. Fréquence des échantillonnages et consommation d'éluant

Pour l'ensemble des huit pesticides, nous avons évalué les temps de résidence t_r (s) dans le photoréacteur et le temps de résidence moyen t_m (s) dans le circuit.

$$t_r(\text{s}) \text{ se définit selon l'équation (2): } t_r = \frac{V_r}{V_p} \cdot 60 \quad (2)$$

Avec V_r : volume du photoréacteur (en ml) et V_p : flux de la phase mobile (en ml min⁻¹). La valeur de t_r (s) a été déterminée à partir des variables FIA optimales; il n'a de signification que pour les pesticides fluorescents photochimiquement.

Nous avons aussi mesuré t_m (s) pour chaque débit à l'aide d'un chronomètre, ce qui nous a permis d'évaluer la fréquence maximale des échantillonnages (S_f) en échantillon par heure (éch h⁻¹) et la consommation maximale (R_c) d'éluant en millilitre par échantillon (ml éch⁻¹). t_m (s) se définit comme étant le temps écoulé entre l'injection ($t = 0$) et le temps correspondant au maximum du signal analytique ($t = t_m$). L'ensemble des résultats obtenus sont donnés dans le Tableau 7.

Tableau 7: Fréquences des échantillonnages et consommation d'éluant.

Pesticide	Phase mobile	Débit (ml min ⁻¹)	t_r (s) ^a	t_m (s) ^b	S_f (éch h ⁻¹) ^c	R_c (ml éch ⁻¹) ^d
Méthode fluorimétrique						
Bendiocarb	MeCN	1.20	5	58	62	1.16
Chlorophacinone	MeCN	1.20	5	58	62	1.16
Coumatétralyl	H ₂ O	3.42	2	20	180	1.14
Pirimiphos méthyl	MeOH	2.40	3	29	124	1.16
Méthode FIP						
Deltaméthrine	EtOH	0.314	94	295	33	0.57
Diflubenzuron	2-PrOH	0.331	89	280	35	0.57
Fénitrothion	H ₂ O	0.571	52	162	61	0.56
Fenvalérate	MeCN	0.314	94	295	33	0.57

^aTemps de résidence dans le photoréacteur; ^bTemps de résidence moyen dans le circuit; ^cFréquence maximale des échantillonnages; ^dConsommation maximale d'éluant.

$$S_f(\text{éch} \cdot \text{h}^{-1}) = \frac{3600}{t_m(\text{s})} \quad (3);$$

$$S_f(\text{éch} \cdot \text{h}^{-1}) \approx 4 \cdot 10^4 \cdot \frac{V_p(\text{ml} \cdot \text{min}^{-1})}{D \cdot V_i(\mu\text{l})} \quad (4);$$

$$R_c(\text{ml} \cdot \text{éch}^{-1}) = \frac{V_p(\text{ml} \cdot \text{min}^{-1})}{S_f(\text{éch} \cdot \text{h}^{-1})} \cdot 60 \quad (5).$$

En FIA, le procédé d'injection peut être effectué de deux manières différentes: (i) soit par l'injection individuelle de chaque échantillon après un temps donné, de préférence égal à t_m pour obtenir une meilleure synchronisation; (ii) soit par des injections de deux ou plusieurs échantillons, espacées à des intervalles réguliers.

Nous avons utilisé la première approche pour les pesticides naturellement fluorescents, les fréquences d'échantillonnage étant évaluées à l'aide de l'équation (3). Par contre, pour les pesticides photochimiquement fluorescents, dont les temps de résidence moyens (t_m) sont plus longs, la seconde démarche a été employée (injection de trois échantillons dans le circuit à des intervalles de temps sensiblement égaux à t_r). Nous avons pu ainsi améliorer la fréquence des échantillonnages en appliquant l'équation (4) [4].

Nous avons pu effectuer par cette méthode environ 61 éch h^{-1} au lieu de 22 éch h^{-1} pour le fénitrothion, 33 éch h^{-1} au lieu de 12 pour la fenvalérate et la deltaméthrine et 35 éch h^{-1} au lieu de 13 pour le diflubenzuron.

Pour établir une droite d'étalonnage comportant 10 points, on doit disposer de 30 échantillons (30 injections). Par conséquent, l'établissement d'une droite d'étalonnage, suivie d'une addition standard correcte avec le même nombre de points pour chaque droite, nécessitera un temps de travail d'environ: 20 min pour la coumatétralyl; 30 min pour le pirimiphos méthyl; 1 heure pour le bendiocarb, le chlorophacinone et le fénitrothion; 2 heures pour la fenvalérate, la deltaméthrine et le diflubenzuron.

La consommation de réactif par échantillon est faible ce qui montre que la FIA est moins coûteuse en solvant que la méthode stationnaire.

5. Remarques conclusives

Il est clair que le principal intérêt de l'automatisation des procédés d'analyse chimique est de pouvoir étudier le plus grand nombre d'échantillons dans le temps le plus court. Cette flexibilité est indispensable dans beaucoup de laboratoires cliniques et/ou industriels dans lesquels la précision de la mesure est également essentielle.

La combinaison de la détection fluorimétrique et/ou FIP avec la FIA a permis la détermination quantitative directe des pesticides aromatiques avec une précision satisfaisante. La technique est facile à mettre en œuvre, rapide et ne nécessite qu'un matériel peu coûteux. En effet, les accessoires de base de la FIA peuvent être facilement assemblés à partir d'équipements classiques (déjà existant dans les laboratoires), simples et peu onéreux. Un montage particulièrement simple a été utilisé dans ce travail; d'autres systèmes [1-7] donnent

aussi des résultats satisfaisants, ce qui indique que des variations notables des paramètres analytiques peuvent être tolérées sans diminution appréciable des performances de la méthode. Ainsi, la FIA constitue une méthode largement accessible aux laboratoires ne disposant pas d'un appareillage sophistiqué.

Néanmoins, les valeurs des LD obtenues par FIA surtout dans le cas des pesticides photochimiquement fluorescents montrent que cette méthode est moins performante pour l'analyse de composés possédant des temps de réaction ou de photoréaction relativement longs. Ruzicka et Hansen [4] ont d'ailleurs prévu des performances analytiques moyennes pour des composés ayant des temps de résidence moyens supérieurs à 30 s, valeur maximum pour atteindre une fréquence des échantillonnages supérieure à 100 éch h⁻¹.

Toutefois, il est possible d'utiliser en FIA les tensioactifs, composés connus pour améliorer dans certains cas, la sensibilité et/ou la sélectivité des méthodes analytiques de luminescence [12]. C'est cette approche fondée sur les milieux micellaires que nous nous proposons d'employer en vue d'augmenter les performances de la méthode de FIP en FIA.

IV. ETUDE EN MILIEUX MICELLAIRES

Ce paragraphe est consacré à l'étude par fluorescence induite photochimiquement couplée avec l'analyse par injection en flux (méthode FIP-FIA) de quatre herbicides sulfonylurées en milieux micellaires. Ces herbicides ont été largement étudiés dans la littérature par d'autres techniques analytiques (chapitre 1, paragraphe III.2.3.7). Cependant, la méthode FIP est originale en ce sens qu'elle n'a jamais été utilisée pour ces composés. De plus, l'usage de solutions aqueuses micellaires comme phase mobile en FIA est encore très peu répandu, de tels milieux n'ayant été proposés que dans le cas de l'analyse de métaux [13] et de composés d'intérêt pharmaceutique [14,15]. Après avoir optimisé les conditions analytiques, nous évaluerons l'utilité de cette méthode à l'analyse des échantillons d'eau du fleuve fortifiés.

1.Optimisation et sélection des variables analytiques

1.1. Effet de la phase mobile micellaire

Nous avons trouvé précédemment que le signal FIP de ces herbicides est maximal dans certaines micelles et à un pH bien défini (chapitre 1, paragraphe III.2.3.5). Nous avons donc commencé par chercher les conditions optimales d'association de ces deux variables dans les

différentes parties d'un système FIA. Autrement dit, il s'agit de déterminer la composition de la phase mobile et du solvant d'analyse donnant le meilleur signal analytique.

L'eau, des solutions aqueuses de NaOH (0.01 M) ou tamponnées à pH 7 et 9 ainsi que des solutions aqueuses micellaires (neutres ou contenant soit du NaOH (0.01 M), soit des solutions tampon pH 7 et 9) ont été systématiquement testées (Fig. 7). Ces expériences préliminaires ont été menées avant et après les procédures d'optimisation des variables FIA (V_p , V_i et L_r). Les résultats obtenus (Tableau 8) montrent que: (i) l'eau ne doit pas être utilisée comme phase mobile, sauf pour le metsulfuron méthyl (Fig. 7, scénarios 5 et 6); (ii) la présence de NaOH (0.01 M) ou de la solution tampon pH 7 dans le solvant d'analyse est nécessaire dans le cas de trois herbicides: chlorsulfuron, metsulfuron méthyl et 3-rimsulfuron (Fig. 7, scénarios 3b et 4b); (iii) quelle que soit la nature de la phase mobile, l'addition de tensioactif dans le solvant d'analyse ne fournit pas un meilleur signal, sauf dans le cas du metsulfuron méthyl pour lequel les micelles stabilisent le photoproduit fluorescent qui est instable dans l'eau pure (chapitre 1, paragraphe III.2.3.4).

Par contre, on obtient de meilleurs résultats analytiques lorsqu'une phase mobile micellaire est utilisée sans tensioactif dans le solvant d'analyse. Ce résultat peut s'interpréter en considérant que l'emploi d'un solvant analytique non micellaire facilite la réalisation de réactions de photolyse avant que le processus d'homogénéisation n'ait lieu entre l'échantillon injecté et la phase mobile micellaire. Dans ces conditions, les photoproduits sont générés à l'extérieur des micelles et peuvent s'insérer ensuite à l'intérieur des micelles pendant le processus d'homogénéisation, ce qui augmente le rendement quantique de fluorescence. Au contraire, dans le cas où un solvant analytique micellaire serait employé, les réactions de photolyse se produiraient avec les molécules d'herbicide déjà incorporées dans les micelles; en conséquence, plusieurs photoproduits se formeraient au sein d'une même micelle, entraînant un effet d'inhibition de fluorescence et une diminution du signal analytique FIP. En effet, il a été démontré que la cosolubilisation de solutés multiples dans les micelles produisait des interactions intermoléculaires, provoquant des phénomènes de compétition avec la fluorescence, ce qui diminuait la sensibilité [16].

Les conditions analytiques optimales ont été résumées dans le Tableau 8. Le facteur d'exaltation de la phase mobile micellaire (FEPMM), défini comme le rapport des intensités FIP mesurées avec la phase mobile micellaire et avec une phase mobile non micellaire varie entre 1.1 et 4.1 selon l'herbicide. D'autre part, dans le cas du metsulfuron méthyl, l'eau peut aussi être utilisée dans la phase mobile; toutefois, l'injection d'une solution micellaire de SDS dans

une phase mobile aqueuse pure conduit à un signal du blanc relativement intense, contrairement à ce qui est obtenu dans le cas d'une phase mobile micellaire.

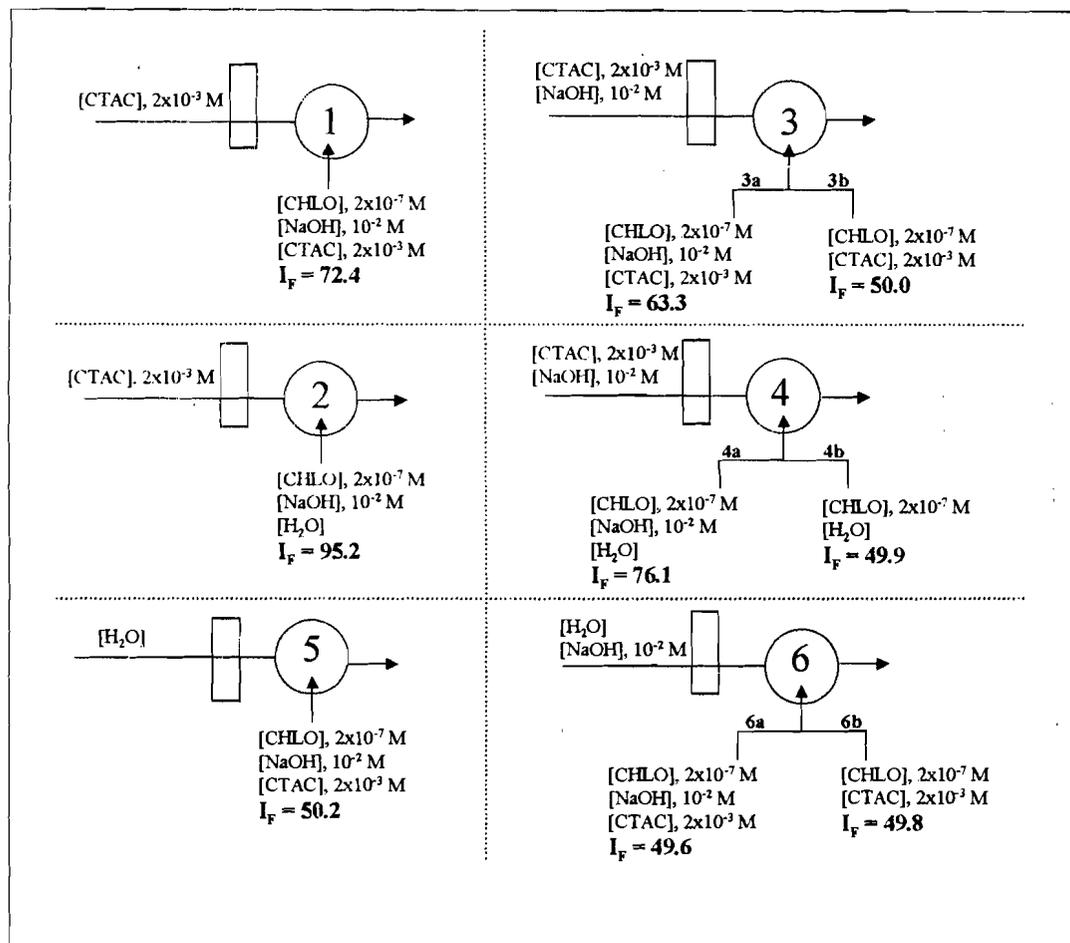


Fig. 7: Exemple d'organigramme utilisé pour rechercher la composition de la phase mobile et du solvant d'analyse dans le cas du chlorsulfuron. Pour les autres herbicides, les résultats obtenus sont résumés dans le Tableau 8.

1.2. Effet du volume injecté

L'augmentation du volume injecté dans l'intervalle 50-400 μ l entraîne une augmentation continue du signal FIP pour le metsulfuron méthyl et le 3-rimsulfuron, alors que dans le cas du chlorsulfuron et du sulfométuron méthyl, le signal FIP se stabilise rapidement après une augmentation initiale, atteignant un plateau pour une valeur de $V_i=280$ μ l (Fig. 8). Dans le but de préciser les valeurs optimales du volume injecté, la phase mobile a été remplacée par une solution micellaire contenant la même concentration de l'herbicide injecté aux valeurs de pH correspondantes. Cette configuration fournit en principe le signal analytique maximum que l'on puisse atteindre, correspondant à un volume d'injection infiniment grand. Dans une expérience

parallèle, la même concentration d'herbicide est injectée dans le système FIA avec une phase mobile normale et en utilisant différents volumes de la boucle d'injection. Dans le cas du chlorsulfuron et du sulfométuron méthyl, le signal FIP maximum que l'on puisse atteindre correspond au plateau observé pour un volume d'injection de 280 μl ; par conséquent, cette valeur a été adoptée pour les deux herbicides. Par contre pour le metsulfuron méthyl et le 3-rimsulfuron, nous avons employé une valeur du volume injecté de 393 μl , ce qui équivaut à un signal égal à 78% et 82%, respectivement, du signal analytique maximum atteignable pour chaque herbicide. Un volume d'injection plus grand pourrait être utilisé, ce qui entraînerait une légère augmentation du signal analytique, mais aussi du temps de résidence moyen et du coût par échantillon.

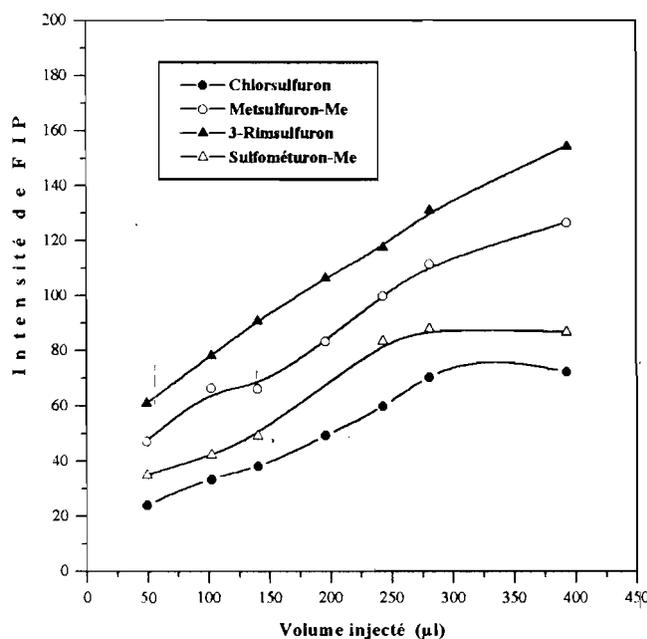


Fig. 8: Effet du volume injecté sur l'intensité de FIP à un débit constant de ($V_p=1 \text{ ml min}^{-1}$) du (●) chlorsulfuron ($C=5 \times 10^{-7} \text{ M}$, $L_r=400 \text{ cm}$), (○) metsulfuron méthyl ($C=10^{-7} \text{ M}$, $L_r=250 \text{ cm}$), (▲) 3-rimsulfuron ($C=10^{-7} \text{ M}$, $L_r=400 \text{ cm}$) et (△) sulfométuron méthyl ($C=10^{-6} \text{ M}$, $L_r=188 \text{ cm}$). Les conditions de solvants sont établies dans le Tableau 8.

1.3. Effet du débit du flux porteur

Le débit de la phase mobile modifie considérablement l'intensité de FIP (Fig. 9a) et la résolution des FIA-grammes obtenus (Fig. 9b). A l'exception du metsulfuron méthyl, le signal analytique décroît rapidement lorsque le débit augmente de 0.2 à 2 ml min^{-1} , cette décroissance du signal étant plus rapide dans le cas du sulfométuron méthyl. Pour le chlorsulfuron, le 3-

rimsulfuron et le sulfométuron méthyl, le signal initial diminue de 65% lorsque le débit augmente de 0.3 à 1.7 ml min⁻¹, alors que pour le metsulfuron méthyl, une augmentation d'environ 60% du signal analytique suivie d'un plateau est observé (Fig. 9a). Ces différences de comportement sont étroitement liées aux différences de $t_{\text{irr}}^{\text{opt}}$ déterminés pour ces herbicides en solution stationnaire (chapitre 1, paragraphe II.1.4). Dans le cas des trois premiers herbicides dont les $t_{\text{irr}}^{\text{opt}}$ sont relativement longs (2.5 min), les réactions de photoconversion ne peuvent être complètes aux grands débits. En revanche, les $t_{\text{irr}}^{\text{opt}}$ courts (1.0 min) du metsulfuron méthyl rendent pratiquement complète la photolyse de cet herbicide, même aux plus grands débits. Afin d'améliorer la mauvaise résolution des pics obtenus et en vue d'obtenir un signal analytique aussi intense que possible, nous avons sélectionné des valeurs intermédiaires du débit de 1 ml min⁻¹ pour le metsulfuron méthyl et de 0.67 ml min⁻¹ pour les autres herbicides.

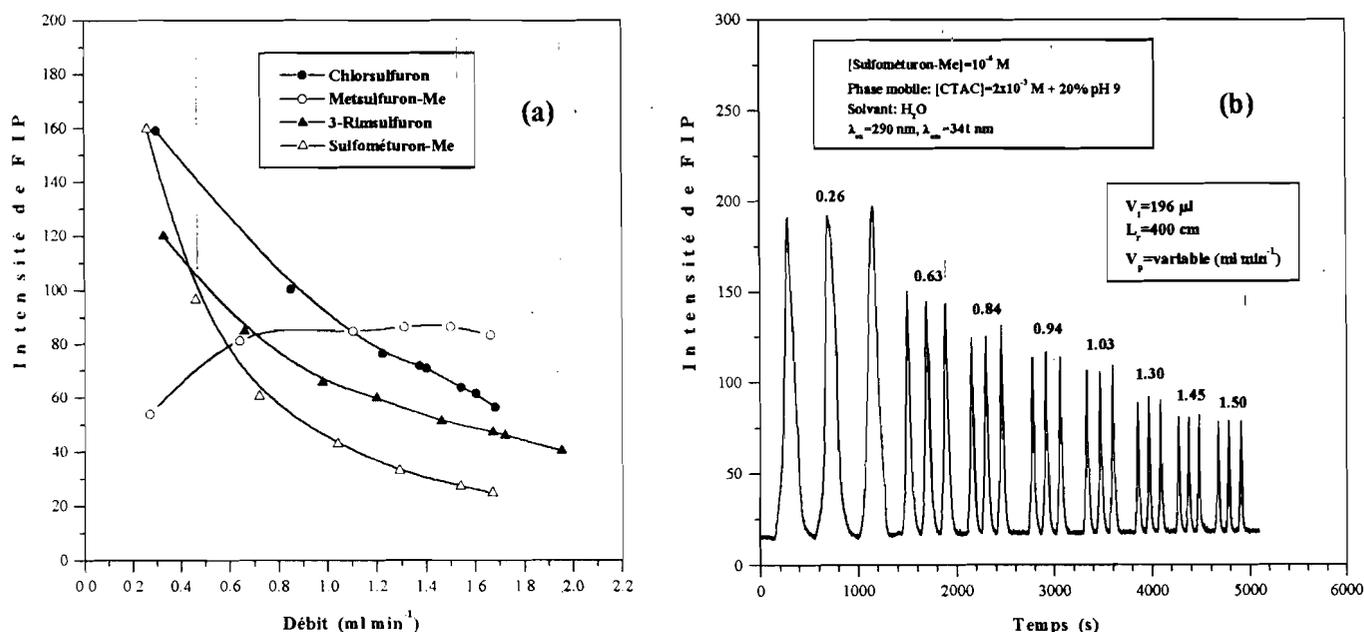


Fig. 9: (9a) Effet du débit sur l'intensité FIP du (●) chlorsulfuron ($C=5 \times 10^{-7}$ M, $L_r=250$ cm, $V_i=281$ μl), (○) metsulfuron méthyl ($C=10^{-7}$ M, $L_r=250$ cm, $V_i=281$ μl), (▲) 3-rimsulfuron ($C=10^{-7}$ M, $L_r=150$ cm, $V_i=281$ μl) et (△) sulfométuron méthyl ($C=10^{-6}$ M, $L_r=150$ cm, $V_i=243$ μl); (9b) Exemple d'évolution des FLA-grammes avec le débit: mise en évidence de leur mauvaise résolution pour les faibles débits dans le cas du sulfométuron méthyl.

