



## THÈSE

Pour l'obtention du grade de  
DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE POITIERS  
École nationale supérieure d'ingénieurs (Poitiers)  
Institut de chimie des milieux et matériaux de Poitiers - IC2MP  
(Diplôme National - Arrêté du 7 août 2006)

École doctorale : Sciences pour l'environnement - Gay Lussac (La Rochelle)  
Secteur de recherche : Chimie organique, minérale, industrielle

Présentée par :  
Alice Tawk

### **Photolyse et oxydation par le chlore et l'ozone de la tembotrione et de la sulcotrione : étude cinétique, identification des produits de transformation et impact sur la toxicité et la biodégradabilité**

Directeur(s) de Thèse :  
Hervé Gallard, Marie Deborde, Jérôme Labanowski

Soutenue le 10 décembre 2014 devant le jury

#### Jury :

Président	<b>Jean-François Cooper</b>	Professeur, Université de Perpignan
Rapporteur	<b>Dominique Wolbert</b>	Professeur, École nationale supérieure de Chimie, Rennes
Rapporteur	<b>Claire Richard</b>	Directrice de recherche CNRS, Université de Clermont-Ferrand
Membre	<b>Hervé Gallard</b>	Professeur, IC2MP, Université de Poitiers
Membre	<b>Marie Deborde</b>	Maître de conférences, IC2MP, Université de Poitiers
Membre	<b>Jérôme Labanowski</b>	Chargé de recherche CNRS, IC2MP, ENSIP, Université de Poitiers

#### **Pour citer cette thèse :**

Alice Tawk. *Photolyse et oxydation par le chlore et l'ozone de la tembotrione et de la sulcotrione : étude cinétique, identification des produits de transformation et impact sur la toxicité et la biodégradabilité* [En ligne]. Thèse Chimie organique, minérale, industrielle. Poitiers : Université de Poitiers, 2014. Disponible sur Internet <<http://theses.univ-poitiers.fr>>

# THESE

Pour l'obtention du Grade de  
DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE POITIERS

(ECOLE SUPERIEURE d'INGENIEURS de POITIERS)  
(Diplôme National - Arrêté du 7 août 2006)

Ecole Doctorale : Sciences pour l'Environnement Gay Lussac.

Secteur de Recherche : **CHIMIE ET MICROBIOLOGIE DE L'EAU**

Présentée par :

**Alice TAWK**  
*Maitre ès Sciences*

\*\*\*\*\*

## **Photolyse et oxydation par le chlore et l'ozone de la tembotrione et de la sulcotrione: Etude cinétique, identification des produits de transformation et impact sur la toxicité et la biodégradabilité**

\*\*\*\*\*

Soutenance prévue le 10 Décembre 2014

devant la Commission d'Examen

\*\*\*\*\*

### **JURY**

Rapporteurs : M<sup>me</sup> Claire RICHARD  
M. Dominique WOLBERT

Examineur : M. Jean François COOPER

Directeurs de Thèse : M. Hervé GALLARD  
M<sup>me</sup> Marie DEBORDE  
M. Jérôme LABANOWSKI

\*\*\*\*\*



## *Remerciements*

*Ce travail de thèse a été réalisé au sein de l'équipe Eau Géochimie organique Santé (EGS) de l'Institut de Chimie des Milieux et Matériaux de Poitiers (IC2MP), UMR CNRS 7285.*

*J'adresse mes sincères sentiments de gratitude à mes directeurs de thèse Monsieur Hervé GALLARD Professeur à l'IC2MP, Madame Marie DEBORDE, Maître de Conférences à l'IC2MP ainsi que Jérôme LABANOWSKI, Chargé de Recherche CNRS, qui m'ont accompagnée lors de mes travaux au sein du laboratoire. Je les remercie pour leurs conseils, leur disponibilité et les compétences scientifiques qu'ils m'ont fait parvenir.*

*J'adresse tous mes remerciements à Madame Claire RICHARD, Directrice de Recherche CNRS à l'Université Blaise Pascal de Clermont-Ferrand, pour avoir bien voulu juger ce travail de thèse et accepté d'en être rapporteur.*

*Je souhaite remercier Monsieur Dominique WOLBERT, Professeur à l'Université de Rennes d'avoir accepté de juger ce travail de thèse en tant que rapporteur.*

*Je tiens à remercier également Monsieur Jean François COOPER, Professeur à l'Université de Perpignan d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

---

## **TABLE DES MATIÈRES**

---

# Sommaire

---

INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	1
----------------------------	---

## CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

---

I. Généralités sur les pesticides.....	4
I.1. Historique de l'utilisation des pesticides .....	4
I.2. Classification des pesticides .....	4
I.3. Contamination par les pesticides des milieux aquatiques.....	5
II. Les $\beta$ -tricétones .....	7
II.1. Historique.....	7
II.2. Caractéristiques physicochimiques des molécules d'intérêt.....	9
II.3. Mode d'action .....	13
II.4. Toxicité .....	15
III. Présence et devenir dans l'environnement des $\beta$ -tricétones.....	18
III.1. Présence dans l'environnement .....	18
III.2. Devenir dans l'environnement.....	18
IV. Devenir des $\beta$ -tricétones au cours des étapes d'oxydation du traitement des eaux.....	32
IV.1. Le chlore et sa réactivité vis-à-vis des $\beta$ -tricétones .....	33
IV.2. L'ozone et sa réactivité vis-à-vis des $\beta$ -tricétones .....	42
V. Conclusion.....	51

## CHAPITRE II : MATÉRIEL ET MÉTHODES

---

I. Réactifs et solutions .....	52
II. Protocoles expérimentaux .....	53
II.1. Photolyse.....	53
II.2. Chloration .....	58
II.3. Ozonation.....	59
III. Méthodes analytiques .....	61
III.1. Quantifications des pesticides et composés de référence .....	61
III.2. Identification des sous-produits .....	62
III.3. Evaluation de la toxicité .....	64
III.4. Suivi de la biodégradabilité .....	65
III.5. Dosage des oxydants.....	67

III.6. Autres méthodes d'analyse .....	71
--	----

## CHAPITRE III : PHOTOLYSE : IMPACT SUR LA TOXICITÉ ET LA BIODÉGRADABILITÉ

---

Abstract.....	73
I. Introduction .....	74
II. Materials and Methods .....	75
II.1. Chemical reagents.....	75
II.2. Photolysis experiments .....	76
II.3. Analytical methods .....	77
II.4. Toxicity tests.....	77
II.5. Biodegradability tests .....	78
III. Results and discussion.....	79
III.1. Kinetics of photolysis .....	79
III.2. Photoproducts identification.....	83
III.3. Toxicity study .....	89
III.4. Biodegradability of photo-products .....	91
IV. Conclusions .....	93

## CHAPITRE IV : OXYDATION PAR LE CHLORE : ÉTUDE CINÉTIQUE ET MECANISTIQUE : IDENTIFICATION DES PRODUITS DE TRANSFORMATION ET TOXICITÉ