1.4. Effet de la longueur du photoréacteur

L'augmentation de la longueur du photoréacteur dans l'intervalle 97-400 cm provoque un accroissement important et progressif du signal de FIP, le metsulfuron méthyl présentant un maximum d'intensité pour $L_r = 250$ cm (Fig. 10). Afin d'obtenir le meilleur signal analytique de FIP, nous avons sélectionné comme valeurs optimales des longueurs de réacteurs allant de 250 cm (pour le metsulfuron méthyl) à 400 cm (pour les autres herbicides). On peut attribuer ces différences de valeurs de longueurs de réacteurs aux différences de temps optimaux d'irradiation des herbicides déjà signalées précédemment.

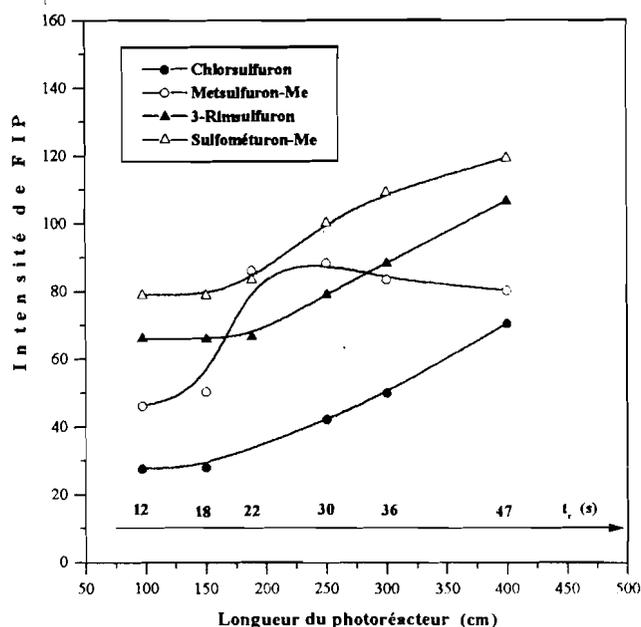


Fig. 10: Effet de la longueur du photoréacteur sur l'intensité de FIP à un débit constant ($V_p = 1 \text{ ml min}^{-1}$) du (●) chlorsulfuron ($C = 5 \times 10^{-7} \text{ M}$, $V_i = 281 \mu\text{l}$); (○) metsulfuron méthyl ($C = 10^{-7} \text{ M}$, $V_i = 243 \mu\text{l}$); (▲) 3-rimsulfuron ($C = 10^{-7} \text{ M}$, $V_i = 196 \mu\text{l}$) et du (△) sulfométuron méthyl ($C = 10^{-6} \text{ M}$, $V_i = 243 \mu\text{l}$). Les conditions optimales de solvants sont établies dans le Tableau 8.

1.5. Coefficient de dispersion et fréquence des échantillonnages

Le coefficient de dispersion (D) au maximum des pics des FIA-grammes a été évalué dans les conditions analytiques optimales selon la procédure classique (chapitre 2, paragraphe III.1.1.5). Les valeurs de D s'échelonnent entre 1.02 ± 0.04 et 1.28 ± 0.04 selon l'herbicide (Tableau 8). Les paramètres du système FIA optimisé permettent d'obtenir des fréquences d'échantillonnage de 80 éch h^{-1} pour le metsulfuron méthyl et de 56 éch h^{-1} pour les autres herbicides.

Tableau 8: Conditions analytiques optimales de la méthode FIP-FIA en milieux micellaires

Pesticide	Phase mobile	Solvant d'analyse ^a	Volume Injecté (µl)	Débit (ml min ⁻¹)	Longueur de réacteur (cm)	Fréquence des échantillonnages (éch h ⁻¹)	Coefficient de dispersion	FEPMM ^b
Chlorsulfuron	[CTAC], 2x10 ⁻³ M	[NaOH], 10 ⁻² M	280	0.67	400	56	1.03 ± 0.03	4.1
Metsulfuron-Me	[SDS] ^c , 6x10 ⁻² M	[NaOH], 10 ⁻² M	393	1.00	250	80	1.28 ± 0.04	1.1
3-Rimsulfuron	[CTAC], 2x10 ⁻³ M	20 % tampon pH 7	393	0.67	400	56	1.22 ± 0.02	1.2
Sulfométhuron-Me	[CTAC], 2x10 ⁻³ M + 20 % tampon pH 9	H ₂ O	280	0.67	400	56	1.02 ± 0.04	1.6

^aSolvant dans lequel le pesticide est solubilisé avant son injection; ^bFEPMM: facteur d'exaltation de la phase mobile micellaire (voir définition dans le texte); ^cL'eau peut aussi être utilisée à la place des micelles, mais le signal à blanc du solvant, relativement intense entraîne une mauvaise reproductibilité des injections; ^dL'addition de tensioactif augmente légèrement (1.3 fois) le signal de FIP par rapport à un milieu non micellaire.

2. Performances analytiques

Les performances analytiques de la méthode dans les conditions optimales sont résumées dans le Tableau 9. Ces performances ont été évaluées en effectuant une série de trois injections pour au moins dix concentrations de chaque herbicide (Fig. 11). La reproductibilité des mesures est satisfaisante comme l'indique la déviation standard relative (DSR) comprise entre 1.5 et 3.7%. Les courbes d'étalonnage sont bien linéaires comme l'indiquent les coefficients de corrélation supérieurs à 0.995. Les domaines de linéarité sont larges puisqu'ils s'étendent sur environ deux ordres de grandeurs en concentration. Les LD sont relativement basses, variant entre 0.09 et 1 ng ml⁻¹ selon l'herbicide. Les LD absolues (LDA) s'échelonnent entre 0.04 et 0.3 ng. Dans la plupart des cas, ces LD mesurées par notre méthode s'avèrent plus basses que celles obtenues pour les mêmes herbicides par d'autres techniques analytiques. Par exemple, les LD du chlorsulfuron mesurées dans les sols par CLHP avec détection par photoconductivité [17], par la méthode immunoenzymatique (ELISA) [18] et par CPG avec le détecteur à capture d'électron [19] sont respectivement de 0.2, 0.1 et 1 ng ml⁻¹; les LD du chlorsulfuron et du metsulfuron méthyl mesurées dans l'eau par CLHP avec détection UV sont de 1 ng ml⁻¹ [20].

Tableau 9: Performances analytiques de la détermination des herbicides par la méthode FIP-FIA en milieux micellaires.

Pesticide	$\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ ^a (nm)	Domaine de linéarité (ng ml ⁻¹)	Pente ^b	r ^c	LD ^d (ng ml ⁻¹)	LQ ^d (ng ml ⁻¹)	LDA ^e (ng)	DSR ^f (%)
Chlorsulfuron	314/380	3 - 252	0.83	0.997	0.21	0.89	0.06	1.5
Metsulfuron-Me	322/378	0.1 - 39	0.73	0.998	0.09	0.51	0.04	3.7
3-Rimsulfuron	317/365	2 - 39	0.91	0.998	0.17	0.66	0.07	1.8
Sulfométuron-Me	290/341	14 - 364	0.86	0.996	1.08	4.42	0.30	2.4

^aLongueur d'onde analytique d'excitation (λ_{ex}) et d'émission (λ_{em}); ^bPente des droites log-log de calibration; ^cCoefficient de corrélation; ^dLimite de détection (LD) et de quantification (LQ), définie comme étant la concentration de l'herbicide qui correspond à un rapport signal/bruit égal, respectivement à 3 et 10; ^eLimite de détection absolue (LDA), calculée avec le volume d'injection optimum; ^fDéviations standard relative, (n=3).

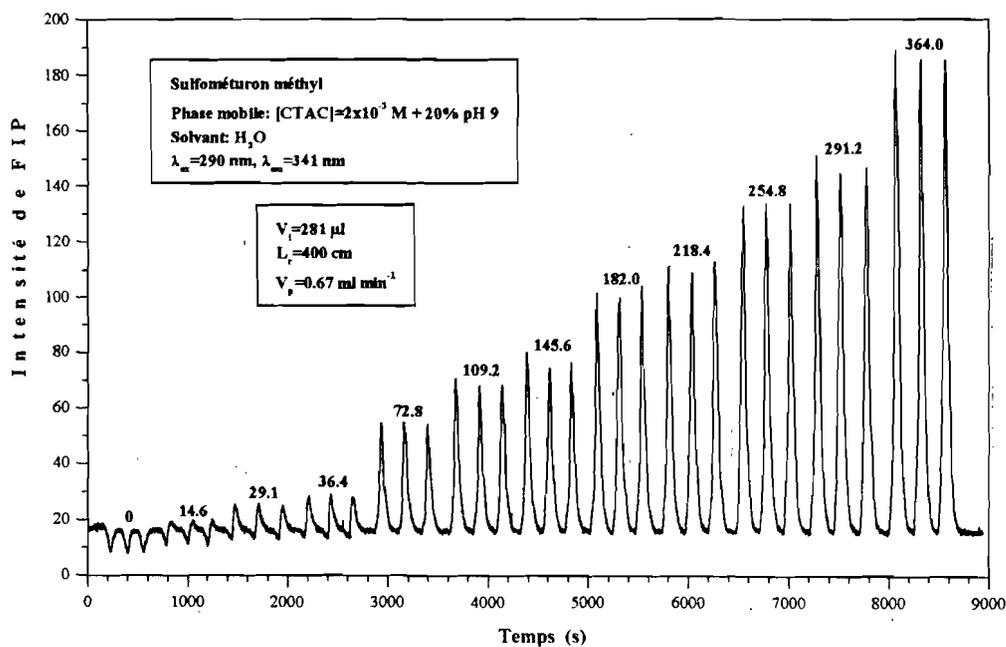


Fig. 11: Exemple de FIA-gramme typiques mettant en évidence la reproductibilité des injections dans le cas du sulfométuron méthyl pour des concentrations variant de 14.6 à 364 ng ml⁻¹ et dans les conditions optimales du Tableau 8.

3. Applications analytiques

Dans le but de tester l'applicabilité de la méthode FIP-FIA à l'analyse en milieux micellaires d'échantillons authentiques, nous avons fortifié des prélèvements d'eau de fleuve (Seine) avec les herbicides étudiés, l'extraction a été réalisée selon la procédure décrite dans la partie expérimentale. Les rendements d'extraction ont été évalués par la méthode de mesure directe c'est-à-dire après comparaison avec les solutions standards (Fig. 12).

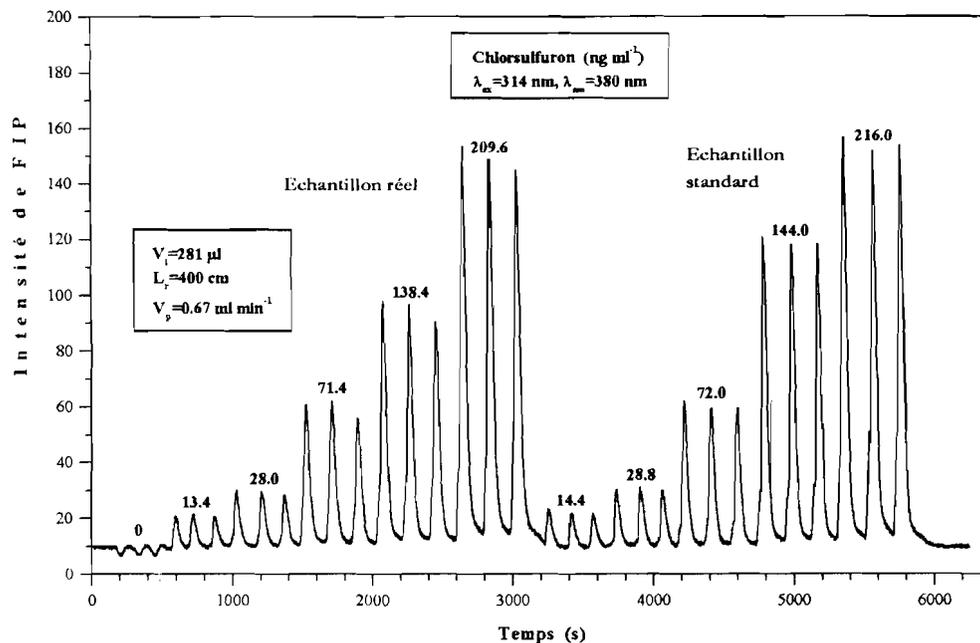


Fig. 12: Application analytique à la détermination du chlorsulfuron dans l'eau de la Seine. Les concentrations effectives de l'échantillon réel sont celles déterminées après calcul par comparaison avec les hauteurs des pics de l'échantillon standard.

Tableau 10: Rendement des extractions des herbicides sulfonyles dans l'eau de fleuve.

Pesticide	Solvant d'Extraction	Rendement (%) ^a
Chlorsulfuron	Dichlorométhane	97.4 ± 1.1
Metsulfuron-Me	Dichlorométhane	90.6 ± 7.2
3-Rimsulfuron	Dichlorométhane	49.4 ± 5.7
	Chloroforme	66.4 ± 1.8 ^b
	Acétate d'éthyle	105.9 ± 0.5 ^b
Sulfométuron-Me	Dichlorométhane	90.3 ± 3.4

^aMoyenne des rendements d'extraction pour n=4; ^bMoyenne pour n=2.

Les rendements obtenus avec la première méthode d'extraction sont satisfaisants puisqu'ils sont compris entre 90 et 97% pour le chlorsulfuron, le metsulfuron méthyl et le sulfométuron méthyl (Tableau 10). Toutefois, cette méthode d'extraction a échoué pour le 3-rimsulfuron, les rendements d'extraction obtenus étant très faibles ($\approx 9\%$). Par conséquent, une seconde méthode d'extraction a été appliquée avec trois solvants d'extraction, à savoir, le dichlorométhane, le chloroforme et l'acétate d'éthyle. Les rendements obtenus avec le

dichlorométhane (49.4%) et le chloroforme (66.4%) sont encore un peu faibles, mais l'emploi de l'acétate d'éthyle a permis d'obtenir un rendement d'extraction satisfaisant d'environ 106% (Tableau 10). Ces rendements sont comparables aux valeurs données dans la littérature. Ainsi, pour le chlorsulfuron, une procédure de purification a été employée après extraction avec le dichlorométhane: (rendement: 101-105%) et application d'une colonne florisil [21]. Des rendements de 100.7% sont signalés pour le chlorsulfuron, après purification par microcolonne à base de gel de silice [22] et de 92.9% et 91.3% pour le chlorsulfuron et le metsulfuron méthyl, respectivement, avec une minicolonne de florisil [23].

4. Remarques conclusives

Nos résultats démontrent que l'analyse par injection en flux combinée avec la méthode FIP en milieux micellaires a un potentiel analytique considérable en ce qui concerne la détermination des herbicides sulfonylurées au niveau du nanogramme. Dans le cas des échantillons d'eau fortifiés, la méthode fait appel à une procédure d'extraction simple, sans qu'il soit nécessaire de recourir à une procédure de purification. La méthode FIP-FIA a démontré son applicabilité, sa simplicité, sa sélectivité et sa sensibilité pour l'analyse des herbicides à l'état de traces.

V. CONCLUSION

Nous avons montré dans ce chapitre que la FIA avec détection fluorimétrique ou fluorimétrique induite photochimiquement (FIP) constituait une méthode analytique simple à mettre en œuvre, rapide, fiable et sensible pour la détermination de pesticides aromatiques et d'herbicides sulfonylurées photoréactifs. Cette méthode s'avère aussi applicable avec un haut degré de reproductibilité à l'analyse de formulations commerciales et d'échantillons d'eau prélevés dans l'environnement et contenant des traces de pesticides aromatiques ou d'herbicides sulfonylurées. L'emploi de milieux micellaires dans la phase mobile améliore encore les performances analytiques de la FIA-FIP dans le cas des herbicides.

Néanmoins, la sélectivité de notre méthode s'avère insuffisante pour résoudre des mélanges de pesticides compte tenu notamment des valeurs très proches des longueurs d'onde d'excitation et d'émission FIP des photoproduits. Nous avons donc examiné dans le chapitre suivant la possibilité d'employer les spectres FIP dérivés ainsi que la méthode chimiométrique de calibration multivariable (méthode dite PLS) pour la résolution de ces mélanges.

VI. REFERENCES

- [1] J. Ruzicka, E.H. Hansen, *Flow Injection Analysis* (Chemical Analysis, Vol. 62), John Wiley & Sons, New York, 1988.
- [2] B. Karlberg, G.E. Pacey, *Flow Injection Analysis* (A practical Guide, Vol. 10), Elsevier, Amsterdam, 1989.
- [3] J. Martinez-Calatayud, *Flow Injection Analysis of Pharmaceuticals*, Taylor and Francis, London, 1996.
- [4] J. Ruzicka, E.H. Hansen, *Anal. Chim. Acta* **99** (1978) 37.
- [5] D. Betteridge, *Anal. Chem.* **50** (1978) 832A.
- [6] J. Ruzicka, *Anal. Chem.* **55** (1983) 1040A.
- [7] F. Lazaro-Boza, D. luque de Castro, M. Valcarcel-Cases, *Analisis* **13** (1985) 147.
- [8] J. Ruzicka, E.H. Hansen, *Anal. Chim. Acta* **214** (1988) 1.
- [9] P. Serziot, *Analisis* **19** (1991) i27.
- [10] L.T. Skeggs, a) *Am. J. Pathol.* **28** (1957) 311.; b) *Am. J. Clin. Pathol.* **13** (1957) 451.
- [11] T. Perez-Ruiz, C. Martinez-Lozano, V. Tomas, *Anal. Chim. Acta* **244** (1991) 99.
- [12] H. Singh, W.L. Hinze, *Anal. Lett.* **15** (1982) 221.
- [13] M. Yamada, S. Suzuki, *Anal. Lett.* **17** (1984) 251.
- [14] M.A. Hernandez-Torres, M.G. Khaledi, J.G. Dorsey, *Anal. Chim. Acta*, **201** (1987) 67.
- [15] A. Alonso, M.J. Almendral, F. Merino, S. Perez-Palmero, *Analyst* **120** (1995) 2401.
- [16] P.M. Ritenour Hertz, L.B. McGown, *Anal. Chem.* **64** (1992) 2920.
- [17] E.W. Zahnnow, *J. Agric. Food Chem.* **30** (1982) 854.
- [18] M.M. Kelley, E.W. Zahnnow, W.C. Petersen, S.T. Toy, *J. Agric. Food Chem.* **33** (1985) 962.
- [19] I. Ahmad, G. Crawford, *J. Agric. Food Chem.* **38** (1990) 138.
- [20] G. Nilvé, M. Knutsson, J.A. Joensson, *J. Chromatogr.* **688A** (1994) 75.
- [21] I. Ahmad, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **70** (1987) 745.
- [22] V. Léoni, C. Cremisini, A. Casuccio, A. Gulloti, *Pestic. Sci.* **31** (1991) 209.
- [23] D.G. Thompson, L.M. MacDonald, *J. AOAC Int.* **75** (1992) 1084.

Chapitre III

Analyse des mélanges d'herbicides sulfonylurées par les méthodes des spectres dérivés de fluorescence induite photochimiquement (FIP- $^nD_\lambda$) et des moindres carrés partiels PLS ("*partial least squares*").

I. INTRODUCTION

Parmi les nombreuses matrices environnementales (eaux, air, sols, fruits, légumes, etc.) contenant des résidus de pesticides, l'eau tient une part non négligeable. Cela est probablement dû à son abondance naturelle, mais surtout à sa très grande capacité de transport. C'est ce qui explique que la plupart des pesticides pulvérisés ou épandus sur les récoltes sont décelés fréquemment dans les lacs, les rivières ou les nappes phréatiques. Ainsi, la présence possible de plusieurs pesticides simultanément dans des eaux naturelles et le besoin de méthodes pour résoudre efficacement ces mélanges, sans avoir recours préalablement à une procédure de séparation nous a incité à développer deux techniques d'analyse des mélanges binaires des herbicides sulfonylurées. La première technique est fondée sur les spectres dérivés d'ordre un de fluorescence induite photochimiquement (méthode FIP- $^1D_\lambda$) et la seconde est une méthode chimiométrique de calibration multivariable (méthode des moindres carrés partiels, PLS "*partial least squares*").

Dans ce chapitre, nous développerons successivement ces deux méthodes qui seront appliquées à l'analyse des mélanges synthétiques d'herbicides sulfonylurées dans des échantillons d'eau fortifiés. Nous comparerons également les résultats obtenus par chaque méthode.