---

Abstract.....	95
I. Introduction .....	96
II. Material and methods .....	97
II.1. Reagents.....	97
II.2. Chlorination experiments.....	98
II.3. Analytical methods .....	99
II.4. Toxicity tests.....	100
III. Results and discussion.....	100
III.1. Chlorination kinetics.....	100
III.2. Identification of chlorination by-products .....	105
III.3. Formation of chloroform .....	110
III.4. Proposed reaction mechanism .....	110
III.5. Toxicity evaluation .....	111
IV. Conclusion.....	113

## CHAPITRE V OXYDATION PAR L'OZONE : ÉTUDE CINÉTIQUE, PRODUITS DE TRANSFORMATION, TOXICITÉ ET BIODÉGRADABILITÉ

---

Abstract.....	115
I. Introduction .....	116
II. Materials and Methods .....	117
II.1. Chemicals.....	117
II.2. Ozonation experiments .....	118
II.3. Analytical methods .....	119
II.4. Toxicity tests.....	120
II.5. Biodegradability.....	121
III. Results and discussion.....	121
III.1. Kinetic study .....	121
III.2. Ozonation products identification.....	127
III.3. Toxicity evaluation .....	132
III.4. Biodegradability.....	134
IV. Conclusion.....	136
SYNTHÈSE ET CONCLUSIONS GÉNÉRALES .....	138
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....	145
ANNEXES.....	162

---

## **INTRODUCTION GÉNÉRALE**

---

## Introduction générale

---

Les pesticides constituent une des principales familles de micropolluants organiques retrouvés dans les milieux aquatiques car ils sont utilisés de façon intensive en agriculture, pour l'entretien des voiries ou encore pour les usages des particuliers. Ils contaminent notamment les eaux de surface et/ou souterraines suite au ruissellement des eaux de pluie sur les feuilles et au lessivage des sols. Des concentrations de quelques nanogrammes à quelques microgrammes par litre sont ainsi régulièrement analysées. En France, 93 % des cours d'eau sont contaminés par les pesticides, avec 31 % des points de suivi présentant des concentrations annuelles moyennes supérieures à  $0,5 \mu\text{g.L}^{-1}$ . 63 % des eaux souterraines sont également contaminées par les pesticides en France, avec 5 % de concentrations annuelles moyennes en pesticides supérieure à  $0,5 \mu\text{g.L}^{-1}$ . La contamination des eaux par les pesticides contribue à la dégradation générale de la qualité des eaux naturelles, ces eaux naturelles étant généralement utilisées pour la production des eaux de consommation. Des limites de qualité ont ainsi été fixées pour les teneurs en pesticides dans les eaux destinées à la consommation humaine dans l'arrêté du 11 janvier 2007. En effet, la concentration de chaque pesticide ne doit pas dépasser  $0,1 \mu\text{g.L}^{-1}$  dans l'eau destinée à la consommation et le total des concentrations en pesticides doit rester inférieur à  $0,5 \mu\text{g.L}^{-1}$ . Une eau brute ne pourra pas servir à produire de l'eau potable si sa teneur totale en pesticides dépasse  $5 \mu\text{g.L}^{-1}$ .

Dans les eaux naturelles, les pesticides peuvent évoluer sous l'effet de différents processus de transformation tels que l'hydrolyse, la biodégradation, la photolyse solaire, etc. Des transformations peuvent également intervenir sous l'effet des oxydants comme le chlore ou l'ozone utilisés lors de l'étape de désinfection au niveau des filières de production d'eau potable. Les produits de transformation constituent une problématique supplémentaire car leur structure et leur toxicité sont généralement peu ou non connues. Des études récentes montrent que les produits de dégradation des pesticides peuvent avoir une toxicité égale, voire parfois supérieure à celle des composés parents. Ils sont alors reconnus comme « polluants émergents ». Afin de pouvoir évaluer les risques liés à la présence de ces micropolluants organiques sur la santé humaine et sur les écosystèmes, il est indispensable de comprendre leur transformation dans les ressources aquatiques naturelles mais également au cours des procédés de traitement des eaux.

La chloration et l'ozonation sont employées dans les filières de traitement des eaux principalement pour leur pouvoir désinfectant. Compte tenu de leur potentiel d'oxydo-réduction élevé, ils contribuent également à l'oxydation des composés organiques et inorganiques. L'action de ces procédés sur les pesticides conduit très rarement à une minéralisation totale du composé parent. Des sous-produits de transformation sont alors formés comme produits de réactions secondaires. Pour ces raisons, les traitements oxydants en tant que tels sont interdits en France pour éliminer les micropolluants organiques sauf quand ils sont couplés à d'autres procédés comme par exemple une étape mettant en œuvre un procédé biologique. Cette interdiction se fait au bénéfice du charbon actif qui permet leur élimination sans production de sous-produits. La législation est différente dans les autres pays et de nombreuses études s'intéressent à l'élimination des pesticides par les traitements oxydants mettant en œuvre, par exemple, des procédés radicalaires. Si les produits de transformation et les mécanismes de dégradation des pesticides mis sur le marché depuis plusieurs dizaines d'années sont relativement bien connus, de nouvelles molécules reçoivent des autorisations de commercialisation sans que leur devenir dans l'environnement et dans les filières de production d'eau potable n'ait été complètement étudié.

Les herbicides de type  $\beta$ -tricétone sont commercialisés pour des applications en post-levée du maïs notamment en remplacement de l'atrazine, interdit depuis 2003 dans plusieurs pays européens. La tembotrione et la sulcotrione sont deux herbicides systémiques de cette famille utilisés pour une application foliaire sur le maïs. La sulcotrione est autorisée sur le marché en France depuis 1994 et la tembotrione, plus récemment, depuis 2007. Des études montrent leur présence dans les eaux naturelles à des teneurs entre 50 ng.L<sup>-1</sup> et 90 ng.L<sup>-1</sup>. Leur devenir dans les eaux naturelles a fait l'objet de quelques publications récentes mais l'impact, par exemple, de la phototransformation solaire sur la biodégradation n'a pas été étudié. Par ailleurs, leur devenir dans les filières de production d'eau potable sous l'action de traitements oxydants n'a pas fait l'objet de travaux spécifiques.

Dans ce contexte, l'objectif des travaux de thèse a été d'évaluer le devenir de ces deux herbicides, la tembotrione et la sulcotrione, dans l'environnement sous l'effet des réactions de photolyse et biodégradation ainsi que dans les filières de production d'eau potable lors de l'utilisation du chlore et de l'ozone. Tout d'abord, des expériences de cinétiques ont été réalisées dans l'objectif de déterminer les constantes de vitesse de réaction ainsi que les temps de demi-vie des molécules. L'identification des produits de transformation a ensuite été menée par des techniques couplant chromatographie et spectrométrie de masse. En parallèle,

la toxicité des solutions de pesticides a été suivie avec le test d'inhibition de la luminescence de *Vibrio fischeri* pour ensuite terminer sur l'étude de l'effet de la photolyse et de l'ozonation sur la biodégradabilité des composés.