II. METHODE DES SPECTRES DERIVES

1. Principe

La spectroscopie dérivée est une méthode efficace, mais relativement peu utilisée pour les applications analytiques. Bien qu'elle ait été introduite il y a plus d'une trentaine d'année [1] et qu'elle ait pu résoudre certains problèmes analytiques concernant les pesticides [2-5], elle a été longtemps peu employée du fait du manque d'instrumentation. Mais actuellement, son champ d'application est plus étendu en raison de l'existence dans les spectrophotomètres, de logiciels permettant d'obtenir des spectres dérivés d'ordre supérieur ou égal à un. Ses principes fondamentaux ont déjà été décrits [6-8]; il apparaît que cette méthode permet de résoudre des mélanges impossibles à analyser à l'aide des méthodes spectroscopiques classiques en raison de sévères recouvrements de bandes spectrales. Dans ces conditions, on peut appliquer la procédure dite de croisement zéro. Cette procédure consiste en fait à mesurer le signal d'un constituant du mélange à une longueur d'onde telle que le signal de l'autre constituant soit nul. Dans notre travail, nous avons utilisé cette procédure pour résoudre des mélanges binaires

synthétiques des herbicides sulfonylurées. Comme nous l'avions déjà vu dans les chapitres 1 et 2, les structures chimiques très proches de ces herbicides conduisent à l'obtention de propriétés physico-chimiques similaires dans le cas des photoproduits. En conséquence, la plupart des méthodes d'analyse comme la CLHP, la CPG, l'électrophorèse capillaire, ou les méthodes biologiques et immunoenzymatiques (voir chapitre 1 et 2) s'appliquent difficilement à la résolution de mélanges de ce groupe d'herbicides. De même, la méthode FIP est peu sélective en raison de la quasi-similitude des longueurs d'onde des maxima d'excitation (λ_{ex}) et d'émission (λ_{em}) des photoproduits fluorescents obtenus, ce qui entraîne un recouvrement important des spectres FIP d'ordre zéro (Fig. 1). La méthode des spectres dérivés d'ordre un de FIP (méthode FIP- $^1D_\lambda$) a été développée en vue de surmonter ces difficultés.

2. Optimisation des conditions analytiques

Les conditions optimales d'analyse de ces herbicides par FIP ont été établies dans le chapitre 1. Vu les grandes différences existants entre ces conditions optimales, pour les divers herbicides, un compromis doit être trouvé entre les valeurs de pH et de t_{irr}^{opt} ainsi que le solvant analytique en vue de l'étude de mélanges binaires. Les nouvelles valeurs optimales de ces variables et les mélanges binaires correspondants sont présentés dans le Tableau 1. Les spectres d'émission d'ordre zéro des quatre herbicides enregistrés dans ces conditions optimales mettent en évidence l'existence d'un sévère recouvrement des bandes spectrales avec un effet plus marquant pour le chlorsulfuron et le metsulfuron méthyl (Fig. 1). Dans ces conditions, les mélanges binaires de ces herbicides ne peuvent pas être résolus au moyen de la méthode FIP classique, et l'emploi des spectres dérivés s'avère donc nécessaire.

Dans une étude préliminaire, nous avons d'abord comparé les signaux des spectres dérivés du premier et du second ordre. Nous avons trouvé que le signal de la dérivé du second ordre est environ 10 fois plus faible que celui du premier ordre, probablement à cause d'un faible rapport signal/bruit. Par conséquent, nous avons décidé d'employer la dérivé d'ordre un des spectres FIP (FIP- $^1D_\lambda$) pour notre étude analytique.

D'autre part, il apparaît que trois mélanges binaires parmi les six combinaisons possibles des quatre herbicides peuvent être étudiés dans les conditions optimales à l'aide de la méthode FIP- $^1D_\lambda$. En effet, l'application de la méthode à l'analyse des trois autres mélanges restants est difficile, en raison du recouvrement important des bandes spectrales (cas du mélange binaire chlorsulfuron/metsulfuron méthyl, Fig. 1), ou de l'absence d'un domaine de pH

commun aux deux constituants (cas des mélanges du 3-rimsulfuron avec le chlorsulfuron et le metsulfuron méthyl, respectivement).

3. Procédures analytiques

Les spectres FIP d'ordre zéro ont été enregistrés entre 300 et 500 nm avec une vitesse de balayage de 480 nm min^{-1} . Avant d'effectuer leur dérivation, les spectres sont corrigés avec le spectre du solvant puis lissés (sur 21 points). Après ce traitement, les spectres dérivés sont déterminés (sur 21 points) au moyen de la technique de Savitzky-Golay [1].

Les droites d'étalonnage ont été établies en mesurant soit la hauteur du pic positif à la longueur d'onde maximale du spectre dérivé (${}^1D_{\lambda_{\max}}$), soit l'amplitude ou la hauteur pic-à-pic du signal (${}^1D_{\lambda_{\min}, \lambda_{\max}}$).

Pour l'analyse des mélanges binaires synthétiques, la concentration de l'un des constituants du mélange est évaluée à l'aide du signal (${}^1D_{\lambda_0}$) du spectre dérivé au point de croisement zéro (λ_0) du second constituant (Fig. 2); l'intensité du signal obtenu est comparée avec celle issue d'une droite d'étalonnage.

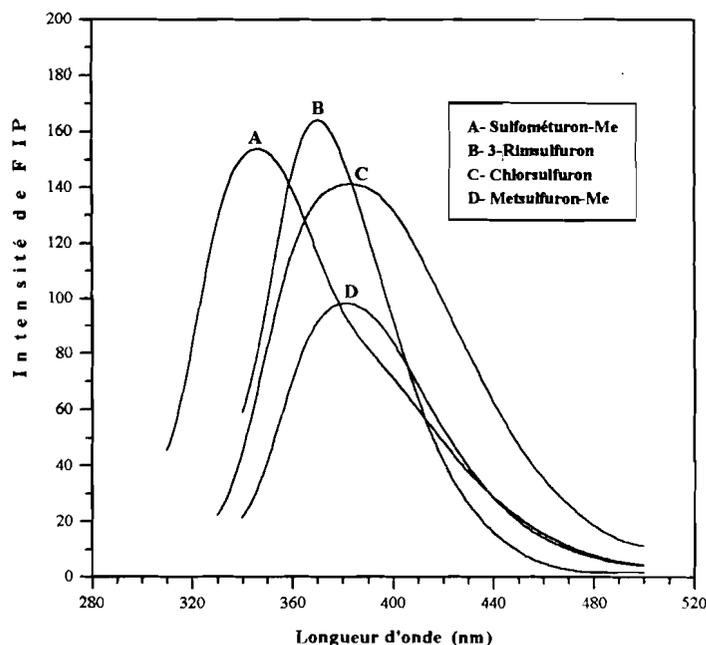


Fig. 1: Spectres d'émission FIP d'ordre zéro des herbicides, enregistrés dans les conditions analytiques optimales: **(A)** $5 \times 10^{-6} \text{ M}$ sulfofémuron méthyl, $[\text{CTAC}] = 2 \times 10^{-3} \text{ M}$, $\text{pH} = 11.8$, $t_{\text{irr}} = 150 \text{ s}$, $\lambda_{\text{ex}} = 290 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 341 \text{ nm}$; **(B)** $2 \times 10^{-7} \text{ M}$ 3-rimsulfuron, $[\text{CTAC}] = 2 \times 10^{-3} \text{ M}$, $\text{pH} = 8$, $t_{\text{irr}} = 150 \text{ s}$, $\lambda_{\text{ex}} = 317 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 365 \text{ nm}$; **(C)** $4 \times 10^{-7} \text{ M}$ chlorsulfuron, $[\text{CTAC}] = 2 \times 10^{-3} \text{ M}$, $\text{pH} = 11.8$, $t_{\text{irr}} = 150 \text{ s}$, $\lambda_{\text{ex}} = 314 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 380 \text{ nm}$ et **(D)** 10^{-7} M metsulfuron méthyl, $[\text{SDS}] = 6 \times 10^{-2} \text{ M}$, $\text{pH} = 11.8$, $t_{\text{irr}} = 60 \text{ s}$, $\lambda_{\text{ex}} = 322 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 378 \text{ nm}$.

4. Performances analytiques

Afin d'évaluer la capacité de notre méthode à effectuer l'analyse quantitative de ces herbicides, nous avons établi les droites d'étalonnage pour une série de concentration des mélanges binaires étudiés (Fig. 3). En fait, on a tracé deux droites d'étalonnage correspondant à chaque constituant des mélanges binaires étudiés, car nous avons testé deux procédures de mesures.

Tableau 1: Conditions analytiques optimales de la méthode FIP- $^1D_\lambda$.

Mélanges binaires	Solvant	$\lambda_{ex} / \lambda_{em}$ (nm) ^a	pH	λ_0 (nm) ^c	t_{int}^{opt} (s)
Sulfométuron-Me	[CTAC], 2×10^{-3} M	290 / 341	11.8 ^b	380	150
Chlorsulfuron	[CTAC], 2×10^{-3} M	314 / 380	11.8 ^b	345	150
Sulfométuron-Me	[SDS], 6×10^{-2} M	290 / 341	11.8 ^b	380	150
Metsulfuron-Me	[SDS], 6×10^{-2} M	322 / 378	11.8 ^b	345	60
Sulfométuron-Me	[CTAC], 2×10^{-3} M	290 / 341	8	370	150
3-Rimsulfuron	[CTAC], 2×10^{-3} M	317 / 365	8	345	150

^aLongueur d'onde analytique d'excitation (λ_{ex}) et d'émission (λ_{em}) maximum des spectres d'ordre zéro;

^bValeurs correspondantes à $[NaOH] = 5 \times 10^{-3}$ M; ^cLongueur d'onde (λ_0) de mesure au point de croisement zéro des spectres dérivés (FIP- $^1D_\lambda$).

Tableau 2: Performances analytiques de la méthode FIP- $^1D_\lambda$ pour la détermination des herbicides sulfonylurées ^a.

Herbicide	Solvant	Domaine de linéarité (ng ml ⁻¹)	Equation de régression $^1D_\lambda = axC+b$	r^b	LD ^c (ng ml ⁻¹)	LQ ^c (ng ml ⁻¹)	DSR ^d (%)
Sulfométuron-Me	CTAC	70-2600	$^1D_{321} = 0.00183xC + 0.06401$	0.9995	33	128	1.8
		70-2600	$^1D_{321,368} = 0.00198xC + 0.19942$	0.9978	29	106	1.7
Chlorsulfuron	CTAC	3-150	$^1D_{350} = 0.03593xC - 0.20045$	0.9964	1.9	5.5	2.9
		3-150	$^1D_{350,415} = 0.0543xC - 0.23214$	0.9984	1.8	5.2	2.1
Sulfométuron-Me	SDS	70-1500	$^1D_{321} = 0.00343xC - 0.09725$	0.9957	52	149	2.5
		70-1500	$^1D_{321,368} = 0.00562xC - 0.15134$	0.9955	46	133	0.5
Metsulfuron-Me	SDS	2-60	$^1D_{355} = 0.09342xC + 0.00071$	0.9983	0.5	1.7	1.6
		2-60	$^1D_{355,407} = 0.14371xC - 0.06501$	0.9977	0.6	1.9	0.8
Sulfométuron-Me	CTAC	30-1500	$^1D_{321} = 0.00633xC - 0.09166$	0.9992	21	57	0.9
		30-1500	$^1D_{321,368} = 0.00998xC - 0.10286$	0.9987	15	44	1.7
3-Rimsulfuron	CTAC	4-90	$^1D_{351} = 0.04913xC - 0.03978$	0.9954	3.2	10.5	2.7
		4-90	$^1D_{351,395} = 0.07422xC - 0.10190$	0.9955	3.6	11.2	0.3

^aParamètres analytiques déterminés individuellement pour chaque herbicide dans les conditions analytiques optimales du Tableau 1; ^bCoefficient de corrélation; ^cLimite de détection (LD) et de quantification (LQ), définie comme étant la concentration de pesticide qui correspond à un rapport signal/bruit égal respectivement, à 3 et 10; ^dDéviations standard relatives, (n=3).

L'une consiste à mesurer l'amplitude du signal entre les deux pics positifs et négatifs (${}^1D_{\lambda_{\min}, \lambda_{\max}}$), procédure dite pic-à-pic et l'autre revient à évaluer la hauteur du pic positif par rapport à la ligne de base (${}^1D_{\lambda_{\max}}$). Les deux procédures aboutissent à des courbes d'étalonnage linéaires, qui s'étendent sur au moins deux ordres de grandeurs en concentration. Les données statistiques obtenues, à savoir les équations de régression (${}^1D_{\lambda}$), les coefficients de corrélation (r), les limites de détection (LD) ou de quantification (LQ) ainsi que les déviations standard relatives (DSR) sont rassemblées dans le Tableau 2. Les résultats obtenus par les deux procédures sont satisfaisants et s'avèrent comparables bien que la sensibilité analytique de la méthode (déduite du coefficient directeur des équations de régression) soit légèrement meilleure dans le cas de la procédure pic-à-pic. Les LD sont relativement basses (entre 0.5-52 ng ml⁻¹) et proches de celles obtenues précédemment (chapitres 1 et 2). Ces résultats démontrent que la méthode des spectres FIP dérivés est applicable à l'analyse de mélanges binaires des herbicides sulfonylurées.

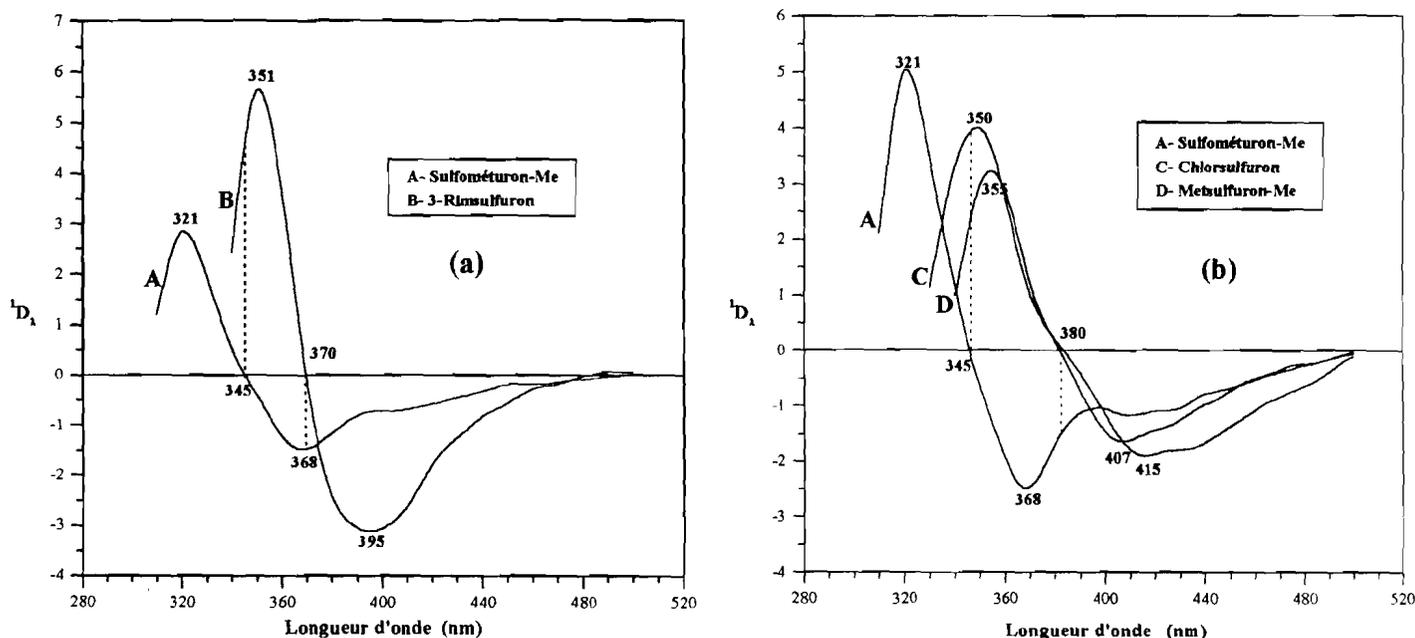


Fig. 2: Détermination simultanée des mélanges binaires des herbicides sulfonylurées par la méthode du croisement zéro: (a) sulfométuron méthyl (A)/3-rimsulfuron (B) dans le rapport de concentration de 10:1; (b) sulfométuron méthyl (A)/chlorsulfuron (C) dans le rapport 12:1 et sulfométuron méthyl (A)/metsulfuron méthyl (D) dans le rapport 50:1.

5. Application à l'analyse des mélanges binaires synthétiques

Nous avons effectué la détermination simultanée du sulfométuron méthyl avec le chlorsulfuron, le metsulfuron méthyl et le 3-rimsulfuron, respectivement, dans les mélanges

binaires synthétiques à l'aide de la méthode du croisement zéro, à la longueur d'onde de mesure λ_0 du spectre dérivé du mélange (Fig. 2). Avant de résoudre les mélanges, une étude des interférences entre espèces chimiques a été développée dans le but d'évaluer l'influence mutuelle des concentrations de chaque constituant.

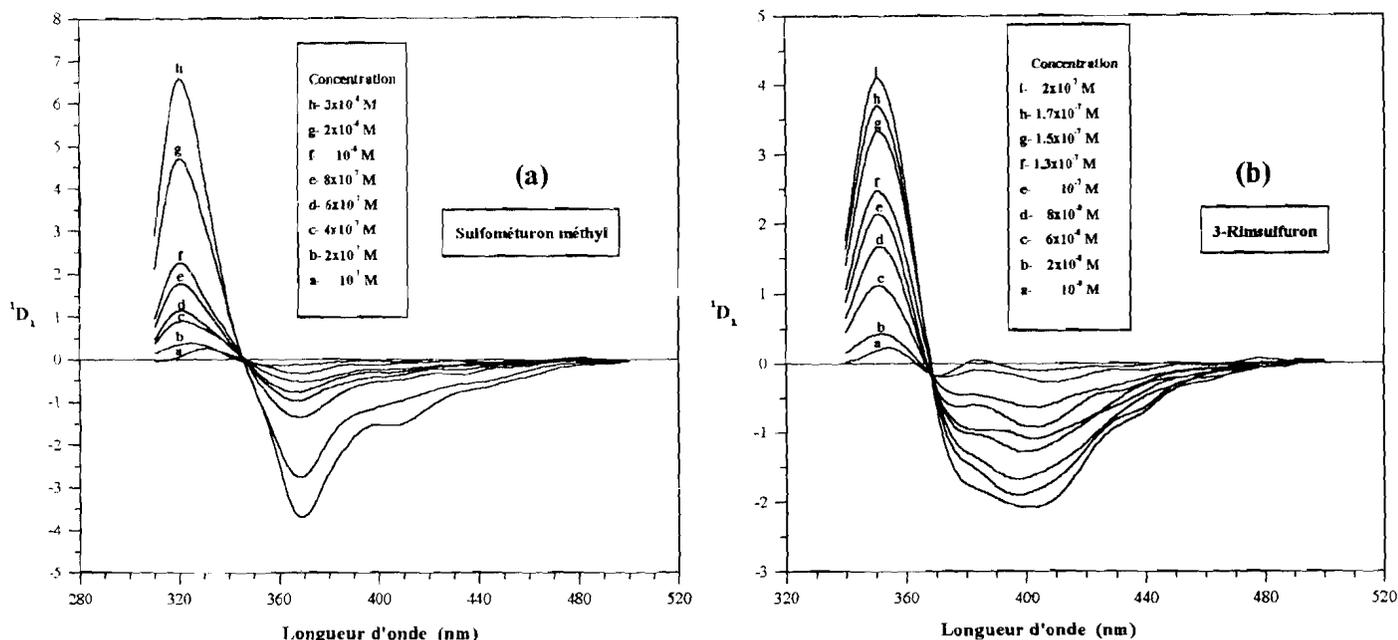


Fig. 3: Spectres d'émission FIP dérivé d'ordre un ($FIP-1D_1$) (a) du sulfométuron méthyl (concentration variant entre 10^{-7} et 3×10^{-6} M) et (b) du 3-rimsulfuron (concentration variant entre 10^{-8} et 2×10^{-7} M). Spectres enregistrés dans les conditions analytiques optimales du Tableau 1.

5.1 Etude des interférences

L'influence de la concentration du premier constituant sur la détermination du second et réciproquement a été examinée en vue de mieux déterminer les seuils de tolérance de chaque constituant. La procédure consiste à ajouter des quantités croissantes de la substance interférente à une concentration fixe de la substance à analyser, puis à mesurer le recouvrement du signal $1D_{\lambda_0}$ de la substance à analyser à la longueur d'onde λ_0 . Les résultats obtenus montrent que: (i) pour le mélange binaire sulfométuron méthyl/3-rimsulfuron, une altération du signal ($>20\%$) de la substance à analyser est observée seulement pour des concentrations relativement élevées de la substance interférente (>69 ng ml $^{-1}$ pour le 3-rimsulfuron et réciproquement, >290 ng ml $^{-1}$ pour le sulfométuron méthyl); (ii) pour les deux autres mélanges binaires, le signal du sulfométuron méthyl est altéré de 103-112% et 87-96% par rapport au signal initial, lorsque le metsulfuron méthyl et le chloresulfuron sont employés comme

substances interférentes à des concentrations de 2 à 60 ng ml⁻¹ et de 3 à 150 ng ml⁻¹, respectivement. Réciproquement, en présence de quantités interférentes du sulfométuron méthyl (de 70 à 1500 ng ml⁻¹ et de 70 à 2600 ng ml⁻¹, respectivement, pour le metsulfuron méthyl et le chlorsulfuron), les signaux des analytes ne varient que de 88-108% et 96-118%, respectivement pour le metsulfuron méthyl et le chlorsulfuron. Dans le cas des deux derniers mélanges binaires, la concentration maximale admise de chaque interférent vis à vis de chaque analyte est supérieure à la plus grande concentration du domaine de linéarité de la substance interférente. La résolution des mélanges binaires synthétiques a été réalisée au moyen de la méthode de mesure directe et dans les conditions analytiques optimales.

5.2. Résolution des mélanges binaires

Des échantillons d'eau de ville ont été fortifiés avec des quantités croissantes des mélanges binaires étudiés avant d'être analysés. Les résultats des analyses sont présentés dans les Tableaux 3-5. Dans le cas du mélange binaire sulfométuron méthyl/3-rimsulfuron (Tableau 3), les pourcentages de récupération varient entre 94 et 116% pour le sulfométuron méthyl et entre 99 et 118% pour le 3-rimsulfuron. Les pourcentages de récupération sont aussi satisfaisants pour les deux autres mélanges binaires restants (Tableau 4 et 5), puisqu'ils s'échelonnent de 90 à 104% pour un rapport de concentration sulfométuron méthyl/metsulfuron méthyl allant de 50:1 à 1:1 et entre 91 à 117% pour un rapport de concentration sulfométuron méthyl/chlorsulfuron variant de 4:1 à 1:1. De plus, la méthode semble mieux adaptée à la détermination de trois herbicides sulfonyles (chlorsulfuron, metsulfuron méthyl et 3-rimsulfuron) en présence du sulfométuron méthyl, étant donné que des concentrations plus importantes de ce dernier constituant sont tolérables dans le mélange.

6. Remarques conclusives

Nous avons montré l'intérêt analytique de la méthode des spectres FIP dérivés pour résoudre les mélanges binaires des herbicides sulfonyles; la sensibilité et la sélectivité de la méthode FIP-¹D_λ peut être considérée comme satisfaisante. Bien que cette méthode souffre de quelques limitations dues au choix de conditions analytiques optimales un peu contraignantes, son application s'avère très simple. Nous avons envisagé dans la seconde partie de ce chapitre, l'utilisation d'une méthode de calibration multivariable (PLS) en vue d'améliorer la détermination par la FIP des mélanges de ces herbicides.

Tableau 3: Résolution du mélange binaire sulfométuron méthyl/3-rimsulfuron par la méthode FIP-¹D_λ ^a

Sulfométuron-Me (ng ml ⁻¹)		Récupération (%)	Rapport de ^b Concentration	3-Rimsulfuron (ng ml ⁻¹)		Récupération (%)
Ajoutée	Trouvée			Ajoutée	Trouvée	
145.6	136.7 ± 11.9	93.9	4:1	43.2	47.7 ± 0.1	110.4
109.2	108.9 ± 2.6	99.7	3:1	43.2	50.3 ± 0.1	116.4
36.4	35.6 ± 4.9	97.8	2:1	21.6	24.5 ± 1.0	113.4
72.8	74.8 ± 11.0	102.7	2:1	43.2	49.5 ± 1.5	114.6
29.2	33.8 ± 1.6	115.8	1:1	34.6	40.7 ± 0.1	117.6
54.6	60.1 ± 13.9	110.1	1:1	64.8	64.5 ± 0.4	99.5

^aLes droites de calibration suivantes ont été utilisées pour les mélanges binaires synthétiques à la longueur d'onde (λ₀) du croisement zéro;

¹D₃₇₀ = 0.00364xC - 0.01909 (r=0.998) pour le sulfométuron méthyl;

¹D₃₄₅ = 0.04011xC - 0.10926 (r=0.996) pour le 3-rimsulfuron.

^bRapport de concentrations (en mol l⁻¹) du sulfométuron-Me sur le 3-rimsulfuron

Tableau 4: Résolution du mélange binaire sulfométuron méthyl/metsulfuron méthyl par la méthode FIP-¹D_λ ^a

Sulfométuron-Me (ng ml ⁻¹)		Récupération (%)	Rapport de ^b Concentration	Metsulfuron-Me (ng ml ⁻¹)		Récupération (%)
Ajoutée	Trouvée			Ajoutée	Trouvée	
182.0	183.3 ± 2.4	100.7	50:1	3.9	3.8 ± 0.3	97.5
910.0	945.4 ± 16.5	103.9	25:1	38.4	34.8 ± 0.8	90.6
145.6	144.8 ± 18.5	99.5	10:1	15.4	15.0 ± 0.7	97.4
182.0	168.6 ± 2.1	92.6	5:1	38.4	34.6 ± 0.3	90.1
72.8	71.6 ± 3.6	98.4	2:1	38.4	35.0 ± 0.4	91.1
72.8	73.6 ± 0.8	101.1	1:1	76.8	77.8 ± 2.1	101.3

^aDroites de calibration utilisées à la longueur d'onde (λ₀) du croisement zéro:

¹D₃₈₀ = 0.00157xC - 0.03865 (r=0.997) pour le sulfométuron méthyl;

¹D₃₄₅ = 0.05664xC - 0.02101 (r=0.995) pour le metsulfuron méthyl.

^bRapport de concentrations (en mol l⁻¹) du sulfométuron-Me sur le metsulfuron-Me.

Tableau 5: Résolution du mélange binaire sulfométuron méthyl/chlorsulfuron par la méthode FIP-¹D_λ ^a

Sulfométuron-Me (ng ml ⁻¹)		Récupération (%)	Rapport de ^b Concentration	Chlorsulfuron (ng ml ⁻¹)		Récupération (%)
Ajoutée	Trouvée			Ajoutée	Trouvée	
291.2	271.0 ± 24.4	93.1	4:1	72.0	83.6 ± 0.3	116.1
218.4	229.3 ± 3.8	105.0	3:1	72.0	84.3 ± 0.6	117.1
72.8	76.3 ± 5.5	104.8	2:1	36.0	36.6 ± 0.7	101.7
218.4	210.2 ± 8.9	96.2	2:1	108.0	116.7 ± 0.8	108.1
72.8	72.2 ± 0.6	99.2	1:1	72.0	79.1 ± 0.2	109.9
109.2	109.1 ± 0.7	99.9	1:1	108.0	98.6 ± 2.2	91.3

^aDroites de calibration utilisées à la longueur d'onde (λ₀) du croisement zéro:

¹D₃₈₀ = 0.00050114xC - 0.02644 (r=0.994) pour le sulfométuron méthyl;

¹D₃₄₅ = 0.02868xC - 0.17396 (r=0.996) pour le chlorsulfuron.

^bRapport de concentrations (en mol l⁻¹) du sulfométuron-Me sur le chlorsulfuron.

III. METHODE DES MOINDRES CARRÉS PARTIELS (PLS)

1. Introduction

La méthode des moindres carrés partiels ou PLS ("*partial least squares*") est fondée sur une approche chimiométrique de calibration multivariable développée initialement par Wold [9]. La technique a été conçue pour faire face à des situations difficiles de chimie analytique résultant, soit d'effets de matrice importants, soit de phénomènes de recouvrement de bandes spectrales. Ainsi, la méthode est généralement efficace pour l'analyse et/ou la résolution d'échantillons réels contenant des mélanges de plusieurs constituants en présence ou non d'impuretés interférentes [2,10-17]. De nos jours, il existe deux variantes de cette technique, appelées méthodes PLS de type 1 (PLS-1) et de type 2 (PLS-2). Dans les deux procédures, la décomposition spectrale tient compte de la concentration des divers constituants en présence. La différence entre les méthodes PLS-1 et PLS-2 résulte de la manière dont la décomposition spectrale et la régression analytique sont effectuées. La méthode PLS-1 effectue la décomposition et la régression pour chaque constituant de manière individuelle, tandis que la méthode PLS-2 traite les données spectrales simultanément, une seule matrice d'étalonnage étant obtenue pour tous les constituants.

Dans cette deuxième partie du chapitre, nous avons tenté d'appliquer la méthode PLS-1 à l'analyse, puis à la résolution de mélanges binaires des herbicides sulfonilurées dans des échantillons d'eau fortifiés. Nous avons essayé de mettre en lumière les possibilités de cette nouvelle technique, et nous avons comparé ces résultats avec ceux obtenus à l'aide de la méthode des spectres dérivés. Les avantages ainsi que les inconvénients ont été mis en relief et discutés.

2. Conditions analytiques optimales de travail

Lorsqu'on se propose d'étudier des mélanges de constituants analysés séparément dans des conditions analytiques optimales très différentes, il s'avère toujours délicat d'établir de nouvelles conditions optimales communes à des mélanges quelconques de ces constituants. En effet, ces nouvelles conditions doivent aboutir à l'obtention de signaux analytiques de chaque constituant suffisamment intenses pour être analytiquement exploitables. Fréquemment, les situations de compromis qui déterminent le choix final conduisent à sacrifier le signal d'un constituant au détriment de l'autre. Il en résulte que le nombre de mélanges qu'il est possible d'étudier est réduit. L'objectif de notre étude n'était pas d'examiner la résolution de tous les

mélanges binaires d'herbicides sulfonyles, mais de tester la capacité de la méthode PLS à résoudre des mélanges impossibles à traiter par la méthode des spectres dérivés. C'est le cas par exemple, du mélange binaire chlorsulfuron/metsulfuron méthyl, que nous n'avons pas réussi à séparer par les spectres FIP dérivés en raison d'un recouvrement très sévère des bandes spectrales (Fig. 1 et 2b). Nous avons donc appliqué la méthode PLS à la résolution de deux mélanges binaires dans les conditions analytiques optimales du Tableau 6.

Tableau 6: Conditions analytiques optimales de la méthode PLS-1.

Mélanges binaires	Solvant	$\lambda_{ex} / \lambda_{em}$ (nm) ^a	pH	λ_{ex}^m (nm) ^c	t_{irr}^{opt} (s)
Chlorsulfuron	[SDS], 6×10^{-2} M	312 / 398	11.8 ^b	317	150
Metsulfuron-Me	[SDS], 6×10^{-2} M	322 / 378	11.8 ^b		
Sulfométuron-Mé	[CTAC], 2×10^{-3} M	290 / 341	8	304	150
3-Rimsulfuron	[CTAC], 2×10^{-3} M	317 / 365	8		

^aLongueur d'onde analytique d'excitation (λ_{ex}) et d'émission (λ_{em}) maximum des spectres d'ordre zéro;

^bLeurs correspondantes à $[NaOH] = 5 \times 10^{-3}$ M; ^cLongueur d'onde d'excitation (λ_{ex}^m) du mélange.

Contrairement à la méthode des spectres dérivés dans laquelle les spectres individuels de chaque constituant dans le mélange sont traités de manière séparée, la méthode PLS s'applique directement au spectre du mélange; le choix de la longueur d'onde d'excitation moyenne (λ_{ex}^m) à utiliser pour obtenir le spectre d'émission du mélange s'avérera donc critique.

Etant donné que ce spectre doit refléter le profil des spectres des différents constituants, c'est-à-dire correspondre au recouvrement des spectres d'émission individuels (Fig. 4), nous avons sélectionné pour λ_{ex}^m , une valeur intermédiaire obtenue à partir de la moyenne arithmétique des λ_{ex} des constituants (Tableau 6). Par contre, l'analyse par la méthode PLS de mélanges ternaires des herbicides sulfonyles est plus délicate à appliquer, car les écarts entre les longueurs d'onde d'excitation des constituants individuels sont relativement importants.

3. Procédures de calcul

Les spectres FIP d'ordre zéro du mélange étant bruités, nous avons dû procéder au traitement mathématique préalable des ces spectres (*i.e.*, correction et lissage) avant tout développement analytique. Nous avons sélectionné des régions spectrales comprises entre 340

et 500 nm pour le mélange chlorsulfuron/metsulfuron méthyl et entre 320 et 480 nm pour le mélange sulfométuron méthyl/3-rimsulfuron; le traitement s'effectuant sur 160 points dans chaque cas, puisque les spectres sont digitalisés à des intervalles de 1.0 nm. Les spectres lissés sont ensuite convertis au format ASCII et les données spectrales, disposées sous la forme d'une matrice de 160 colonnes et 10 lignes (nombre de points utilisés pour la calibration) sont de nouveau converties au format "PARVUS" avant le traitement final.

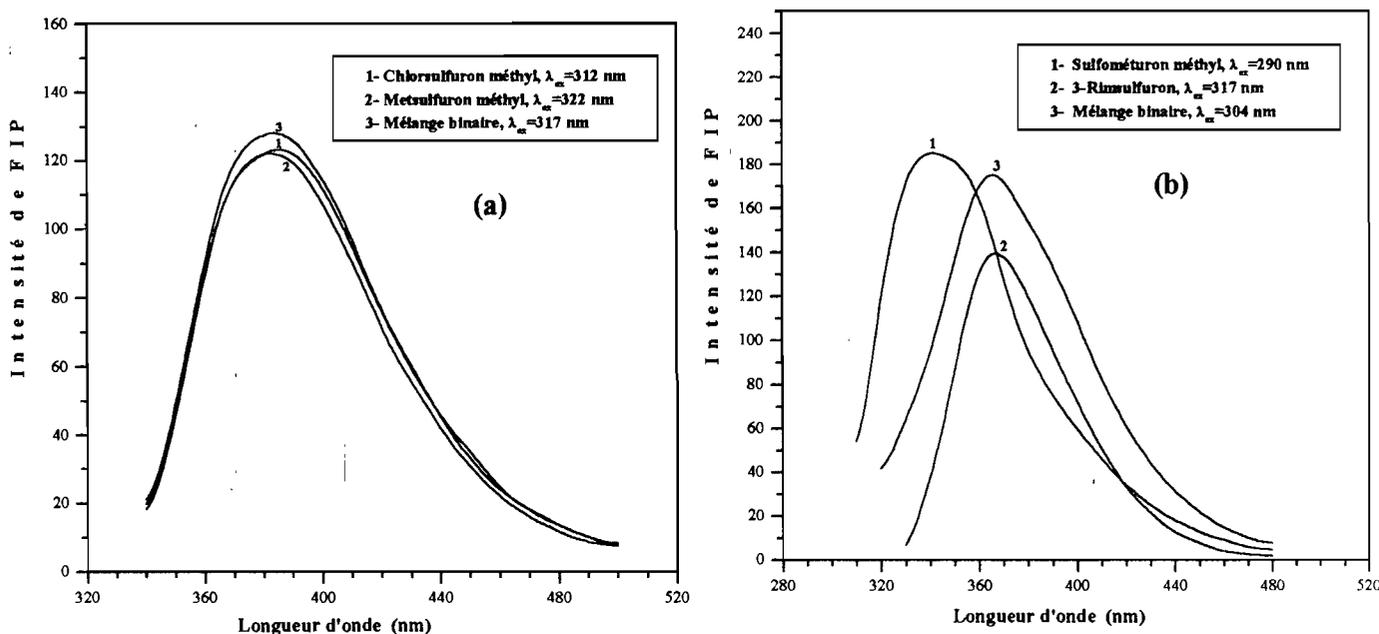


Fig. 4: Spectres d'émission des constituants et du mélange pour les mélanges binaires étudiés. Le rapport de concentration dans le mélange est de 6:1 pour le mélange (a) chlorsulfuron/metsulfuron méthyl et de 7:1 pour le mélange (b) sulfométuron méthyl/3-rimsulfuron.

4. Matrice d'étalonnage

La méthode PLS est une technique du spectre entier puisque l'étalonnage s'effectue sur toutes les longueurs d'onde et non pas sur une seule comme dans les méthodes classiques. Ceci a pour avantage d'accroître la précision des mesures analytiques. Dix échantillons de concentrations variables ($n=10$) des mélanges binaires ont été utilisés pour l'étalonnage. Nous avons employé les domaines de concentration suivantes pour les mélanges binaires étudiés: 288-720 ng ml^{-1} et 23.1-69.1 ng ml^{-1} pour le mélange chlorsulfuron plus metsulfuron méthyl, 145.6-728 ng ml^{-1} et 17.3-129.6 ng ml^{-1} pour le mélange sulfométuron méthyl plus 3-rimsulfuron (Tableau 7).

Tableau 7: Composition des échantillons de la matrice d'étalonnage.

Echantillon	Chlorsulfuron (ng ml ⁻¹)	Metsulfuron-Me (ng ml ⁻¹)	Sulfométuron-Me (ng ml ⁻¹)	3-Rimsulfuron (ng ml ⁻¹)
	<i>Vraie / Prédite</i>	<i>Vraie / Prédite</i>	<i>Vraie / Prédite</i>	<i>Vraie / Prédite</i>
C ₁	360.0 / 364.3	61.5 / 69.1	728.0 / 729.0	129.6 / 136.1
C ₂	720.0 / 720.4	30.7 / 26.4	218.4 / 217.3	108.0 / 111.1
C ₃	576.0 / 567.4	46.1 / 52.6	364.0 / 343.3	86.4 / 81.7
C ₄	360.0 / 360.7	61.5 / 61.6	291.2 / 296.8	64.8 / 68.2
C ₅	576.0 / 581.8	23.1 / 27.8	546.0 / 573.0	43.2 / 46.5
C ₆	288.0 / 279.5	38.4 / 37.4	145.6 / 166.1	34.6 / 28.6
C ₇	432.0 / 429.8	69.1 / 66.7	728.0 / 742.4	25.9 / 21.9
C ₈	504.0 / 509.2	38.4 / 39.6	546.0 / 496.7	17.3 / 19.1
C ₉	648.0 / 645.7	53.8 / 51.4	364.0 / 357.4	64.8 / 91.9
C ₁₀	288.0 / 293.5	69.1 / 58.7	291.2 / 298.9	129.6 / 91.2

4.1. Sélection du nombre optimal de facteurs

L'algorithme de base qui permet de modéliser le système PLS fonctionne par itération. Le nombre d'itérations à effectuer (désigné ici par le nombre de facteurs) toujours pris égal à $(n/2 + 1)$ [13] doit être optimisé, c'est-à-dire que parmi les $(n/2 + 1)$ itérations à effectuer, celle qui donnera la précision optimale (et non la moindre précision) sera retenue pour la suite des opérations. On passe par une série d'étapes pour optimiser le nombre de facteurs. La méthode d'étalonnage utilisée en PLS est appelée la "*validation par permutation circulaire*", car elle laisse de côté un échantillon à chaque fois. Ainsi, pour un nombre total de 10 échantillons, l'étalonnage en PLS s'effectuera d'abord sur 9 échantillons; à l'aide de cet étalonnage, on prédira les concentrations des constituants dans l'échantillon non retenu pendant l'étalonnage. Ce processus sera répété 10 fois de suite jusqu'à ce que chaque échantillon ait été laissé de côté une fois. Les concentrations des constituants prédites dans chaque échantillon sont alors comparées aux concentrations connues (ou concentrations vraies) de ces constituants dans l'échantillon de référence. La somme des carrés des erreurs de prédiction (PRESS, "*prédiction error sum. of squares*") est alors calculée. La valeur de la PRESS est calculée de la même manière pour les $(n/2 + 1)$ nombre de facteurs qui sont ajoutés au fur et à mesure au système de modélisation PLS (Tableau 8). Il apparaît donc que le choix le plus raisonnable de la valeur optimale du nombre de facteurs devrait correspondre au nombre de facteurs donnant la valeur minimale de la PRESS. Mais, la sélection d'un nombre de facteurs correspondant à cette valeur minimale conduit souvent à une surestimation des erreurs.

Tableau 8: Valeurs des erreurs de prédiction (pour les 10 échantillons de l'étalonnage) et de la PRESS en fonction du nombre de facteurs.

Nombre de facteur	1	2	3	4	5	
Chlorsulfuron	182.31	129.39	86.4	38.51	4.42	
	217.07	64.29	84.45	2.88	9.16	
	81.55	68.13	77.5	68.46	17.75	
	188.06	0.29	63.14	2.32	8.27	
	202.86	124.85	96.53	6.28	4.14	
	45.26	25.83	6.91	40.58	10.69	
	81.91	4.11	30.77	26.22	2.63	
	106.06	96.82	88.81	28.17	6.88	
	98.97	18.56	0.79	40.44	13.37	
	144.71	28.77	7.92	0.55	16.54	
PRESS	214267.951	52334.6596	42852.8206	10986.3767	1124.8929	
Rapport-F	0.00124473	0.005096158	0.006223761	0.024276038	0.237094305	
Probabilité du rapport-F	1	0.999999977	0.99999995	0.999989572	0.971219816	

Metsulfuron-Me	4.44	0.13		8.48	8.38	8.42
	22.14	0.75		2.84	2.81	0.67
	5.89	4.8		6.33	6.48	4.26
	3.83	11.45		1.18	1.14	1.05
	16.18	9.83		2.9	2.89	2.5
	3.37	2.41		1.84	1.93	2.75
	15.1	8.77		2.56	2.49	2.58
	3.43	2.68		0.15	0.26	0.66
	3.95	5.62		3.11	3.27	5.98
	23.64	14.2		10.29	10.24	7.54
PRESS	1646.6305	574.4786		255.3652	255.3057	204.1119
Rapport-F	0.123957318	0.355299397		0.799294109	0.799480388	1
Probabilité du rapport-F	0.996070602	0.917677444		0.620497779	0.620376562	0.5

Nombre de facteur	1	2	3	4		6
Sulfométuron-Me	48.05	111.96	14.13	9.09		9.16
	215.23	76.32	31.72	0.71		16.86
	56.43	12.62	2.2	17.66		6.35
	48.84	63.66	8.92	12.98		2.22
	164.13	44.62	66.12	10.55		20.75
	48.47	144.43	87.58	26.68		31.71
	232.22	10	61.59	44.69		0.75
	237.63	54.9	65.39	67.8		36.64
	56.51	39.34	31.28	33.99		0.86
	115.47	52.11	10.53	6.19		2.07
PRESS	210411.29	52799.711	22490.832	9174.2854		3197.5793
Rapport-F	0.015196805	0.060560545	0.142172566	0.348537151		1
Probabilité du rapport-F	0.999998305	0.999676489	0.993856614	0.921375131		0.5

3-Rimsulfuron	0.63	31.58		5.56	7.03	5.08
	35.23	8.36		9.17	9.11	12.84
	15.85	7.37		0.97	1.42	4.85
	7.74	10.61		7.54	10.26	12.11
	20.88	2.24		7.18	1.67	0.18
	1.99	20.56		5.46	4.55	1.88
	57.28	14.29		0.89	5.32	2.08
	34.47	0.88		2.26	4.96	1.95
	5.77	9.09		14.92	8.98	7.62
	61.36	49.1		37.63	37.4	36.04
PRESS	10260.1362	4360.2228		1898.682	1795.4928	1729.4883
Rapport-F	0.168563873	0.396651359		0.910888869	0.963238783	1
Probabilité du rapport-F	0.989487888	0.893753305		0.550894441	0.52047305	0.5

Pour la formule de la PRESS, voir Eq. (1)

$$\text{Rapport-F} = \frac{(\text{PRESS})_{\min}}{(\text{PRESS})}$$

Probabilité du rapport-F = LOI.F (Rapport-F; n-2; n-2), avec n=10.