Le mémoire est organisé en 5 chapitres.

- Le premier chapitre est une synthèse bibliographique qui présente la problématique des herbicides dans l'environnement aquatique et détaille les connaissances actuelles concernant l'oxydation des herbicides de type  $\beta$ -tricétones ou des composés de la même famille par photolyse, chloration et ozonation.
- Le deuxième chapitre présente une description des protocoles expérimentaux et des méthodes analytiques mis en œuvre dans ce travail.
- Le troisième chapitre est une étude de la photolyse de la tembotrione et de la sulcotrione. Il détaille les cinétiques de réaction et présente les sous-produits de transformation et l'impact sur la toxicité et la biodégradabilité.
- Les quatrième et cinquième chapitres consistent une étude de l'oxydation de la tembotrione et de la sulcotrione par le chlore et par l'ozone, respectivement.

La synthèse bibliographique et le chapitre relatif au matériel et méthodes sont écrits en français. Les trois autres chapitres sont écrits en anglais sous forme d'article scientifique.

---

**CHAPITRE I**

**SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE**

---

## Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.	Généralités sur les pesticides.....	4
I.1.	Historique de l'utilisation des pesticides .....	4
I.2.	Classification des pesticides .....	4
I.3.	Contamination par les pesticides des milieux aquatiques.....	5
II.	Les $\beta$ -tricétones .....	7
II.1.	Historique.....	7
II.2.	Caractéristiques physicochimiques des molécules d'intérêt.....	9
II.3.	Mode d'action .....	13
II.4.	Toxicité .....	15
III.	Présence et devenir dans l'environnement des $\beta$ -tricétones.....	18
III.1.	Présence dans l'environnement .....	18
III.2.	Devenir dans l'environnement.....	18
III.2.1.	Phototransformation des pesticides .....	20
a.	Généralités sur la photolyse.....	21
b.	Photolyse des $\beta$ -tricétones .....	26
III.2.2.	Biodégradabilité.....	30
IV.	Devenir des $\beta$ -tricétones au cours des étapes d'oxydation du traitement des eaux.....	32
IV.1.	Le chlore et sa réactivité vis-à-vis des $\beta$ -tricétones .....	33
IV.1.1.	Généralités .....	33
IV.1.2.	Réactivité du chlore avec les composés organiques .....	35
a.	Réaction haloforme.....	36
b.	Réaction du chlore avec les $\beta$ -dicétones .....	36
c.	Réaction du chlore avec les composés aromatiques.....	38
d.	Réaction du chlore avec les composés soufrés .....	41
e.	Conclusions concernant l'action attendue du chlore sur les $\beta$ -tricétones	41
IV.2.	L'ozone et sa réactivité vis-à-vis des $\beta$ -tricétones .....	42
IV.2.1.	Généralités .....	42
IV.2.2.	Réactivité de l'ozone avec les molécules organiques.....	44
a.	Réactivité de l'ozone avec les composés aromatiques .....	47
b.	Réaction de l'ozone avec les composés organosoufrés .....	49
c.	Réaction de l'ozone sur les $\beta$ -tricétones .....	49
V.	Conclusion.....	51

# I. Généralités sur les pesticides

## I.1. Historique de l'utilisation des pesticides

Depuis l'antiquité, les pesticides sont employés pour lutter contre les organismes (végétaux, animaux) nuisibles aux cultures. De nos jours, ils ont largement remplacé les moyens physiques qui étaient auparavant utilisés comme la destruction par le feu, le désherbage manuel et mécanique, le ramassage des œufs et des larves.

Les premiers pesticides utilisés par l'Homme étaient des composés minéraux (e.g. zinc, cuivre, manganèse) ou encore des dérivés de plantes (e.g. sulfate de nicotine). L'usage du soufre comme moyen de purification est décrit par Homère environ 1000 ans avant J-C et le naturaliste romain Pline l'Ancien recommandait l'arsenic comme insecticide. Certains de ces composés sont toujours utilisés mais un très grand nombre de nouveaux composés ont été ajoutés au cours de la deuxième moitié du XX<sup>ème</sup> siècle suite aux besoins d'augmenter les rendements dans l'agriculture. Les premiers pesticides de synthèse ont commencé à se développer à partir des années 1940 avec le développement de la chimie organique (Calvet *et al.*, 2005).

## I.2. Classification des pesticides

On retrouve actuellement un nombre très important de pesticides, plus de 800 substances actives différentes qui forment près de 7000 formulations commerciales. Ces composés sont caractérisés par une variété de structures chimiques, de groupes fonctionnels et d'activités. De manière générale, deux systèmes de classification sont employés pour classer les substances actives (Horsak *et al.*, 2005) :

Le premier système de classification repose sur la nature de l'espèce nuisible contre laquelle les pesticides sont destinés. Dans ce système, on retrouve trois principales classes de pesticides :

- **Les herbicides** : Ils représentent les pesticides les plus utilisés dans le monde en termes de tonnages et de surfaces traitées. Ils sont utilisés pour éliminer les végétaux indésirables qui peuvent ralentir la croissance des plantes à protéger. Les herbicides peuvent agir de différentes façons sur les plantes, soit en tant que perturbateurs de la régulation

d'hormone (auxine), ou bien en tant que perturbateurs de la photosynthèse, ou encore de la synthèse des lipides ...

- **Les insecticides :** Ils sont utilisés pour la destruction des insectes nuisibles. Ils peuvent être de différentes natures chimiques : minérale, organique naturelle ou encore organique de synthèse. Différents types d'insecticides existent dont les neurotoxiques, qui affectent la respiration cellulaire et les régulateurs de croissance.

- **Les fongicides :** Ils permettent de combattre les maladies cryptogamiques causées par des champignons phytopathogènes ou encore certaines bactéries. Ils peuvent inhiber le système respiratoire ou perturber la biosynthèse des acides aminés et des protéines.

D'autres familles minoritaires comme les acaricides, les némantocides, les taupicides ou les molluscicides sont également incluses dans cette classification.

Le deuxième système de classification se base sur la nature chimique de la substance active majoritaire du pesticide. Etant donnée la variété physico-chimique des pesticides disponibles, il existe un très grand nombre de familles chimiques. Les principales sont les organochlorés, les organophosphorés, les triazines, les carbamates...