Un test statistique basé sur le test-F est alors pratiqué pour déterminer la valeur optimale de la PRESS (Tableau 8). En effet, la PRESS constitue une mesure de la précision avec laquelle un modèle PLS particulier est représentatif des données de la concentration. Le test-F permet donc de déterminer la signification des valeurs de la PRESS plus grandes que la valeur minimale. Au fur et à mesure que les écarts entre la valeur de la PRESS minimale et les autres valeurs se réduisent, la probabilité pour que l'addition d'un nouveau facteur au modèle PLS soit significatif devient plus faible (Tableau 8). Haaland et Thomas [10-12] ont montré de façon empirique qu'une probabilité du rapport-F de l'ordre de 0.75 représente un bon choix. En général, c'est la première valeur du nombre de facteurs pour laquelle la probabilité du rapport-F tombe en dessous de 0.75 qui est retenue comme valeur optimale. L'évolution des valeurs de la PRESS en fonction du nombre de facteurs est représentée dans la Fig. 5, dans laquelle nous avons indiqué les valeurs optimales du nombre de facteurs. Ces valeurs sont, respectivement, de 6 et 3 pour le chlorsulfuron et le metsulfuron méthyl et de 5 et 3 pour le sulfométuron méthyl et le 3-rimsulfuron (voir colonnes grisées du Tableau 8).

4.2. Paramètres statistiques

Le procédé utilisé pour évaluer la bonne corrélation des points de la matrice d'étalonnage consiste à comparer les concentrations de référence (ou concentrations vraies) avec celles prédites par l'algorithme PLS (Fig. 6). Lorsqu'on représente les concentrations vraies en fonction des concentrations prédites, on obtient des coefficients de corrélation variant entre 0.9893 et 0.9994 (Equation (3) et Tableau 9). En vue d'obtenir une indication de l'erreur moyenne commise au cours de l'étalonnage, on calcule la racine carrée moyenne des carrés de la différence (RMCD) selon l'équation (2) (Tableau 9). Il en est de même de la racine carrée de l'erreur relative de prédiction (REP), exprimée comme le pourcentage de la moyenne de la concentration vraie (Equation (4), Tableau 9).

La RMCD représente une estimation de l'erreur absolue de prédiction pour chaque constituant. L'ensemble des résultats statistiques pour les deux mélanges binaires trouvés sont résumés dans le Tableau 9. Il apparaît ainsi que la précision de la matrice d'étalonnage est satisfaisante car elle est inférieure ou égale à 8%.

Tableau 9: Paramètres statistiques de la matrice d'étalonnage.

Mélanges binaires	Nombre optimal de facteurs	RMCD	r ²	REP (%)
Chlorsulfuron	6	5.16	0.9994	1.09
Metsulfuron-Me	3	2.09	0.9908	4.26
Sulfométuron-Me	5	14.87	0.9971	3.52
3-Rimsulfuron	3	5.77	0.9893	8.20

$$\text{PRESS} = \sum_{i=1}^{i=n} (\hat{C}_i - C_i)^2 \quad (1);$$

$$\text{RMCD} = \left[\frac{1}{n} \sum_{i=1}^{i=n} (\hat{C}_i - C_i)^2 \right]^{\frac{1}{2}} \quad (2);$$

$$r^2 = \frac{\sum_{i=1}^{i=n} (\hat{C}_i - \bar{C})^2}{\sum_{i=1}^{i=n} (C_i - \bar{C})^2} \quad (3);$$

$$\text{REP} (\%) = \frac{100}{\bar{C}} \left[\frac{1}{n} \sum_{i=1}^{i=n} (\hat{C}_i - C_i)^2 \right]^{\frac{1}{2}} \quad (4).$$

PRESS: somme des carrés des erreurs de prédiction; **RMCD**: racine carrée de la moyenne des carrés de la différence; **r²**: coefficient de corrélation; **REP**: reproductibilité ou erreur relative de prédiction;

C_i: concentration vraie; **Ĉ_i**: concentration estimée; **C̄**: moyenne de C_i; **n**: nombre d'échantillons d'étalonnage.

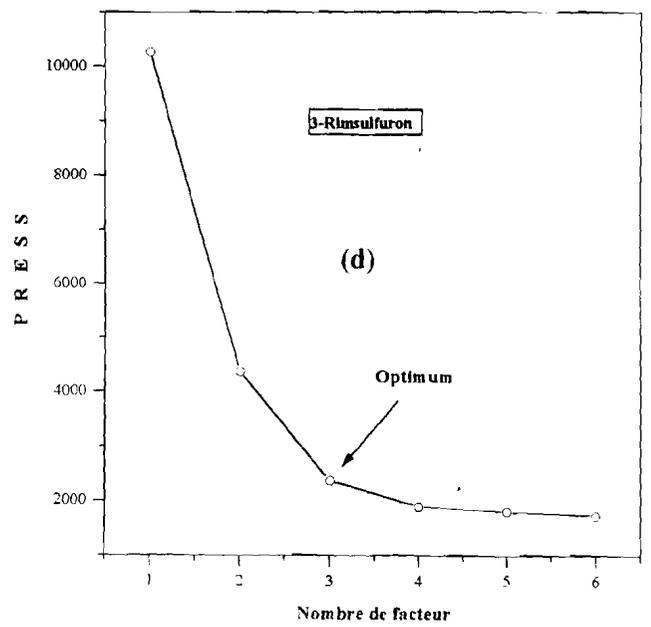
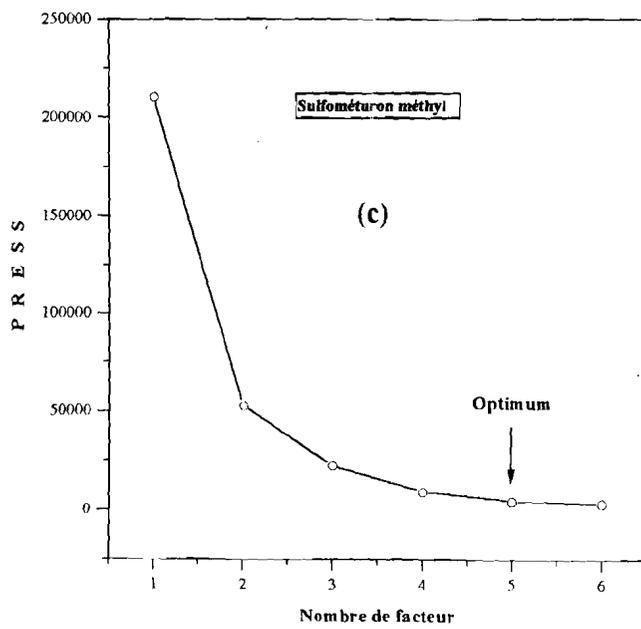
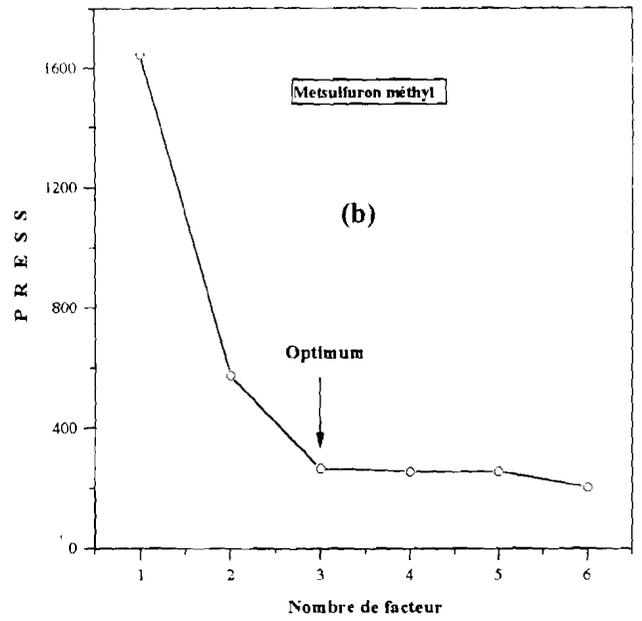
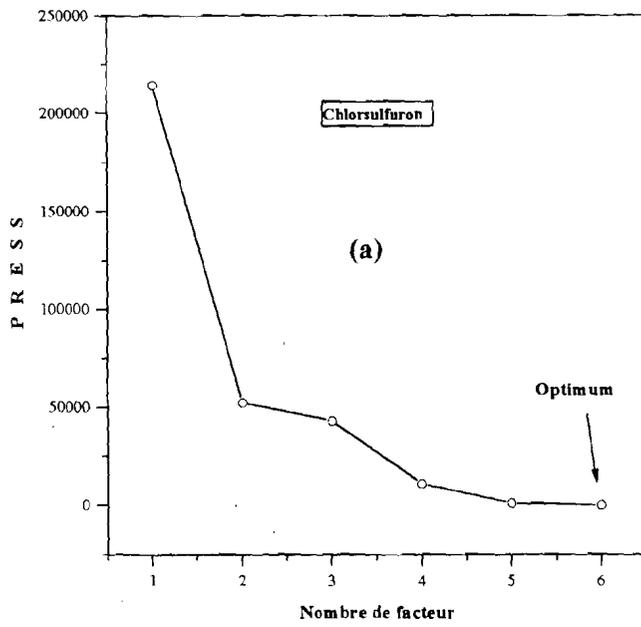


Fig. 5: Représentation des valeurs de la PRESS en fonction du nombre de facteurs utilisé lors de l'étalonnage. Les valeurs optimales du nombre de facteurs sont indiqués.

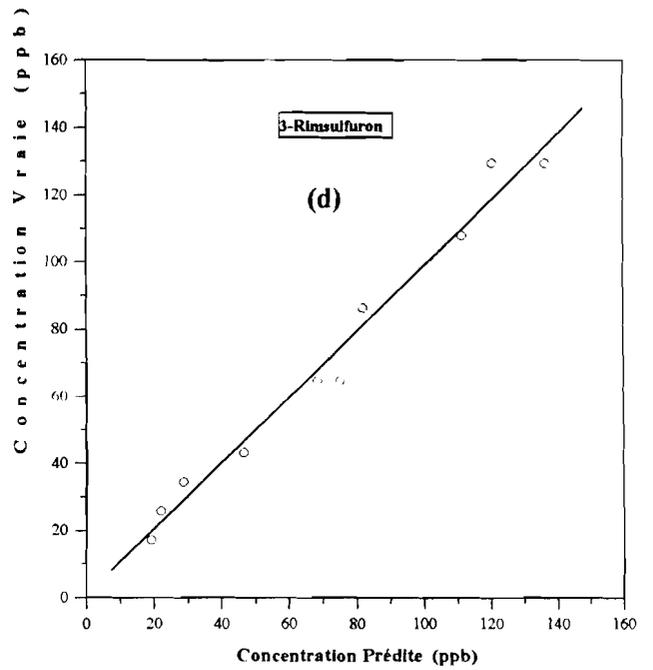
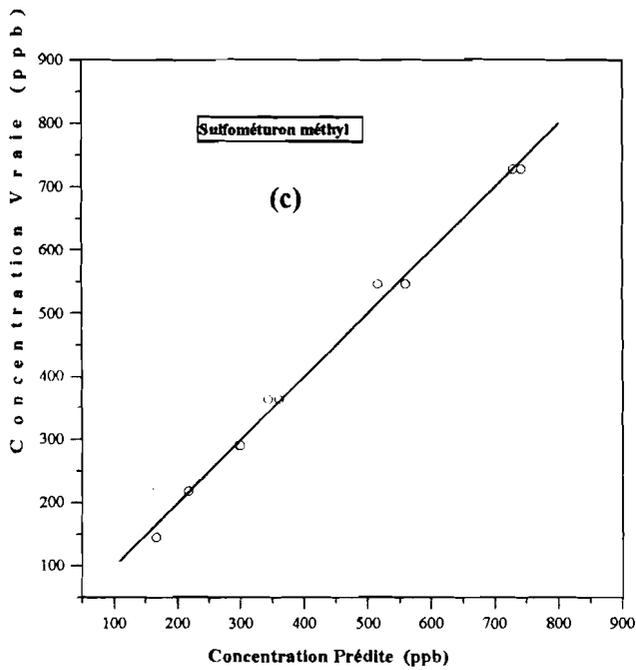
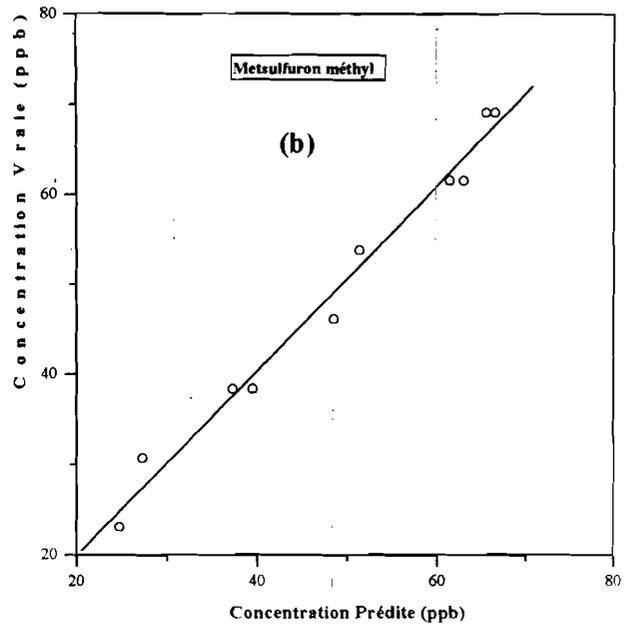
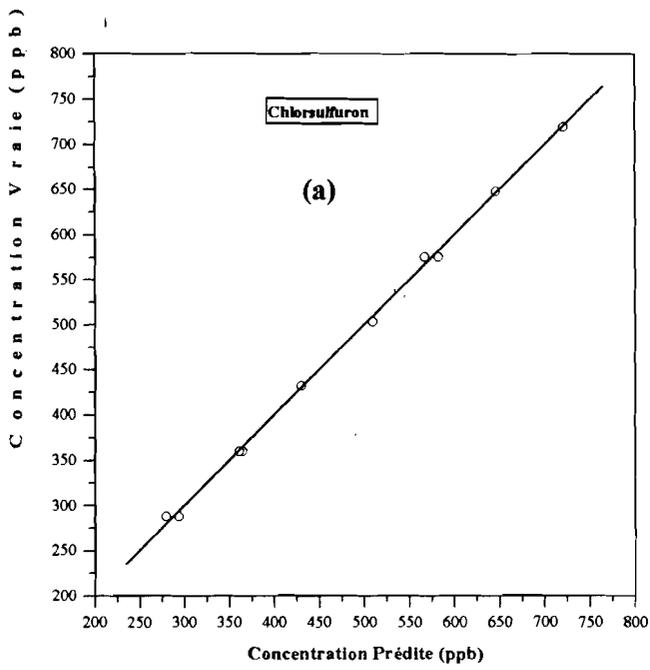


Fig. 6: Représentation graphique de la concentration vraie des herbicides en fonction de la concentration prédite par le modèle PLS-1.

5. Matrice de validation

La matrice d'étalonnage optimisée a été appliquée à la détermination simultanée de mélanges binaires étudiés sur des échantillons d'eau fortifiés. Huit séries d'échantillons de concentrations contenant des proportions variables des constituants et appartenant au même domaine de linéarité que la matrice d'étalonnage ont été préparés comme matrice de validation. Les résultats rassemblés dans les Tableaux 10 et 11 montrent que les pourcentages de récupération du premier mélange sont compris entre 75-118% pour le chlorsulfuron et 63-86% pour le metsulfuron méthyl. Pour le second mélange binaire, les pourcentages de récupération sont de 78-98% pour le sulfométuron méthyl et de 69-106% pour le 3-rimsulfuron. Dans le cas du metsulfuron méthyl, toutefois, les pourcentages de récupération sont un peu faibles, probablement en raison du temps d'irradiation de 150 s utilisé pour ce mélange alors que la valeur du temps d'irradiation optimal est de 60 s pour cet herbicide.

Tableau 10: Résolution du mélange binaire chlorsulfuron/metsulfuron méthyl par la méthode PLS-1.

Chlorsulfuron (ng ml ⁻¹)			Rapport de ^a concentration	Metsulfuron méthyl (ng ml ⁻¹)		
<i>Ajoutée</i>	<i>Trouvée</i>	Récupération (%)		<i>Ajoutée</i>	<i>Trouvée</i>	Récupération (%)
576	528	91.7	10:1	61.5	50.5	82.1
360	367	101.9	10:1	38.4	24.1	62.8
288	339	117.7	5:1	69.1	53.2	77.0
648	564	87.0	23:1	30.7	26.5	86.3
504	375	74.4	10:1	53.8	40.9	76.0
432	380	88.0	10:1	46.1	34.5	74.9
576	457	79.4	10:1	61.5	44.2	71.9
720	552	76.7	33:1	23.1	16.9	73.2

Tableau 11: Résolution du mélange binaire sulfométuron méthyl/3-rimsulfuron par la méthode PLS-1.

Sulfométuron méthyl (ng ml ⁻¹)			Rapport de ^a concentration	3-Rimsulfuron (ng ml ⁻¹)		
<i>Ajoutée</i>	<i>Trouvée</i>	Récupération (%)		<i>Ajoutée</i>	<i>Trouvée</i>	Récupération (%)
364	358	98.4	10:1	43.2	45.7	105.8
546	452	82.8	10:1	64.8	57.5	88.8
728	566	77.8	10:1	86.4	69.0	79.9
364	311	85.5	4:1	129.6	91.0	70.2
291.2	264	90.7	3:1	108.0	74.3	68.8
728	593	81.5	25:1	34.6	27.0	78.0
546	514	94.2	25:1	25.9	26.3	101.6
218.4	214.3	98.2	15:1	17.3	14.9	86.2

^a Rapport de concentration en mol l⁻¹.

6. Remarques conclusives

Nous avons démontré que les méthodes d'étalonnage multivariable telle la méthode PLS-1 offrent la possibilité d'analyser les mélanges binaires des herbicides sulfonyles. De plus, la méthode nous a permis de résoudre un mélange impossible à analyser par la méthode des spectres dérivés (mélange chlorsulfuron/metsulfuron méthyl). La méthode PLS-1 s'avère donc très utile pour résoudre des mélanges complexes de ces herbicides pour lesquels on observe des phénomènes de recouvrements des spectres d'émission de FIP très importants.

IV. CONCLUSION

Les méthodes chimiométriques ont eu un grand impact en chimie analytique. En effet, ces méthodes numériques permettent d'analyser des échantillons réels complexes, tels que les mélanges d'herbicides sulfonyles étudiés dans notre travail, sans qu'il soit nécessaire d'avoir recours à une procédure de séparation. Outre la précision des mesures analytiques, les avantages sont évidemment des gains de temps très importants. De plus, la méthode PLS qui constitue une technique du spectre entier s'avère plus précise que la méthode des spectres dérivés qui est basée sur une seule valeur de longueur d'onde. La méthode PLS est donc complémentaire de celle des spectres dérivés et présente l'avantage d'analyser et/ou résoudre rapidement des mélanges de pesticides présents dans l'environnement.

V. REFERENCES

- [1] A. Savitzky, M.J.E. Golay, *Anal. Chem.* **36** (1964) 1627.
- [2] A. Espinosa-Mansilla, A. Muñoz de la Peña, F. Salinas, A. Zamora, *Anal. Chim. Acta* **258** (1992) 47.
- [3] J.J. Berzas-Navado, M.C. Mahedero, J.A. Olibares, F. Salinas, *Int. J. Environ. Anal. Chem.* **43** (1990) 187.
- [4] A. Salvador, Z.A. De Benzo, M. De la Guardia, *Microchem. J.* **42** (1990) 187.
- [5] S. Traoré, J.-J. Aaron, *Analyst* **114** (1989) 609.
- [6] T.C. O'Haver, G.L. Green, *Anal. Chem.* **48** (1976) 312.
- [7] T.C. O'Haver, *Anal. Chem.* **51** (1979) 91A.
- [8] T.P. Bridge, R.H. Warden, A.F. Fell, *Analyst* **110** (1985) 1307.
- [9] H. Wold, in *Research Papers in Statistics*, ed. F. David, John Wiley & Sons, New York, 1966, pp 411-444.
- [10] D.M. Haaland, E.V. Thomas, *Anal. Chem.* **60** (1988) 1193.
- [11] D.M. Haaland, E.V. Thomas, *Anal. Chem.* **60** (1988) 1202.
- [12] E.V. Thomas, D.M. Haaland, *Anal. Chem.* **62** (1990) 1091.
- [13] M. Sanchez-Peña, A. Muñoz de la Peña, F. Salinas, M.C. Mahedero, *Analyst* **119** (1994) 1177.
- [14] M. Martinez-Galera, J.L. Martinez-Vidal, A. Garrido-Frenich, P. Parrilla, *Analyst* **119** (1994) 1189.

- [15] R. Corbella-Tefia, M.A. Rodriguez-Delgado, M.J. Sanchez, F. Garcia-Montelongo, *Analyst* **121** (1996) 459.
- [16] W. Lindberg, J.-A Persson, S. Wold, *Anal. Chem.* **55** (1983) 643.
- [17] K.R. Beebe, B.R. Kowalski, *Anal. Chem.* **59** (1987) 1007A.

Chapitre IV

**Etude par chromatographie gazeuse-spectrométrie de masse
des photoproduits et des mécanismes de photolyse de
pesticides aromatiques et d'herbicides sulfonylurées**

I. INTRODUCTION

Le nombre de pesticides utilisés dans les différentes applications agricoles ainsi que leurs concentrations relevées dans l'environnement n'ont cessé d'augmenter depuis une décennie. Le sort de ces pesticides après leur application dépend de nombreux processus de dégradation telles que l'hydrolyse, la photolyse et les transformations dues aux micro-organismes [1]. Comme la photolyse constitue l'une des principales voies de dégradation non biologique des pesticides, il est important d'élucider la nature des divers photoproduits obtenus, notamment pour prévenir des problèmes de contamination. De nos jours, la méthode la plus pratique et la plus fiable permettant de caractériser les photoproduits des polluants organiques est la chromatographie (CPG ou CLHP), combinée avec une détection par spectrométrie de masse (SM) [2,3]. En effet, le couplage de la chromatographie et de la spectrométrie de masse permet d'associer le grand pouvoir séparateur de la première méthode avec l'aptitude de la seconde à déterminer les structures moléculaires. De plus, il existe une complémentarité des performances tant qualitatives que quantitatives de ces techniques. Ainsi, la CPG qui est une excellente technique quantitative, mais moins bonne pour les analyses qualitatives permet de compléter la SM qui possède d'excellentes propriétés qualitatives, mais de médiocres propriétés quantitatives.