### **I.3. Contamination par les pesticides des milieux aquatiques**

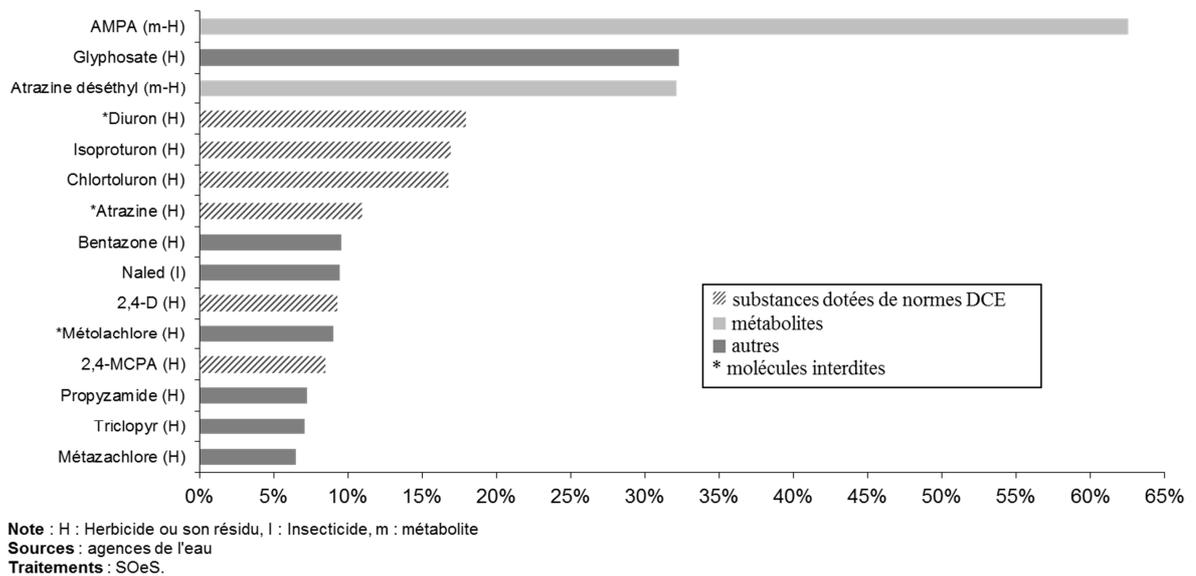
Les pesticides sont généralement appliqués sur des zones agricoles ou des voiries urbaines préalablement définies. Cependant, il a été montré qu'ils pouvaient être transportés en dehors de leur point d'application sous l'effet de leur pulvérisation, de leur déversement ou de processus de ruissellement ou de dépositions atmosphériques (Knauer and Hommen, 2013). Les pesticides peuvent ainsi atteindre les milieux aquatiques (eaux superficielles et souterraines) et contribuer à leur dégradation. La mise en évidence de pesticides dans l'environnement a commencé vers la fin des années 1950, grâce au développement des techniques analytiques et notamment la possibilité de quantifier des concentrations de l'ordre du  $\mu\text{g.L}^{-1}$  (Rosen and Middleton, 1959). Une dizaine d'années plus tard, des accusations d'atteinte à la santé publique par les pesticides ont commencé à être émises (Carson *et al.*, 2002).

Aujourd'hui la présence de pesticides dans les eaux est largement observée. Sur tous les continents et dans tout type d'eau que ce soient les eaux de surface, les eaux souterraines, les eaux du littoral ou les eaux des calottes glaciaires au nord de la Norvège, des traces de pesticides ont pu être observées (Boyd, 2000; Isaksson *et al.*, 2003; Kennedy *et al.*, 2012;

Sankararamakrishnan *et al.*, 2005). De nombreuses études ont montré que le transport pouvait se faire à de longue distance. Un rapport notant la présence de HCH (hexachlorocyclohexane) dans l'air arctique date de 1979 (Tanabe and Tatsukawa, 1980) et plus récemment des concentrations croissantes en pesticides d'usage courant (chlorpyrifos, endosulfan, trifluraline) ont été retrouvées dans les carottes glaciaires (Vorkamp and Rigét, 2014).

En France, les 15 pesticides les plus quantifiés dans les cours d'eau sont en majorité des herbicides et leurs dérivés. Les concentrations totales moyennes en pesticides retrouvées sont inférieures à 5 µg.L<sup>-1</sup>. La France, avec près de 80 000 tonnes, est le troisième pays consommateur de produits phytosanitaires dans le monde et se place en première position en Europe. Le caractère ubiquiste des contaminations est due notamment à l'émergence des usages urbains comme pour l'entretien des voiries ou encore le jardinage (Wittmer *et al.*, 2010).

La Figure I. 1 représente la fréquence de quantifications des 15 pesticides les plus retrouvés dans les cours d'eau en France métropolitaine en 2011 (Agences de l'eau, 2013).



**Figure I. 1 :** Fréquence de quantification des principaux pesticides en France en 2011 (Agences de l'eau, 2013.)

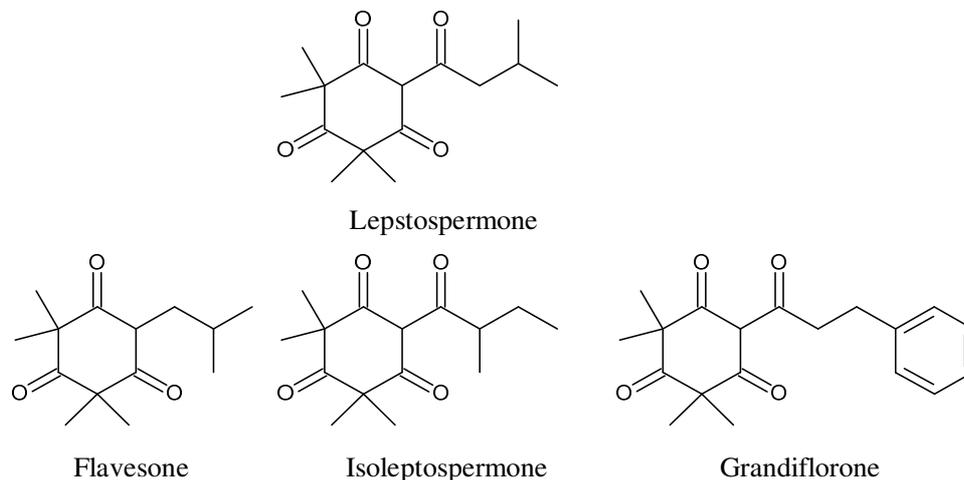
Les rapports du Service de l'Observation et des Statistiques (SOeS) du Ministère de l'Ecologie, du Développement durable et de l'Energie montrent que la présence des pesticides dans les cours d'eau en France en 2011 est généralisée. En effet, sur 550 pesticides

recherchés, 377 ont été décelés au moins une fois et étaient présents sur 93 % des points de mesure.