En utilisant la combinaison de ces deux techniques, nous avons tenté d'identifier les différents photoproduits formés à partir des pesticides sélectionnés possédant une fluorescence photoinduite, à savoir: la deltaméthrine, la fenvalérate, le fénitrothion, le chlorpyrifos, le chlorsulfuron, le metsulfuron méthyl et le sulfométuron méthyl. Nous avons également proposé des mécanismes réactionnels pour la photolyse de ces pesticides.

II. CONDITIONS CHROMATOGRAPHIQUES

En CPG-SM, la sélectivité est améliorée par rapport au système SM seul, car les différents constituants du mélange brut de photoproduits sont d'abord physiquement séparés avant d'arriver au détecteur SM. Nous avons employé dans cette étude deux modes d'ionisation, à savoir: le mode par impact électronique (IE) et celui par ionisation chimique positive (IC). Nous présentons dans le Tableau 1 quelques propriétés de ces deux modes d'ionisation [3]. Dans les deux cas, l'isobutane est utilisé comme gaz ionisant. Les températures de la colonne capillaire au moment de l'injection seront précisées pour chaque pesticide dans les paragraphes suivants.

Tableau 1: Caractéristiques comparées des modes d'ionisation IE et IC en CPG-SM.

	Mode IE	Mode IC
Intérêt	Identification par recherche à partir des banques de données spectrales ($\approx 120\ 000$ spectres appartenant aux composés d'intérêt environnemental sont disponibles).	Identification rapide par comparaison avec les temps de rétention d'échantillons authentiques standards.
Reproductibilité des spectres pour une même classe de pesticide	Très bonne, même pour les données spectrales enregistrées (dans les mêmes conditions) avec différents spectromètres de masse.	Très bonne, seulement avec le même spectromètre de masse.
Pics de base typiques avec l'isobutane comme gaz réactif	$[M]^+$	$[M+H]^+$ $[M+C_3H_8]^+$
Inconvénients	Ne donne pas toujours le pic moléculaire, soit en raison de la fragmentation beaucoup plus importante, soit parce que l'espèce $[M]^+$ pour certains composés est trop labile pour être observée par SM.	Très peu de spectres disponibles dans les banques de données; chaque laboratoire doit collecter ses propres spectres. Influence critique de la température et de la pression sur l'intensité relative des ions.
Sensibilité	Sensiblement la même dans les deux modes pour beaucoup de composés	

Des deux modes opérationnels, le mode IC est traditionnellement le plus employé en raison de ses meilleures informations sur la masse moléculaire que le mode IE ne permet généralement pas d'obtenir. La combinaison des sources IE-IC permettant d'assembler le maximum d'informations spectrales, nous l'utiliserons pour essayer d'élucider la nature des différents produits des réactions de photodégradation des pesticides. Nous tenterons d'identifier aussi la structure de la molécule responsable de l'exaltation du signal de fluorescence observé. L'un des inconvénients majeurs de la CPG-SM, est que le composé à analyser doit être suffisamment volatil pour être observé par CPG; il en résulte que certains photoproduits éventuellement thermolabiles pourraient ne pas être détectés.

III. RESULTATS ET DISCUSSION

Dans ce paragraphe, nous présentons l'ensemble des résultats spectrométriques de masse obtenus pour les 7 pesticides étudiés, selon les deux modes de fragmentation (IE) et (IC). Nous nous limitons pour certains pesticides (cas du fénitrothion), à une interprétation qualitative des données spectrales, les pics correspondants n'ayant pu être intégrés en raison des mauvaises conditions de travail liées à des problèmes techniques, (bruit de fond trop intense nécessitant d'enregistrer les spectres de masse dans les conditions de saturation).

L'un des objectifs de ce travail est d'identifier la molécule responsable de l'exaltation du signal de fluorescence observé. Ainsi, dans le but de déterminer les conditions de sortie des différents photoproduits, une injection préalable de l'échantillon témoin (pesticide non irradié) a été d'abord effectuée avant celle du mélange brut de photoproduits.

Les conditions de photolyse des pesticides aromatiques et des herbicides sulfonylurées en vue de l'étude des photoproduits ont été décrites dans la partie expérimentale (paragraphe II.5.2).

1. Deltaméthrine

La deltaméthrine possède huit isomères optiques (3 centres de chiralité). Deux isomères seulement présentent une activité biologique remarquable: l'isomère 1R, 3R, $\alpha(S)$ ou deltaméthrine et l'isomère 1R, 3S, $\alpha(S)$ [4]. La formulation commerciale de ce pesticide est généralement constituée d'un mélange de ces deux isomères comme le confirment les chromatogrammes et les spectres de masse (non présentés) de l'échantillon témoin: deux pics à des temps de rétention très proches (9.8 et 10.1 min) et des fragments similaires avec le même pic moléculaire $m/z=505$ correspondant à l'ion $[M]^+$ sont obtenus.

1.1. Chromatogrammes et spectres de masse

Une solution 2×10^{-2} M de deltaméthrine est irradiée pendant 30 min et aboutit à un mélange de photoproduits. L'injection de ce mélange brut de photoproduits dans les mêmes conditions que celle de l'échantillon témoin laisse apparaître sept pics (1 à 7) correspondant à des photoproduits, tandis que les deux isomères initiaux sont représentés par les pics A et B (Fig. 1).

Tous les photoproduits observés ont été identifiés; les pics les plus proéminents de leurs spectres de masse respectifs sont présentés dans le Tableau 2.

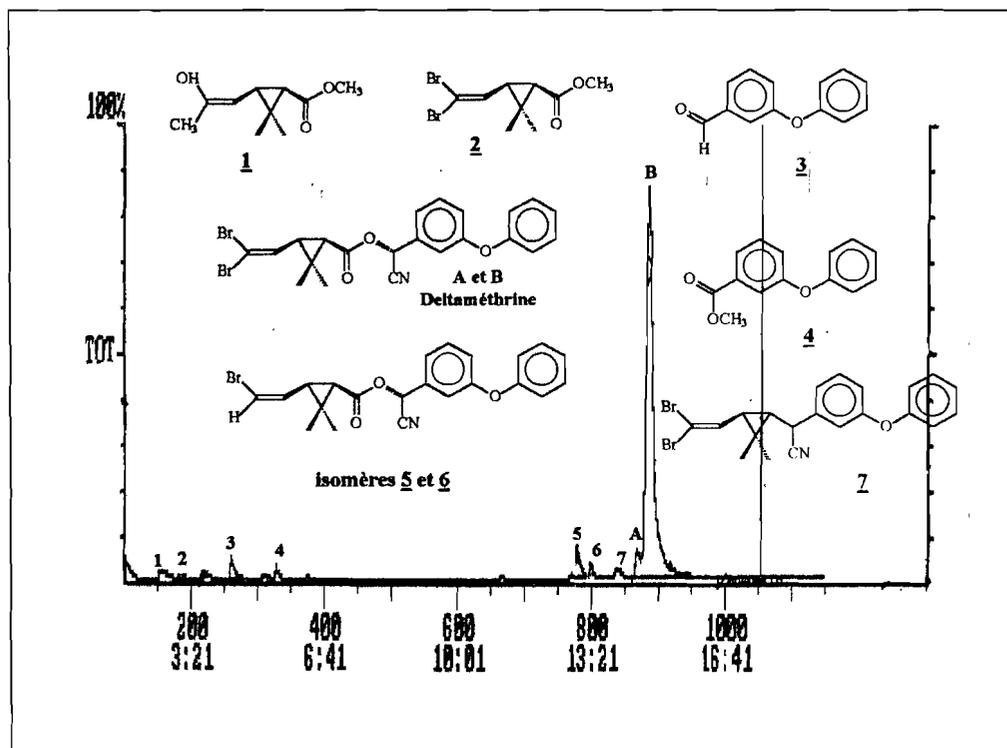


Fig. 1: Chromatogramme en mode IC d'une solution 2×10^{-2} M en deltaméthrine dans (MeCN/MeOH 50:50, v/v) après photolyse, montrant la présence de photoproduits: température d'injection, 240 °C (variant de 100 à 280 °C, 10 °C/min).

Tableau 2: Spectres de masse en mode IC des pics les plus abondants de la deltaméthrine irradiée (30 min)

Pics ^a	t.r. ^b	M ^c	m/z (%)
1 (1.0 %)	2.7	184	185(100) 153(43) 79(25) 109(7) 127(7) 91(6) 71(6) 135(5) 159(3)
2 (0.1 %)	3.1	312	313(100) 127(24) 79(14) 231(13) 91(9) 139(7) 171(2)
3 (2.8 %)	4.4	198	199(100) 79(7) 183(3) 91(2) 171(2)
4 (2.0 %)	5.5	228	229(100) 79(10)
5 (3.5 %)	13.0	426	201(100) 175(56) 208(40) 428(30) 94(14) 382(13) 300(9) 121(8)
6 (2.4 %)	13.3	426	201(100) 173(96) 79(44) 300(38) 428(36) 93(18) 121(17) 399(14)
7 (0.8 %)	14.0	461	237(100) 208(34) 79(32) 461(16) 264(13) 374(11) 320(10) 415(4)
A (3.0 %) ^d	14.5	505	281(100) 208(30) 505(19) 79(13) 253(12) 308(8) 380(6) 459(5)
B (84.4 %)	14.8	505	281(100) 253(35) 208(24) 93(17) 505(16) 181(15)

^aNuméros des pics correspondants au chromatogramme de la Fig. 1; les pourcentages sont indiqués entre parenthèses; ^bTemps de rétention (min); ^cMasse molaire (g mol^{-1}); ^dL'isomère A s'est probablement transformé en B pendant l'irradiation.

1.2. Mécanisme de photolyse de la deltaméthrine

Au vu de l'ensemble de ces résultats, nous pouvons proposer un mécanisme de dégradation photochimique de la deltaméthrine pour un taux de photoconversion de 15.6 %. Le schéma réactionnel de ce mécanisme est présenté dans la Fig. 2.

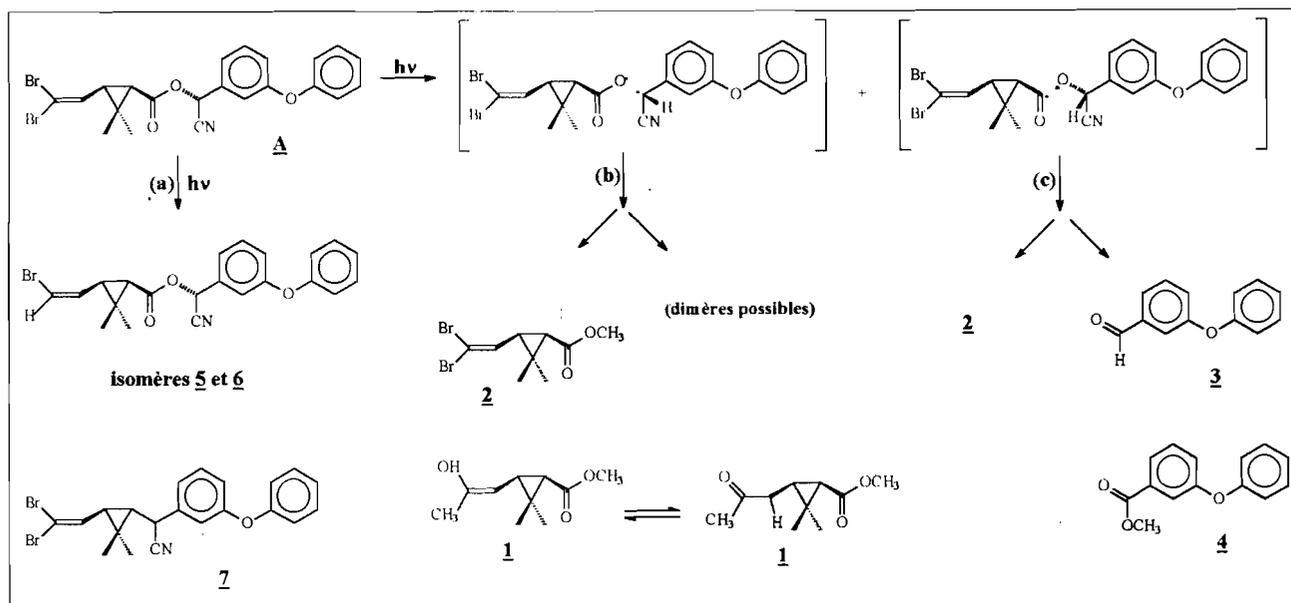


Fig. 2: Mécanisme de formation des photoproduits obtenus pour la deltaméthrine (2×10^{-2} M) irradiée (30 min) dans le mélange MeCN/MeOH (50:50, v/v) pour un taux de photoconversion de 15.6 %.

Il apparaît que trois voies de photodégradation de la deltaméthrine permettent d'interpréter la formation des photoproduits observés.

➤ **Voie (a): débromation et décarboxylation:** la débromation réductive est une voie importante de photoréaction de la deltaméthrine [4,5] par UV et conduit aux isomères **5** et **6**, tandis que le photoproduit **7** est obtenu par décarboxylation.

➤ **Voie (b):** elle commence par une scission de la liaison carboxyle-carbone tertiaire pour donner deux fragments. Il en résulte différentes réactions de recombinaison comprenant un processus d'arrachement de groupes méthyles aux molécules de solvant (MeOH et MeCN) pour donner les composés **1** et **2**. On peut noter qu'aucun produit issu de la dimérisation du fragment de droite, généralement observé dans les solvants de faible polarité (hexane), n'a été détecté [4,5].

➤ **Voie (c):** elle comprend une première étape de rupture de la liaison carbonyle-oxygène, suivie de réactions de recombinaison par enlèvement d'atomes aux molécules de solvant pour donner les photoproduits **3** et **4**.

Compte tenu de leur structure aromatique, les composés **3** et **4** sont très probablement à l'origine de l'exaltation du signal de fluorescence observé. Toutefois, l'irradiation de la

deltaméthrine dans le méthanol pur ne fait pas apparaître le photoproduit **3**, (chromatogramme non présenté); seul le composé **4** (le 3-phénoxy méthyl benzoate) est obtenu.

A l'exception du composé **1**, les photoproduits obtenus correspondent à ceux identifiés dans la littérature pour ce pesticide [4,5].

Enfin, une irradiation exhaustive de la deltaméthrine dans le MeOH pur (jusqu'à sa disparition totale) conduit à trois pics très intenses difficiles à identifier à l'exception d'un seul d'entre eux, et correspondant au composé **4**.

2. Fenvalérate

Nous avons d'abord injecté l'échantillon témoin afin de déterminer les conditions chromatographiques de sortie des pics, puis le mélange brut de photoproduits. Nous avons ainsi déterminé les temps de rétention de la fenvalérate et de ses photoproduits (Tableau 3).

Le chromatogramme (Fig. 3) indique que l'échantillon technique commercial de la fenvalérate est un mélange de deux isomères optiques (pics A et B) parmi les quatre existants. Ce résultat est confirmé par les spectres de masse obtenus (spectres non présentés) qui donnent des fragments similaires et le même pic moléculaire $m/z=419$ correspondant à l'ion $[M]^+$.

2.1. Chromatogrammes et spectres de masse

Une solution d'environ 2×10^{-2} M de fenvalérate ayant subi une irradiation de 15 min dans le MeCN et injectée dans les mêmes conditions que l'échantillon témoin en mode IE laisse apparaître six pics (1 à 6) correspondant à des produits nouveaux et deux pics A et B appartenant aux deux isomères de la fenvalérate (Fig. 3).

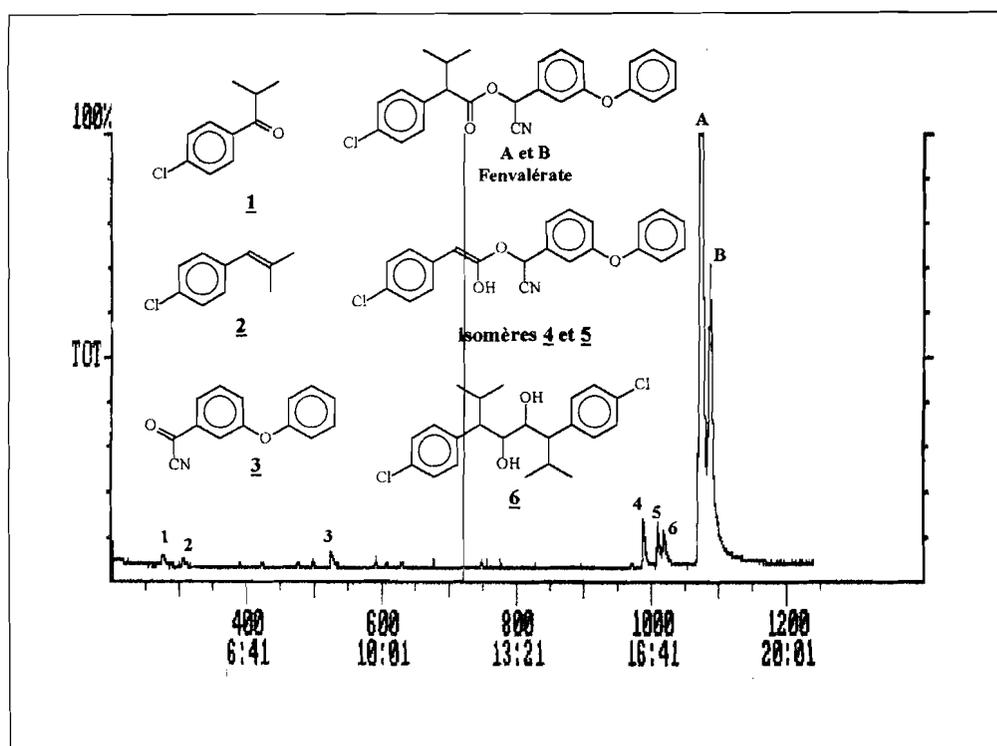


Fig. 3: Chromatogramme en mode IE d'une solution 2×10^{-2} M en fenvalérate (dans MeCN) après photolyse, montrant la présence de photoproduits: température d'injection, 240 °C (variant de 60 à 280 °C, 10 °C/min).

Nous présentons dans le Tableau 3 le détail des pics les plus abondants des spectres de masse des six photoproduits et des deux isomères de la fenvalérate.

Tableau 3: Spectres de masse en mode IC des pics les plus abondants de la fenvalérate irradiée (15 min).

Pics ^a	t.r. ^b	M ^c	m/z. (%)
1 (0.7 %)	4.6	182.5	183(100) 79(14) 71(11) 91(6) 139(4) 147(3)
2 (0.5 %)	5.1	166.5	167(100) 79(31) 73(24) 91(9) 149(9) 141(8) 125(5)
3 (1.0 %)	8.8	223	197(100) 224(26) 79(15) 214(12) 91(5)
4 (2.4 %)	16.5	377.5	376(100) 210(33) 167(15) 349(4) 125(3) 250(3)
5 (2.4 %)	16.8	377.5	376(100) 210(56) 167(27) 349(6) 125(5) 250(5)
6 (2.0 %)	17.0	395	167(100) 215(40) 197(15) 79(13) 376(12)
A (91.0 %) ^d	17.9	419	167(100) 225(42) 208(36) 125(12) 419(8) 248(6) 392(3)
B ^d	18.1	419	167(100) 208(43) 225(33) 125(12) 419(8) 248(5) 152(3)

^aNuméros des pics correspondants au chromatogramme de la Fig. 3; les pourcentages sont indiqués entre parenthèses; ^bTemps de rétention (min); ^cMasse molaire (g mol^{-1}); ^dPourcentage commun aux deux isomères (A-B).

2.2. Mécanisme de photolyse de la fenvalérate

L'irradiation de la fenvalérate dans l'acétonitrile donne six photoproduits distincts que nous avons identifiés formellement. Ceci nous amène donc à proposer un mécanisme de photolyse de la fenvalérate aboutissant à la formation de ces six composés dans l'acétonitrile.

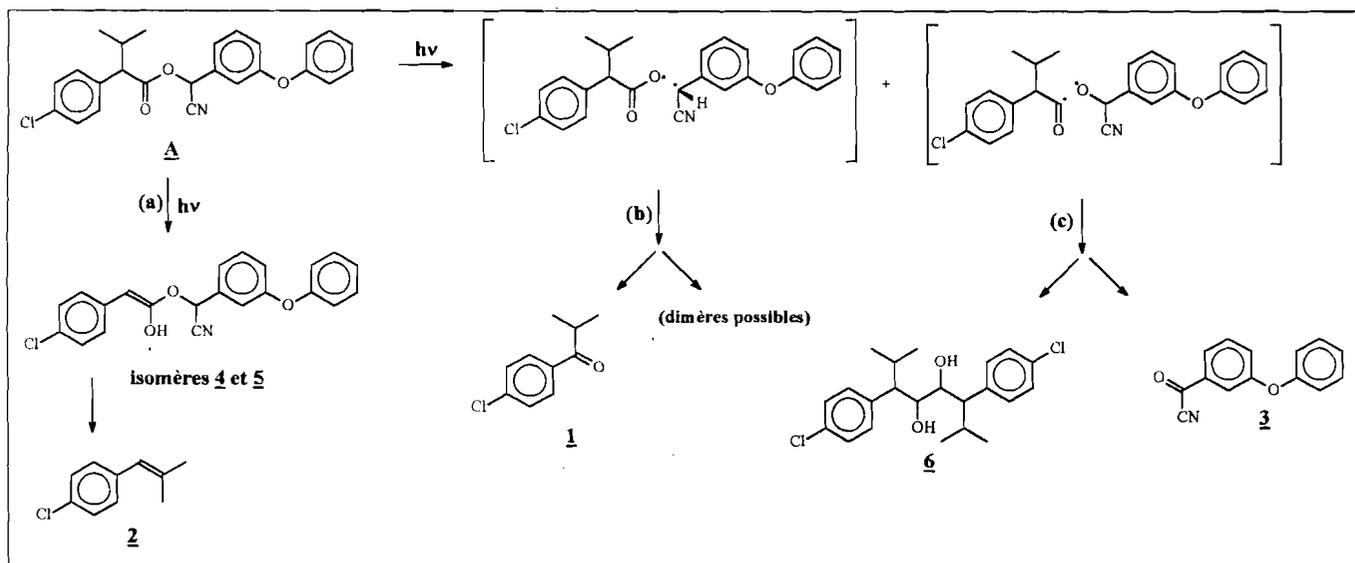


Fig. 4: Mécanisme de formation des photoproduits obtenus pour la fenvalérate (2×10^{-2} M) irradiée (15 min) dans le MeCN pour un taux de photoconversion de 9 %.