## II. Les $\beta$ -tricétones

### II.1. Historique

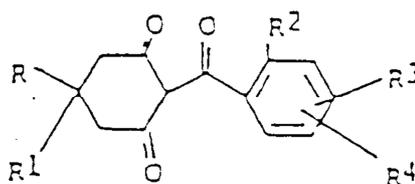
Les composés  $\beta$ -tricétoniques d'origine naturelle ont été découverts dans des huiles volatiles de plantes australiennes (*Calistemon spp.*). Ils ont été décrits pour la première fois par Hellyer (1968). Leur activité herbicide naturelle a ensuite été étudiée par la société Zeneca (aujourd'hui Sygenta) et a été attribuée à la présence de la leptospermone, un composé tétracétonique allélopathique qui produit des symptômes de blanchiments sur certaines graminées et dicotylédones à un taux de 1000 g.ha<sup>-1</sup> (Gray *et al.*, 1978). Depuis, d'autres tricétones naturelles synthétisées par des *Myrtacées* ont été isolées : le flavesone, le grandiflorone et l'isoleptospermone. (Figure I. 2). Leurs rôles dans la nature n'ont pas encore été bien établis. Elles présentent cependant diverses activités biologiques (i.e. fongicide, insecticide, molluscicide ou antimicrobienne) pouvant protéger la plante de plusieurs stress biotiques (Christoph *et al.*, 2000, 2001; Owens *et al.*, 2013; Reichling *et al.*, 2005; van Klink *et al.*, 2005).



**Figure I. 2 :** Structures de tricétones naturelles (leptospermone, flavesone, grandiflorone, isoleptospermone)

En 1982, lors de la production des inhibiteurs de l'acetyl-CoA carboxylase (ACCCase) similaires au séthoxydime, un groupe de chercheurs de Stauffer Chemical Company (Zeneca puis Sygenta) a obtenu un benzoylcyclohexanedione. Ce composé inattendu était inactif en

tant qu'herbicide. Il possédait cependant des propriétés d'antidotes en cas de blessures du soja causées par les thiocarbamates (Seng *et al.*, 2003). Les 2-benzoyl-cyclohexane-1,3-diones ont alors été identifiés comme nouvelle classe de composés herbicides montrant une relation structure-activité très similaire à celle des benzoylpyrazoles en remplaçant la pyrazolone par une sous-structure dicétone (Witschel, 2009). Suite à ces résultats, Michaely and Kratz, (1986) ont synthétisé des dérivés du 2-benzoyl-1,3-cyclohexanedione manifestant une meilleure activité herbicide (Figure I. 3) (Brevet EP 0090262 A1, 1992).



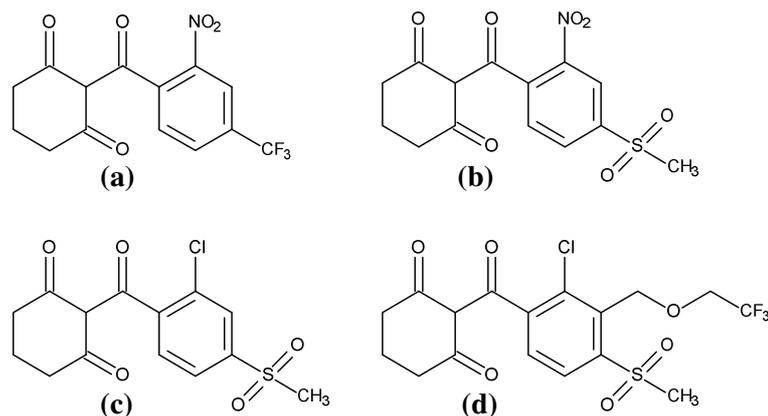
**Figure I. 3 :** Dérivés du 2-benzoyl-1,3-cyclohexanedione (Michaely et Kratz, 1992)

De même, en 1998, Lee *et al.* ont mis en évidence la nécessité d'un substituant en position ortho sur le noyau aromatique (R2) et la préférence d'un substituant électro-attracteur en position 2,4 (R4). L'activité herbicide de cette classe de composés est en effet affectée par les substituants sur le cycle phényle. Ainsi, une telle structure, avec l'ajout d'un chlore en R2, produit les mêmes symptômes de blanchiment que les plantes traitées avec le leptospermone (Lee *et al.*, 1998; Michaely and Kratz, 1986; Mitchell *et al.*, 2001). L'activité herbicide des dérivés du 2-[2-Chloro-4-R-benzoyl]-1,3cyclohexanedione est à son optimum dans le cas où R= SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> (Lee *et al.*, 1998). De la même manière, en 2001, Mitchell *et al.* ont observé qu'un substituant sur la partie cyclohexanedione (en particulier méthyle) améliorerait l'activité herbicide. Ceci entraînerait toutefois une perte de sélectivité et une persistance importante dans les sols.

Depuis, plusieurs autres grandes entreprises chimiques et agricoles ont commencé à mener leurs propres recherches sur les tricétones (Hawkes *et al.*, 2007). Ainsi, plusieurs inhibiteurs de 4-Hydroxyphenylpyruvate dioxygénase (HPPD) sont disponibles dans le commerce pour une utilisation dans les cultures de céréales. Les β-tricétones sont des herbicides à large spectre contre les mauvaises herbes et montrent une excellente tolérance des cultures. Pour ces molécules, il existe une corrélation entre la constante d'acidité (pK<sub>a</sub>) et leur activité herbicide. Ces caractéristiques ont contribué à leur intégration généralisée dans les systèmes de production de maïs (Beaudegnies *et al.*, 2009).

## II.2. Caractéristiques physicochimiques des molécules d'intérêt

A partir de ces études, différents pesticides de la famille des  $\beta$ -tricétones ont été commercialisés pour la culture du maïs. Les molécules actives commercialisées sont la nitisinone, la mésotrione, la sulcotrione et la tembotrione (Figure I. 4) (Barchanska *et al.*, 2014).



**Figure I. 4 :**  $\beta$ -tricétones commercialisées : (a) La nitisinone, (b) la mésotrione, (c) la sulcotrione et (d) la tembotrione.

La nitisinone [2-(2-nitro-4-trifluorométhylbenzoyl)cyclohexane-1,3-dione] est la première molécule de la famille des  $\beta$ -tricétones à avoir été commercialisée. Cette molécule s'est avérée être un très bon agent thérapeutique contre la tyrosinémie I, une maladie génétique qui implique une insuffisance hépatique et qui peut conduire à la mort (Lindstedt *et al.*, 1992). Ainsi, depuis 1992, la nitisinone (NTBC) est à la base d'un traitement qui évite une transplantation du foie aux patients atteints de la tyrosinémie I (Larochelle *et al.*, 2012; Santra and Baumann, 2008).

La mésotrione est un herbicide sélectif du maïs proposé pour remplacer l'atrazine. Elle est produite afin de minimiser les effets secondaires de l'atrazine dans l'environnement. Cependant, elle affecte la diversité de l'écosystème dans les milieux aquatiques et les sols (Mitchell *et al.*, 2001; Sutton *et al.*, 2002; Zhang *et al.*, 2013). La mésotrione est un herbicide dérivé d'une phytotoxine naturelle produite par la *Callistemon citrinus*. En Europe, la mésotrione est commercialisée depuis 2000 sous le nom de Callisto en tant qu'herbicide de pré-émergence et post-émergence pour les cultures de maïs jusqu'à 8 semaines de développement (76 cm) (Syngenta, 2001).

Les deux molécules sélectionnées pour cette étude sont la sulcotrione et la tembotrione. Ce sont des herbicides systémiques sélectifs du maïs. Ces herbicides sont en général utilisés en post-levée des adventices, au stade de 4 à 6 feuilles. Ils sont transportés soit par le phloème (voie foliaire) ou par le xylème (voie racinaire) (Index Phytosanitaire, ACTA, 2011). Ils possèdent également une action anti-germinative pour contrôler les nouveaux adventices postérieurs à l'application.

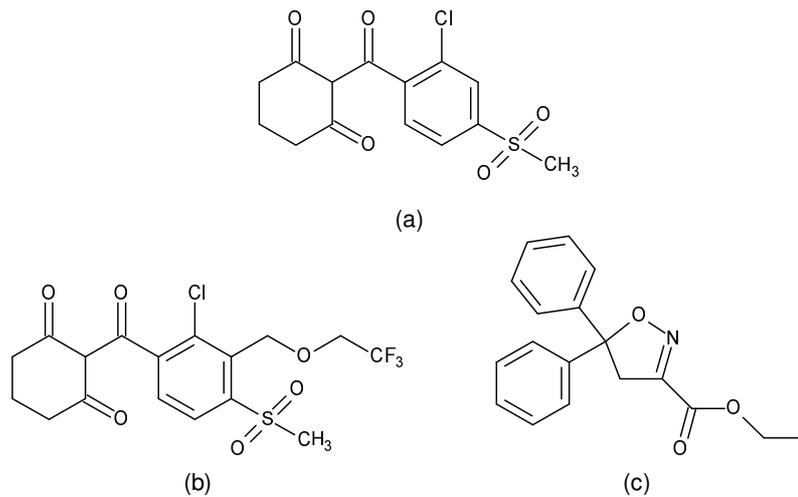
✓ La sulcotrione a été développée par Zyneca Ag Scientists (Syngenta) et est commercialisée en France depuis 1994. Elle est utilisée en application foliaire pour un large spectre de mauvaises herbes (Tableau I.1), avec des taux foliaires de 300-450 g.ha<sup>-1</sup> (Beraud *et al.*, 1991; Compagnon and Beraud, 1992; J. Rouchaud *et al.*, 1998a, 1998b). Depuis l'interdiction de l'atrazine en 2003, la sulcotrione est utilisée pour les cultures de maïs. En France, elle est employée seule ou avec d'autres herbicides tels que l'isoxaflutole, l'acétochlore et la mésotrione. Cette association a pour but d'augmenter l'efficacité du traitement en diminuant les taux d'application (Chaabane *et al.*, 2005).

✓ La tembotrione est une nouvelle molécule découverte en 1997 dans les laboratoires de Hoechst Schering AgrEvoGmbH à partir de la sulcotrione suite à un programme de nouvelles optimisations (Van Almsick *et al.*, 2009). Depuis 2007, la tembotrione est produite par Bayer CropScience pour une utilisation dans la production du maïs avec des taux foliaires typiques appliqués de 75-100 g.ha<sup>-1</sup> (Santel, 2009; Ter Halle *et al.*, 2006). Le produit commercialisé contient un phytoprotecteur, l'isoxadifen-ethyl, qui permet une très bonne sélectivité et favorise la détoxification du maïs par la tembotrione. La tembotrione est utilisée pour contrôler un plus large spectre de mauvaises herbes nuisibles aux maïs que les autres molécules de la famille des  $\beta$ -tricétones (Gatzweiler *et al.*, 2012) (Tableau I.1). La tembotrione contrôle de nombreuses dicotylédones ainsi que certaines graminées annuelles estivales (Engel *et al.*, 2007). L'introduction du substituant O-CH<sub>2</sub>-CF<sub>3</sub> dans la structure « type » des tricétones confère à cet herbicide des propriétés de solubilité qui facilitent le passage des barrières hydrophiles et lipophiles lors de la pulvérisation à la surface des feuilles pour atteindre les sites d'actions moléculaires à l'intérieur des cellules de la plante (Santel, 2009).

**Tableau I. 1** : Quelques plantes cibles de la sulcotrione et la tembotrione

	Sulcotrione	Tembotrione
Plantes cibles	<i>Abutilon theophrasti</i>	<i>Amaranthus spp.</i>
	<i>Xanthium strumarium</i>	<i>Solanumptycanthum</i>
	<i>Ambrosia trifida</i>	<i>Chenopodium polyspermum</i>
	<i>Chenopodium album</i>	<i>Echinochloa crus-galli</i>
	<i>Digitarias anguinalis</i>	<i>Spergula arvensis</i>
		<i>Matricaria chamomilla</i>
Références	Sutton <i>et al.</i> , (2002)	Santel (2009)
	Beraud <i>et al.</i> , (1991)	Schulte et Köcher, 2009

Les formules développées de la sulcotrione, la tembotrione et son phytoprotecteur, l'isoxadifen-ethyl sont représentées Figure I. 5.

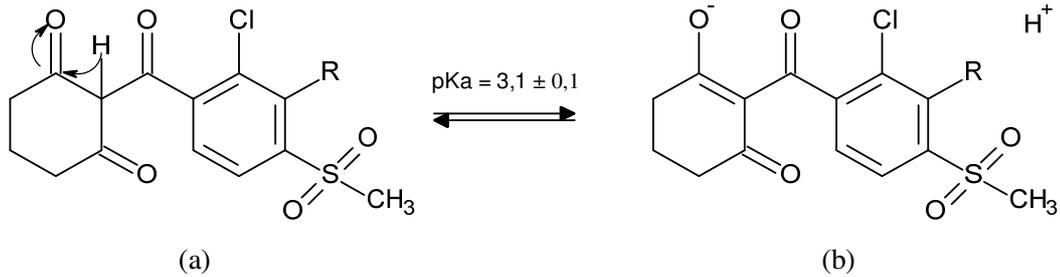
**Figure I. 5** : Structures de la sulcotrione (a), la tembotrione (b) et l'isoxadifen-ethyl (c).

Le Tableau I. 2 représente les propriétés physicochimiques de la tembotrione (EFSA, 2013; Van Almsick *et al.*, 2009) et de la sulcotrione (EFSA, 2008).