Les principales étapes appartiennent à trois types:

(i) Les deux isomères **4** et **5** seraient formés par enlèvement du groupe isopropyle de la fenvalérate (voie a), tandis que le photoproduit **2** serait issu de photoréactions secondaires des mêmes fragments;

(ii) Le fragment **1** serait obtenu par suite d'une rupture homolytique de la liaison carboxyle-carbone tertiaire (voie b);

(iii) Les photoproduits **3** et **6** se formeraient par rupture homolytique de la liaison carbonyle-oxygène (voie c). La dimérisation de la moitié gauche du fragment donne le composé **6** tandis que le produit **3** est obtenu par une simple recombinaison radicalaire.

Le composé **3**, qui est le seul photoproduit ne possédant pas d'atomes de chlore dans sa structure, serait probablement à l'origine du signal de fluorescence photoinduit observé après irradiation.

3. Fénitrothion

3.1. Chromatogrammes et spectres de masse

Nous présentons dans la Fig. 5 le chromatogramme du mélange brut de photoproduits obtenu pour le fénitrothion irradié dans le mélange MeCN/DMSO 99:1, (v/v).

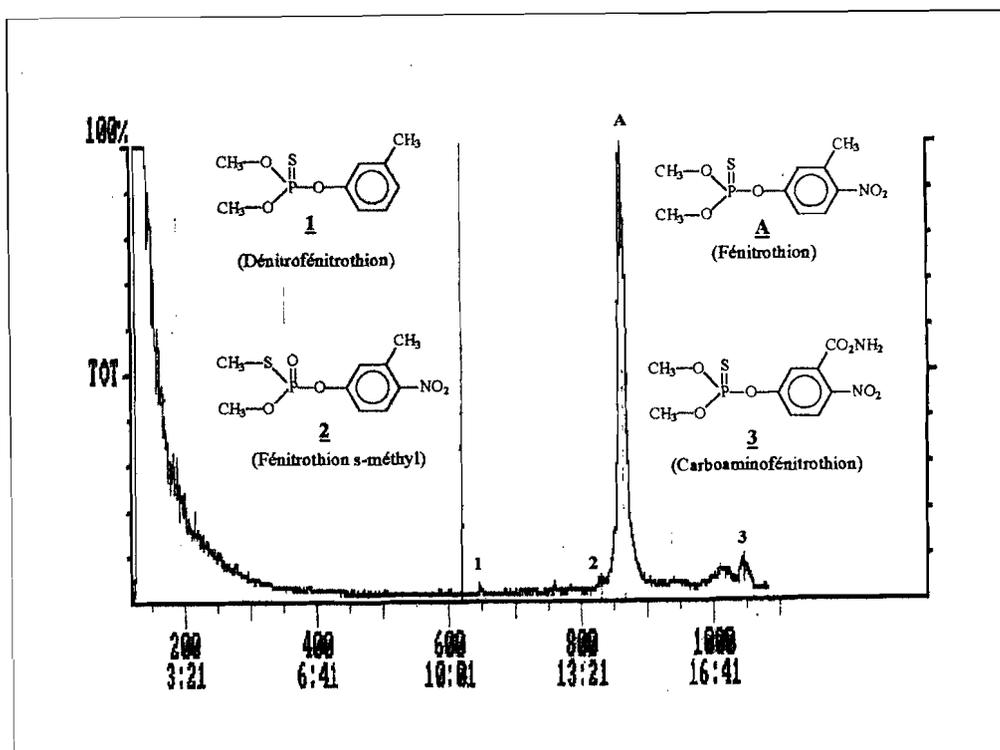


Fig. 5: Chromatogramme en mode IC d'une solution 0.1 M en fénitrothion dans le mélange (MeCN/DMSO, 99:1, v/v) après irradiation, montrant la présence de photoproduits: température d'injection, 220 °C (variant de 60 à 240 °C, 10 °C/min).

Malgré une irradiation exhaustive du fénitrothion (60 min), le signal du pesticide (pic **A**) reste intense par rapport aux pics **1**, **2** et **3** très faibles dont les intensités sont proches du bruit de fond. Par conséquent, il s'avère très difficile d'intégrer correctement les pics dans ces conditions et de quantifier les concentrations de photoproduits formés. Néanmoins, nous avons pu identifier les ions les plus abondants de leurs spectres de masse (Tableau 4).

Tableau 4: Spectres de masse en mode IC des pics les plus abondants du fénitrothion irradié (60 min).

Pics ^a	t.r. ^b	M ^c	m/z (%)
1	10.8	232	233(100) 79(51) 71(6) 91(5) 105(5) 125(4) 273(4) 147(3)
2	13.8	277	278(100) 249(62) 79(53) 149(15) 260(12) 71(10) 127(4) 157(4)
A	14.5	277	278(100) 79(9) 125(7) 111(4) 260(4) 93(3)
3	17.4	322	79(100) 323(76) 276(72) 125(11) 290(12) 91(9) 253(9)

^aNuméros des pics correspondants au chromatogramme de la Fig. 5: les pourcentages ne sont pas indiqués à cause des difficiles conditions de travail due à la saturation.; ^bTemps de rétention (min); ^cMasse molaire (g mol⁻¹).

3.2. Mécanisme de photolyse du fénitrothion

Compte tenu de ces résultats, le schéma réactionnel suivant peut être proposé (Fig. 6).

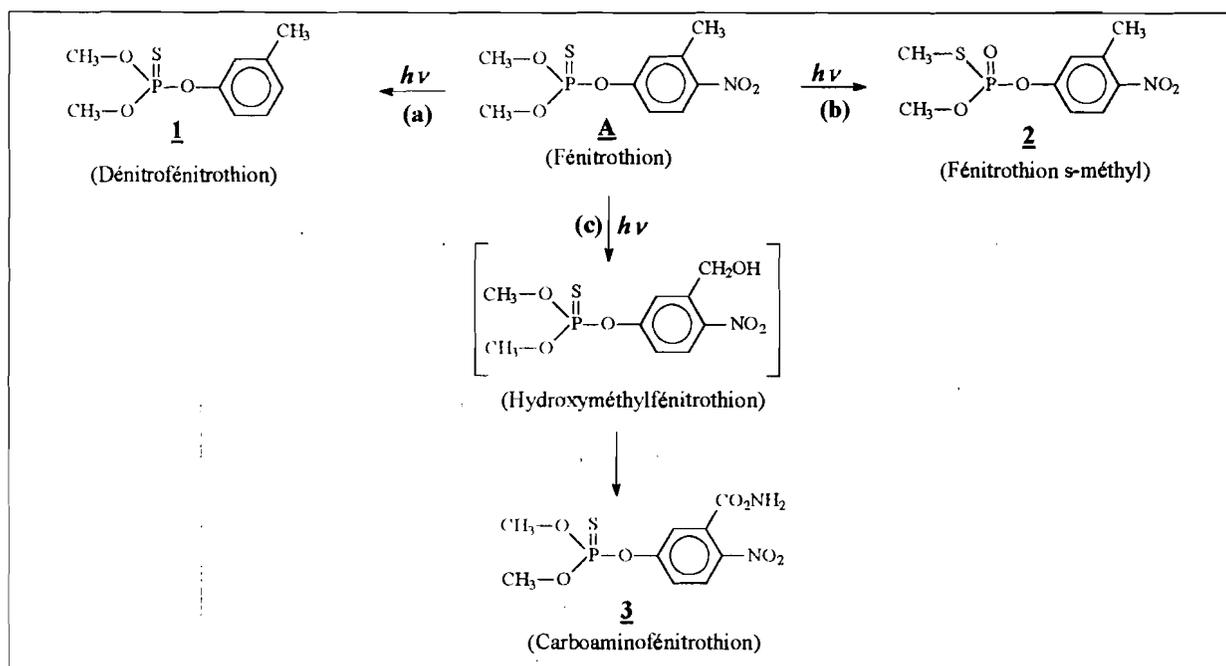


Fig. 6 : Mécanisme de formation des photoproduits obtenus pour le fénitrothion (0.1 M) irradié (60 min) dans le mélange (MeCN/DMSO 99:1, v/v).

Les photoréactions mises en jeu sont principalement de trois types: (voie a) perte du groupe nitro conduisant au dénitrofénitrothion (**1**); (voie b) isomérisation du fénitrothion en fénitrothion s-méthyl (**2**) [6]; (voie c) oxydation du groupe méthyl aromatique en groupe carboxyle (avec comme intermédiaire réactionnel, l'hydroxyméthylfénitrothion [6]) suivie de la réaction de solvolysse du groupe carboxyle en groupe carboamino pour donner la carboaminofénitrothion (**3**).

D'autre part, parmi les différents photoproduits obtenus, le dénitrofénitrothion (**1**) est vraisemblablement à l'origine de l'émission de fluorescence observé au cours de l'irradiation; en effet, le processus de dénitration devrait favoriser l'apparition de la fluorescence pour ce photoproduit.

4. Chlorpyriphos

Une solution d'environ 2×10^{-2} M de chlorpyriphos dans le mélange MeCN/DMSO (60:40, v/v) a été irradiée pendant 40 min, puis injectée. Le chromatogramme correspondant révèle la formation d'un seul photoproduit (pic 1), issu de la monodéchloration du

chlorpyrifos (Fig. 7). Les ions les plus proéminents du spectre de masse ont pu être facilement identifiés (Tableau 5).

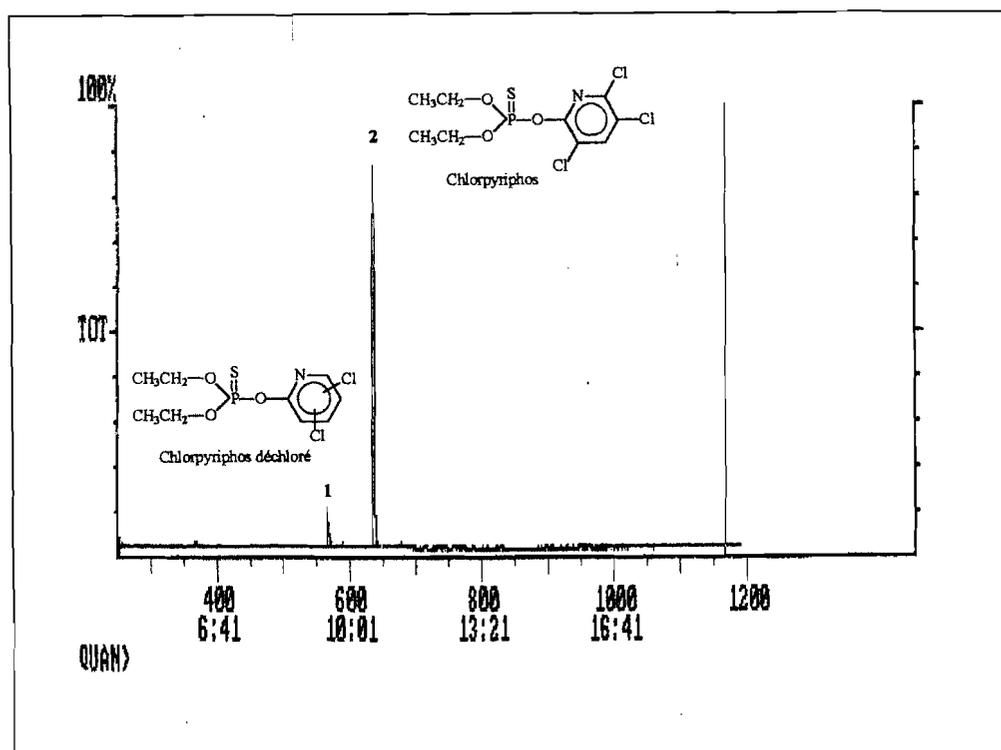


Fig. 7: Chromatogramme en mode IE d'une solution 2×10^{-2} M en chlorpyrifos dans le mélange (MeCN/DMSO, 60:40, v/v) après irradiation, montrant la présence de photoproduits: température d'injection, 220 °C (variant de 60 à 280 °C, 10 °C/min).

Tableau 5: Spectres de masse en mode IC des pics les plus abondants du chlorpyrifos irradié (40 min).

Pics ^a	t.r. ^b	M ^c	m/z (%)
1 (5.5 %)	9.4	315	316(100) 356(4) 174(3) 254(3) 280(3)
2 (94.5 %)	10.6	350.5	352(100) 97(16) 314(14) 125(4) 153(4) 198(3)

^aNuméros des pics correspondants au chromatogramme de la Fig. 7: les pourcentages sont indiqués entre parenthèses; ^bTemps de rétention (min); ^cMasse molaire (g mol^{-1}).

5. Chlorsulfuron

Comme tous les herbicides sulfonyles, le chlorsulfuron est un composé non volatil, ce qui rend délicat sa détermination par chromatographie gazeuse. Après irradiation de la solution de l'herbicide dans l'eau, les photoproduits obtenus ont été extraits avec le dichlorométhane selon la procédure décrite dans la partie expérimentale (paragraphe II.5.2).

5.1. Chromatogrammes et spectres de masse

Une solution d'environ 5×10^{-2} M de chlorsulfuron irradiée pendant 30 min dans l'eau et dont les photoproduits ont été récupérés dans le dichlorométhane a été injectée dans la colonne chromatographique. Le chromatogramme obtenu (Fig. 8) révèle la présence de plusieurs photoproduits dont certains (pics numérotés) ont pu être identifiés (Tableau 6).

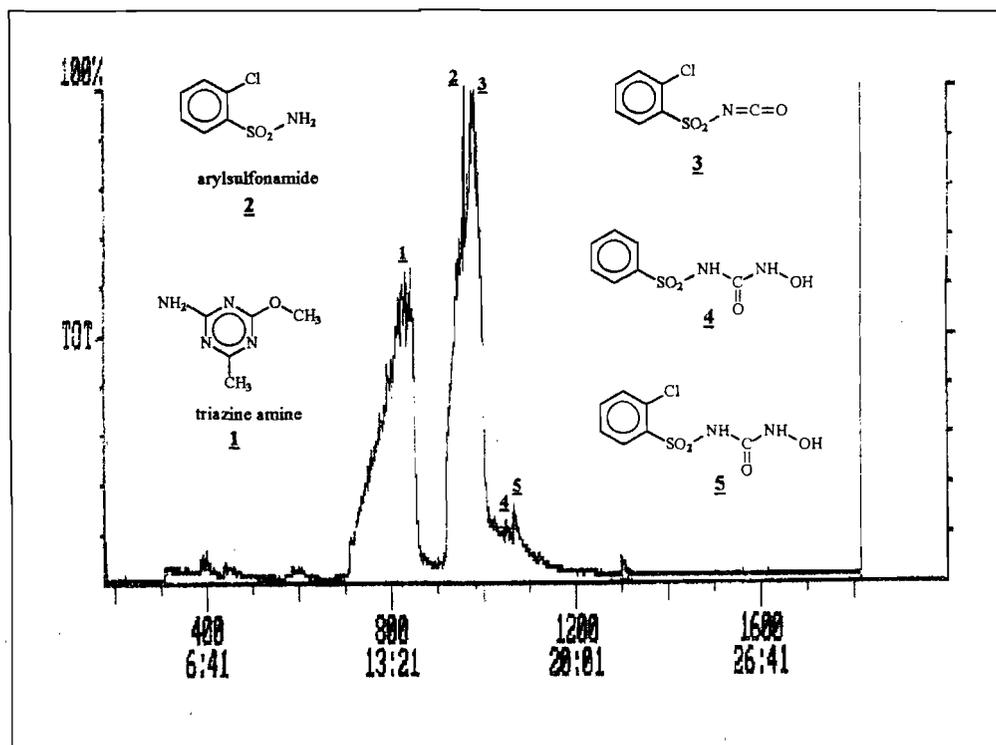


Fig. 8: Chromatogramme en mode IC du mélange brut de photoproduits (extraits dans le dichlorométhane) d'une solution 5×10^{-2} M en chlorsulfuron irradié (30 min) dans l'eau: température d'injection, 220 °C (variant de 30 à 280 °C, 10 °C/min).

Tableau 6: Spectres de masse en mode IC des pics les plus abondants du chlorsulfuron irradié (30 min).

Pics ^a	t.r. ^b	M ^c	m/z(%)
1 (43 %)	13.9	140	141(100) 181(8) 79(3) 110(2)
2 (55 %) ^d	15.9	191.5	192(100) 151(6) 175(4) 79(2) 127(1)
3 ^d	16.0	217.5	192(100) 218(78) 175(14) 141(6) 79(4)
4 (0.5%)	17.5	216	192(100) 141(61) 217(50) 79(10)
5 (1.5%)	17.9	250.5	251(100) 192(50) 141(42) 215(10) 79(7)

^aNuméros des pics correspondants au chromatogramme de la Fig. 8; les pourcentages sont indiqués entre parenthèses; ^bTemps de rétention (min); ^cMasse molaire (g mol⁻¹); ^dPourcentage commun aux deux composés (2+3).

5.2. Mécanisme de photolyse du chlorsulfuron

La photolyse des herbicides sulfonylurées a été très peu étudiée; par contre les réactions de dégradation par voie hydrolytique [7-9] ou thermique [10,11] l'ont été abondamment. En utilisant les résultats de la littérature, le mécanisme de formation des cinq produits issus de la dégradation photolytique du chlorsulfuron dans l'eau est proposé (Fig. 9).

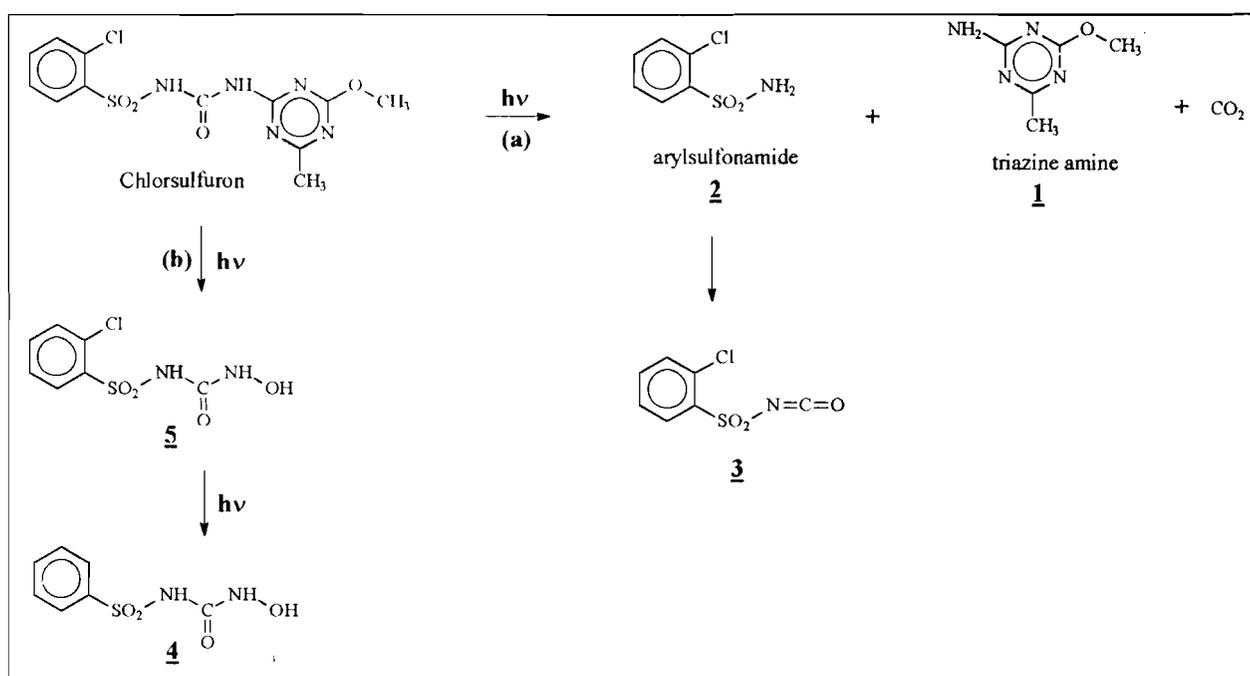


Fig. 9: Mécanisme de formation des photoproduits obtenus pour le chlorsulfuron (5×10^{-2} M) irradié (30 min) dans l'eau.

On peut noter deux voies principales de dégradation:

➤ Voie (a): Rupture classique du pont sulfonylurée pour générer les dérivés arylsulfonamide (**2**) et triazine amine (**1**).

➤ Voie (b): Rupture de la liaison triazine amine pour conduire au composé **5**.

Les deux voies de dégradation photolytique se poursuivent par des réactions secondaires pour aboutir aux composés **3** et **4**, et probablement à d'autres fragments de masses molaires plus faibles (correspondant aux premiers pics du chromatogramme) non détectés dans le présent travail, mais présents dans les travaux de la littérature [11]. On peut aussi noter que les structures chimiques des fragments **2** et **3** (très majoritaires 55 % pour les deux pics) permettent de supposer qu'ils seraient probablement responsables, au moins en partie, de l'émission de fluorescence photoinduite observée.

6. Metsulfuron méthyl

Une solution d'environ 5×10^{-2} M de metsulfuron méthyl est irradiée pendant 20 min dans l'eau. Après extraction des photoproduits avec le dichlorométhane, une étude chromatographique est alors effectuée.

6.1. Chromatogrammes et spectres de masse

Le chromatogramme (Fig. 10) du mélange brut de photoproduits montre qu'il se forme plusieurs produits dont trois seulement ont pu être identifiés. Nous présentons dans le Tableau 7 les ions les plus abondants de leurs spectres de masse.

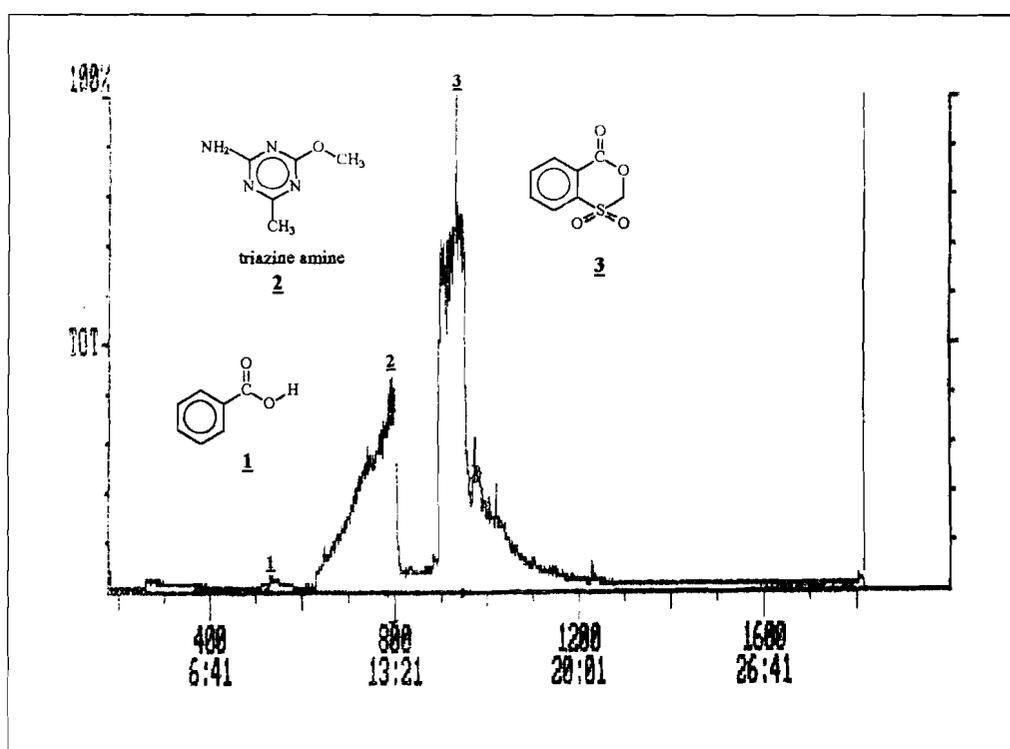


Fig. 10: Chromatogramme en mode IC du mélange brut de photoproduits (extraits dans le dichlorométhane) d'une solution 5×10^{-2} M en metsulfuron méthyl irradié (20 min) dans l'eau: température d'injection, 220 °C (variant de 30 à 280 °C, 10 °C/min).

Tableau 7: Spectres de masse en mode IC des pics les plus abondants du metsulfuron méthyl irradié (20 min).

Pics ^a	t.r. ^b	M ^c	m/z(%)
1 (1 %)	8.9	122	123(100) 105(9) 79(9) 83(3) 71(3) 91(2)
2 (37 %)	13.2	140	141(100) 79(3) 110(1) 71(1)
3 (62 %)	15.4	198	199(100) 184(14) 141(6) 92(2)

^aNuméros des pics correspondants au chromatogramme de la Fig. 10: les pourcentages sont indiqués entre parenthèses; ^bTemps de rétention (min); ^cMasse molaire (g mol^{-1}).

6.2. Mécanisme de photolyse du metsulfuron méthyl

Le mécanisme suivant peut être proposé pour la photolyse du metsulfuron méthyl.

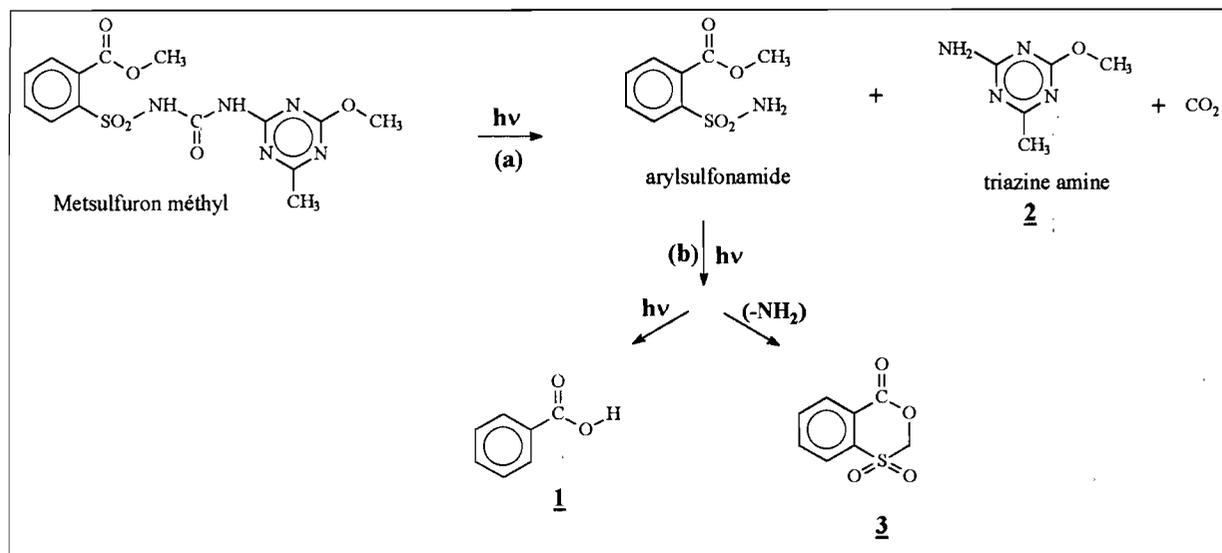


Fig. 11: Mécanisme de formation des photoproduits obtenus pour le metsulfuron méthyl (5×10^{-2} M) irradié (20 min) dans l'eau.

Il ressort de ce schéma réactionnel deux voies principales de photodégradation pour le metsulfuron méthyl dans l'eau.

➤ Voie (a): Rupture classique du pont sulfonylurée pour générer les dérivés arylsulfonamide (non détecté) et triazine amine (**2**).

➤ Voie (b): Décomposition du dérivé arylsulfonamide pour donner les fragments **1** et **3**. Le composé **3**, probablement formé après la perte du groupe amine par le fragment arylsulfonamide, suivie d'une réaction de cyclisation, est absent dans le cas de la photolyse du chloresulfuron pour lequel ce type de réaction ne pourrait avoir lieu en raison de la présence d'un substituant chloro [11].

D'un point de vue structural, le fragment **3**, très majoritaire (62%) serait principalement à l'origine du signal d'émission de fluorescence photoinduite observé pour cet herbicide; la fluorescence du composé minoritaire (1%) **1** (acide benzoïque) étant très faible.

7. Sulfométuron méthyl

Une solution 5×10^{-2} M de sulfométuron méthyl est irradiée pendant 40 min dans l'eau; après extraction des photoproduits générés avec le dichlorométhane, le chromatogramme (Fig.

12) enregistré montre qu'il se forme plusieurs photoproduits dont certains ont pu être identifiés (Tableau 8).

7.1. Chromatogrammes et spectres de masse

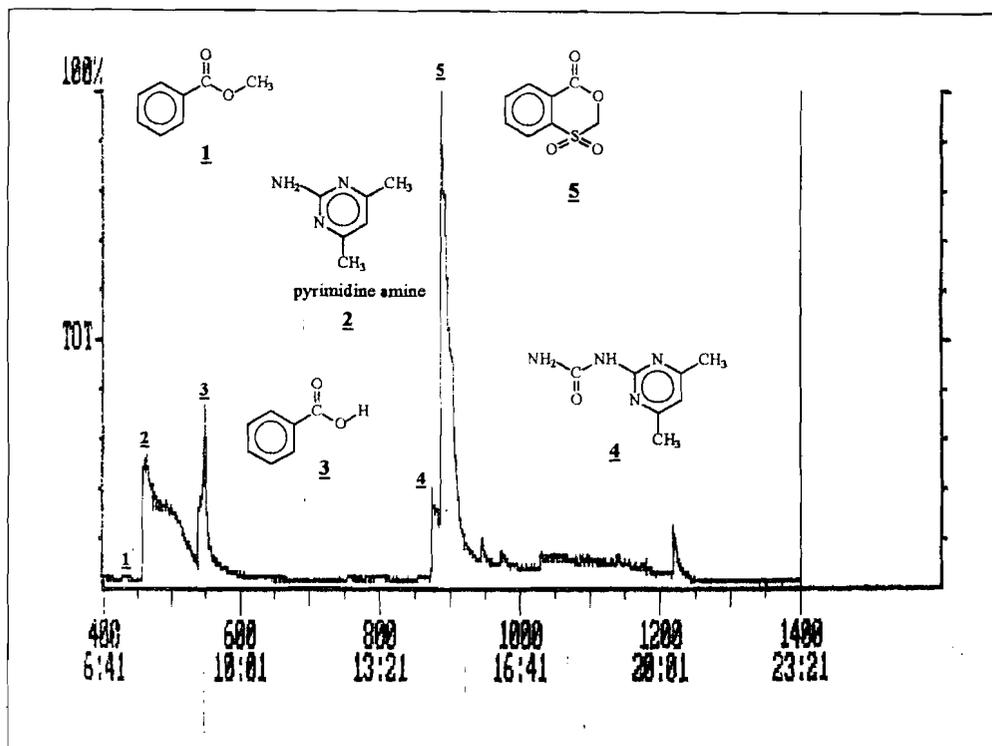


Fig. 12: Chromatogramme en mode IC du mélange brut de photoproduits (extraits dans le dichlorométhane) d'une solution 5×10^{-2} M en sulfométuron méthyl irradié (40 min) dans l'eau: température d'injection, 220 °C (variant de 30 à 280 °C, 10 °C/min).

Tableau 8: Spectres de masse en mode IC des pics les plus abondants du sulfométuron méthyl irradié (40 min).

Pics ^a	t.r. ^b	M ^c	m/z(%)
1 (0.1 %)	7.2	136	137(100) 74(54) 79(17) 91(16) 83(6)
2 (34.2 %)	7.7	123	124(100) 164(9) 79(3)
3 (10.3 %)	9.2	122	123(100) 105(18) 79(6) 91(3)
4 (3.4 %)	14.7	166	167(100) 124(28) 150(17)
5 (52 %)	14.8	198	199(100) 184(9) 167(3) 124(1) 92(1) 79(1)

^aNuméros des pics correspondants au chromatogramme de la Fig. 12; les pourcentages sont indiqués entre parenthèses; ^bTemps de rétention (min); ^cMasse molaire ($\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$).

7.2. Mécanisme de photolyse du sulfométuron méthyl

Le sulfométuron méthyl met en jeu trois voies de dégradation photochimique décrites dans le schéma réactionnel suivant (Fig. 13).

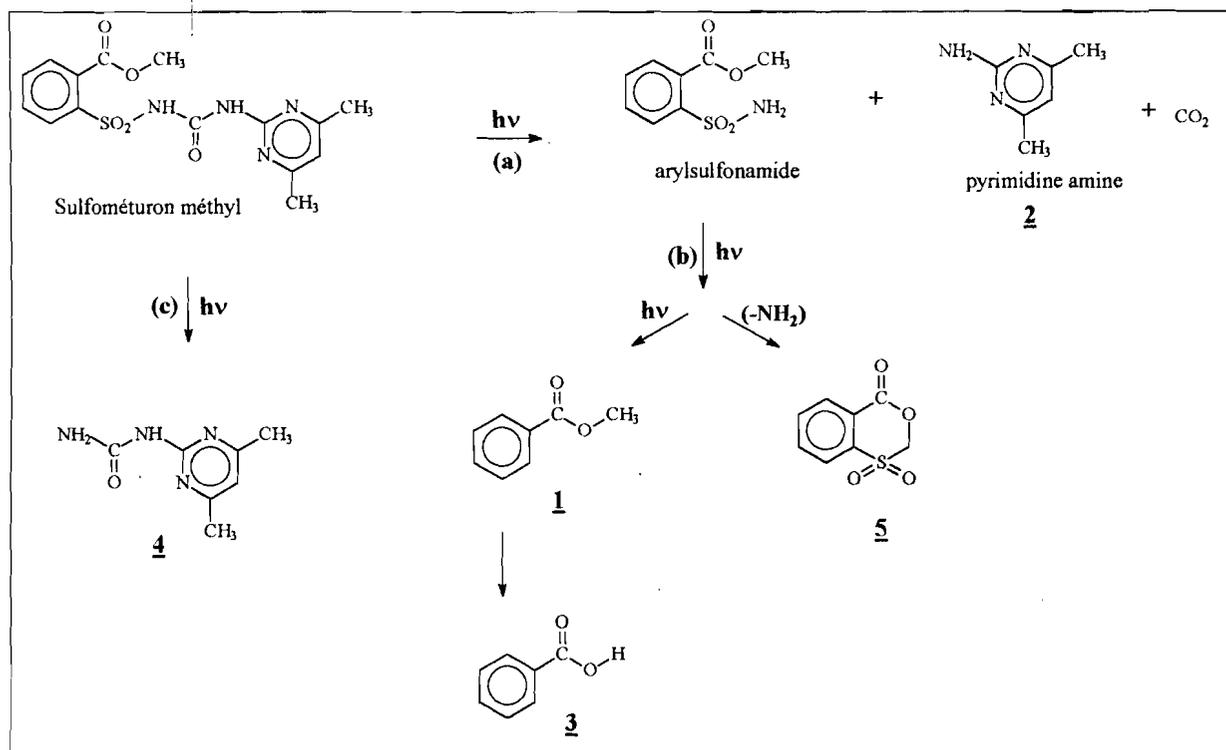


Fig. 13: Mécanisme de formation des photoproduits obtenus pour le sulfométuron méthyl (5×10^{-2} M) irradié (40 min) dans l'eau.

➤ Voie (a): Rupture classique du pont sulfonurée pour générer les dérivés arylsulfonamide (non détecté) et pyrimidine amine (**2**).

➤ Voie (b): Réactions secondaires du dérivé arylsulfonamide par désamination suivie d'une réaction de cyclisation pour donner le composé **5**; puis la perte du groupe sulfonamide (engendrant le composé **1**) suivie d'une réaction de dé-esterification aboutissant au composé **3**.

➤ Voie (c): Rupture de la liaison sulfonamide engendrant le dérivé **4**.

D'un point de vue structural, les composés **1**, **3** et **5** pourraient permettre d'expliquer l'émission de fluorescence observée. Mais les composés **1** (benzoate de méthyl) et **3** (acide benzoïque) sont faiblement fluorescents et minoritaires; par contre, le composé **5**, très majoritaire (52 %) serait le principal photoproduit contribuant à l'émission photochimique fluorimétrique.

IV. CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE HAUTE PERFORMANCE

Nous avons aussi utilisé la technique de chromatographie liquide haute performance (CLHP) couplé avec un détecteur UV-VIS pour caractériser les divers photoproduits obtenus dans le cas des herbicides sulfonylurées. Le principal avantage de ce système est qu'il est mieux adapté à l'analyse de tels pesticides en raison de leur caractère peu volatil et/ou thermolabile. Dans ces conditions, il est inutile d'employer les procédures d'extraction des photoproduits développées dans le paragraphe précédent en vue de séparer les photoproduits formés des herbicides initiaux. Le mélange brut des photoproduits peut être directement injecté en CLHP. Toutefois, les chromatogrammes des échantillons témoins et du mélange brut de photoproduits que nous présentons dans les Figs. 14-17 permettent de connaître seulement le nombre de photoproduits obtenus pour chaque pesticide dans ces conditions de travail. Ces conditions étant choisies de manière à correspondre avec les conditions optimales résumées dans le Tableau 4 du chapitre 1 (paragraphe II.1.2).

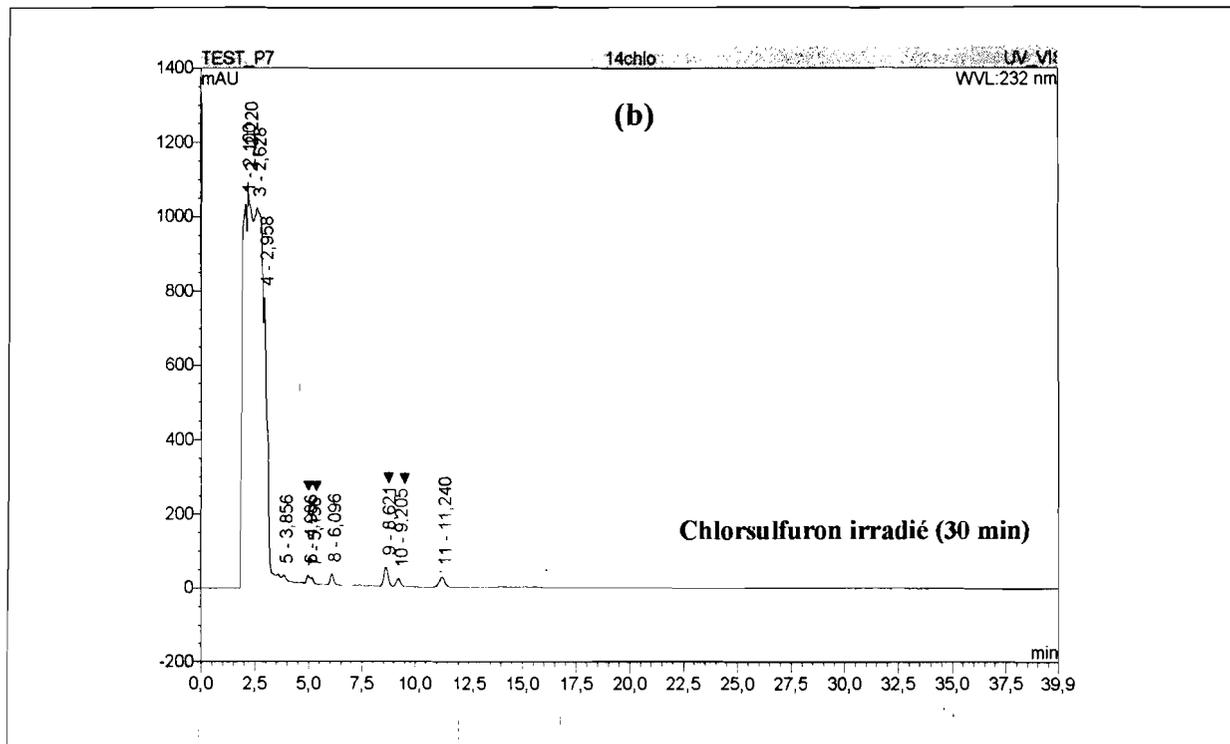
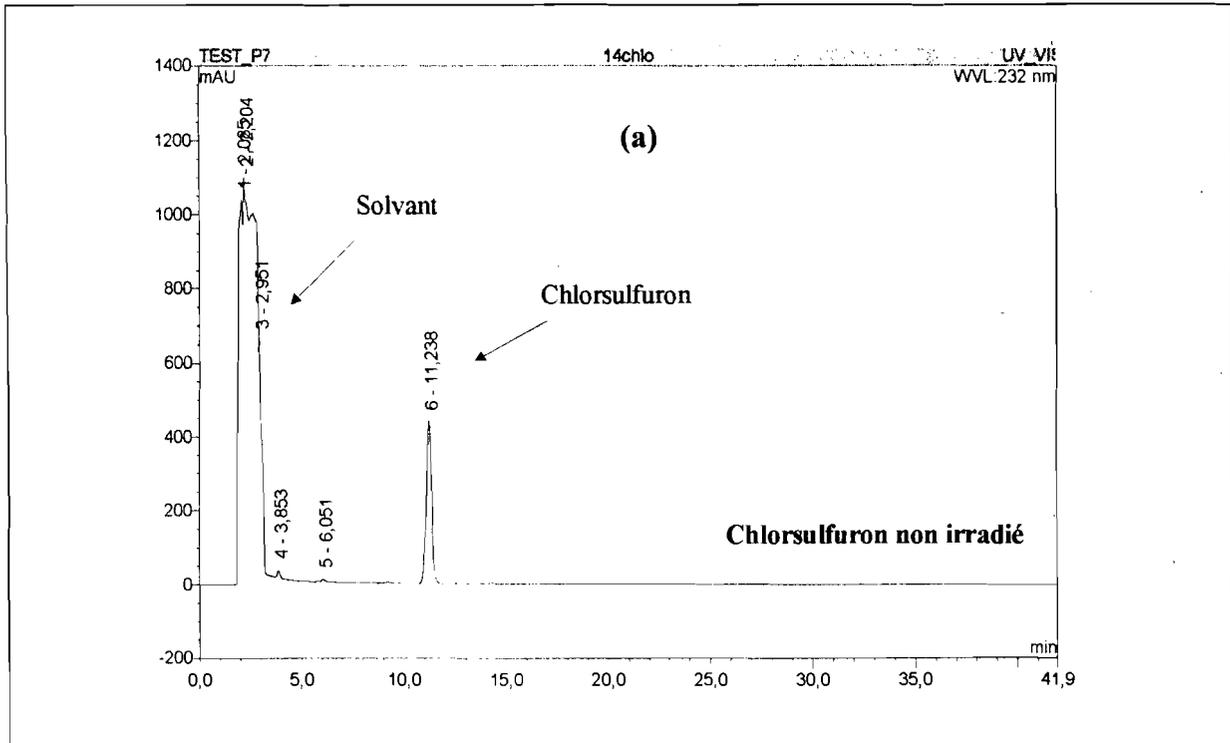


Fig. 14: Chromatogramme d'une solution 10^{-4} M en chlorsulfuron dans le mélange DMSO/H₂O, 50:50, (v/v) avec détection UV-VIS ($\lambda=232$ nm): (a) échantillon non irradié; (b) échantillon irradié (30 min), les pics des photoproduits étant signalés par les flèches.