**Tableau I. 2 : Propriétés physicochimiques de la sulcotrione et de la tembotrione**

Propriété	Sulcotrione	Tembotrione
Formule brute	C <sub>14</sub> H <sub>13</sub> ClO <sub>5</sub> S	C <sub>17</sub> H <sub>16</sub> ClF <sub>3</sub> O <sub>6</sub> S
Masse molaire	328,77 g.mol <sup>-1</sup>	440,82 g.mol <sup>-1</sup>
Autres dénominations chimiques	CAS :2-[2-chloro-4-(methylsulfonyl)benzoyl]-1,3-cyclohexanedione IUPAC :2-{2-chloro-4-mesylbenzoyl}cyclohexane-1,3-dione	CAS :2-[2-chloro-4-(methylsulfonyl)-3-[(2,2,2-trifluoroethoxy)methyl]benzoyl]-1,3-cyclohexanedione IUPAC :2-{2-chloro-4-mesyl-3-[(2,2,2-trifluoroethoxy)methyl]benzoyl}cyclohexane-1,3-dione
Numéro CAS	99105-77-8	335104-84-2
Couleur et état physique	poudre beige	poudre beige
pKa	3,13	3,18
Point de fusion	139 °C	123 °C
Tension de vapeur à 25 °C	5 × 10 <sup>-6</sup> Pa	2,9 × 10 <sup>-6</sup> Pa
Masse volumique à 20 °C	1,15 g.ml <sup>-1</sup>	1,56 g.ml <sup>-1</sup>
Constante de la loi d'Henry	6 × 10 <sup>-7</sup> Pa.m <sup>3</sup> .mol <sup>-1</sup>	1,71 × 10 <sup>-10</sup> Pa.m <sup>3</sup> .mol <sup>-1</sup>
Solubilité dans l'eau à 20 °C	pH 3,6 0,13 g.L <sup>-1</sup> pH 4,8 1,67 g.L <sup>-1</sup> pH 9 > 60 g.L <sup>-1</sup>	pH 4 0,22 g.L <sup>-1</sup> pH 7 28,30 g.L <sup>-1</sup> pH 9 29,69 g.L <sup>-1</sup>
Solubilité dans les solvants organiques à 20 °C	Acétone 48 g.L <sup>-1</sup> Acétate d'éthyle 15 g.L <sup>-1</sup> Dichlorométhane 190 g.L <sup>-1</sup> Ethanol < 6 g.L <sup>-1</sup>	Acétone 300-600 g.L <sup>-1</sup> Acétate d'éthyle 180,2 g.L <sup>-1</sup> Dichlorométhane > 600 g.L <sup>-1</sup> Ethanol 8,2 g.L <sup>-1</sup>

Les faibles valeurs de pK<sub>a</sub> de la tembotrione et de la sulcotrione leur confèrent un caractère d'acide faible. La présence des formes moléculaires et dissociées est donc déterminée suivant le pH du milieu. (Figure I. 6).



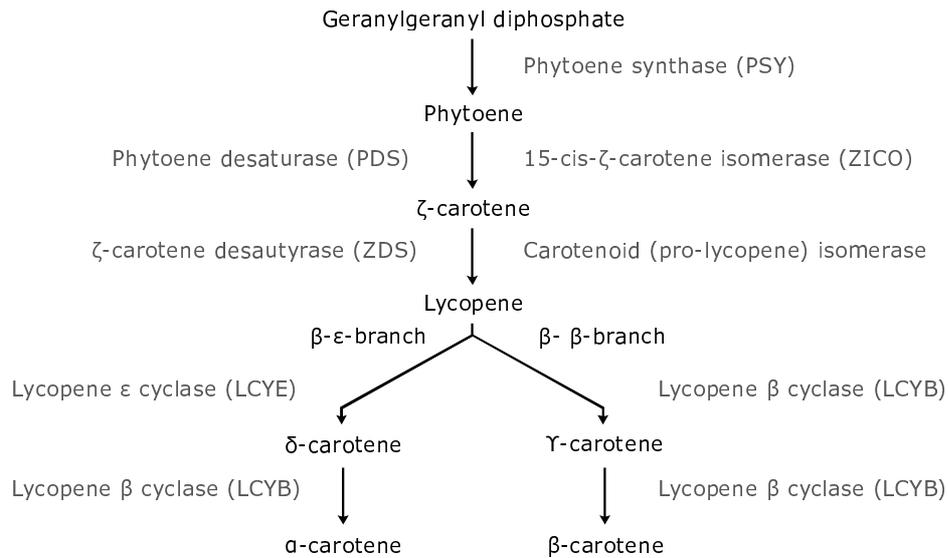
**Figure I. 6 :** Formes moléculaire (a) et dissociée (b) de la tembotrione et de la sulcotrione  
( $R = H$  pour la sulcotrione,  $R = CH_2-O-CH_2-CF_3$  pour la tembotrione)

### II.3. Mode d'action

Les symptômes externes des plantes traitées sont surtout un blanchiment des feuilles, suivi généralement rapidement de la mort de la plante (Lee *et al.*, 1998; Mayonado *et al.*, 1989; Reddy and Bhowmik, 1991; Schulz *et al.*, 1993). Lorsque ces herbicides sont utilisés en pré-levée, les graines traitées germent et donnent des jeunes pousses blanches qui meurent très rapidement (Soltani *et al.*, 2011).

La sélectivité de ces herbicides est basée sur leur métabolisation par la plante cultivée (Pallett *et al.*, 2001). La pénétration dans l'organisme cible se fait par voie foliaire (Lee *et al.*, 1998; Reddy and Bhowmik, 1991; Soltani *et al.*, 2011; Wilson and Foy, 1992) ou encore par voie racinaire, une activité résiduelle de ces molécules ayant en effet été observée dans les sols (Compagnon and Beraud, 1992; Cools *et al.*, 1999). Leurs formulations commerciales ont donc pour but de favoriser leur diffusion dans la plante.

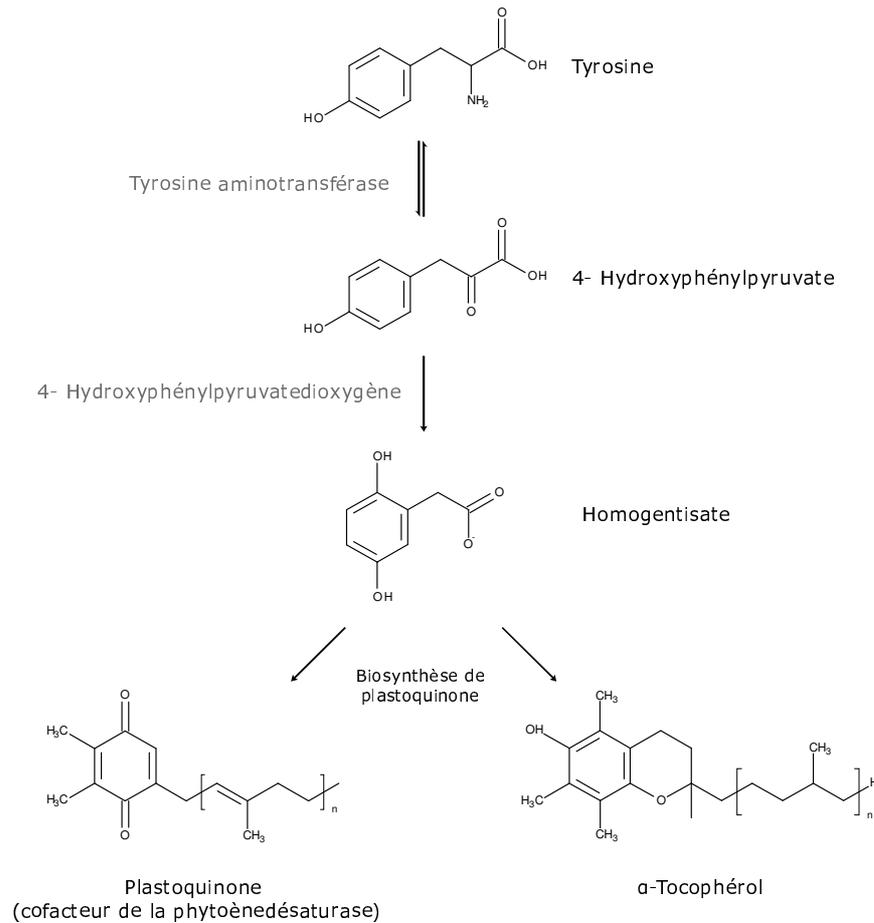
Selon plusieurs études, les tricétones agiraient sur la production de carotènes qui sont essentiels à la photosynthèse. Les carotènes protègent les tissus végétaux en transférant l'énergie lumineuse absorbée à la chlorophylle et en désactivant l'oxygène singulet (Böger, 1996). Au sein des plantes, les caroténoïdes sont synthétisés à partir de geranylgeranyl diphosphate sous l'action de diverses enzymes (Figure I. 7) (Rodriguez-Concepcion and Stange, 2013).



**Figure I. 7 : Biosynthèse des caroténoïde chez les plantes**  
(adapté de Rodriguez-Concepcion and Stange, 2013)

Les premières publications portant sur l'élucidation du site d'action des tricétones ont montré *in vivo* des niveaux élevés de phytoène dans les plantes traitées avec des tricétones. Une inhibition de la réaction de désaturation lors de la biosynthèse des caroténoïdes a alors été envisagée comme mode d'action (Soeda and Uchida, 1987 ; Mayonado *et al.*, 1989). Toutefois, les traitements avec la sulcotrione ont montré que les effets de blanchiment n'affectaient que les jeunes pousses, car les tissus matures possèdent déjà un stock de carotènes. A partir de ces résultats, il a ainsi été envisagé que le site cible pourrait être dans la voie de biosynthèse des caroténoïdes. Cette hypothèse a été appuyée plus tard par Sandman *et al.* (1990) qui n'ont pas observé *in vitro* d'inhibition de la phytoène désaturase (PDS) dans les chloroplastes de maïs (*Zeamays L.*) et les thylakoïdes de cyanobactérie (*Anacystis*) traités avec des tricétones. Ces mêmes auteurs ont ensuite émis l'hypothèse que les tricétones nécessitent une modification métabolique avant de devenir actives.

Plus récemment, plusieurs rapports sur les propriétés de l'enzyme 4-hydroxyphénylpyruvate dioxygénase (4-HPPD) ont été publiés (Secor, 1994 ; Barta and Böger, 1996 ; Viviani *et al.*, 1998). Cette enzyme appartient à la famille des oxygénases acides alpha-cétoniques dépendantes (Brownlee *et al.*, 2004 ; Moran, 2005). Elle catalyse la conversion du 4-hydroxyphénylpyruvate en homogentisate, précurseur dans la biosynthèse des tocophérols et des plastoquinones, composé jouant le rôle de cofacteur de la phytoène désaturase (Grossmann and Ehrhardt, 2007 ; Moran, 2005) (Figure I. 8).



**Figure I. 8 :** Catabolisme de la tyrosine chez les plantes

Ainsi, l'inhibition de la HPPD conduit à la destruction photooxydative des membranes photosynthétiques dans les tissus des jeunes pousses, résultant en un blanchiment caractéristique des nouveaux tissus foliaires. L'analyse *in vitro* de la HPPD dans le maïs a confirmé que la HPPD est le site cible de ces nouvelles tricétones (Prisbylla *et al.*, 1993; Schulz *et al.*, 1993). Les tricétones sont des inhibiteurs compétitifs au niveau du site catalytique de l'enzyme 4-HPPD par présence du groupement 1,3-cyclohexanedione. La synthèse de l'homogentisate est alors bloquée, les plastoquinones ne peuvent plus assurer leur rôle de cofacteur de la phytoène désaturase et ainsi la synthèse des caroténoïdes ne peut plus avoir lieu (Kim *et al.*, 2001).

## II.4. Toxicité

Chez les mammifères, l'effet principal des inhibiteurs de la HPPD est l'augmentation de la tyrosine dans le plasma par l'inhibition de la voie catabolique normale de la tyrosine. A des

concentrations en tyrosine supérieures au seuil de 800-1200 nmoles tyrosine.mL<sup>-1</sup>, des opacités cornéennes apparaissent comme des lésions en flocons de neige. Ce seuil semble être le même pour toutes les espèces (Leake *et al.*, 2009).

Des études portant sur les effets des tricétones sur les mammifères (Lindstedt *et al.*, 1992 ; Pronicka *et al.*, 1996) ont montré chez des rats de laboratoire traités avec la nitisonone (10 mg/jour, 5 jours/semaine pendant 6 semaines), des niveaux élevés de tyrosine dans le sang (Ellis *et al.*, 1995) ainsi qu'une accumulation dans les urines de 4-hydroxyphénylpyruvate (LPPS). De même, plus récemment, ces résultats ont été confirmés par les travaux de Wu *et al.* (2011) qui ont mis en évidence des troubles physiologiques dus à une ingestion de sulcotrione chez les rats et montré le rôle d'inhibiteur compétitif de la sulcotrione envers l'enzyme 4-HPPD. Plusieurs effets sur le foie (augmentation du poids, hypertrophie, hyperplasie) ont été observés chez le rat, la souris et le chien. Du côté rénal, une augmentation du poids et une minéralisation papillaire ont été observés chez le rat et la souris après une exposition chronique (5, 50, ou 100 mg/kg/jour pendant 90 jours). Le chien semble être plus sensible aux effets hématologiques. (Ellis *et al.*, 1995; Lock *et al.*, 2006; Wu *et al.*, 2011)

La tembotrione et la sulcotrione n'ont présenté aucun signe de potentiel génotoxique lors de tests standards de génotoxicité et de mutagénicité *in vitro* et *in vivo* (Leake *et al.*, 2009). Toutefois, la tembotrione est classée comme « preuve suggestive de cancérogénicité », après les incidents d'adénomes de la thyroïde et les carcinomes épidermoïdes de la cornée constatés chez les rats mâles lors de tests avec les doses les plus élevées (200 à 800 ppm) (EPA, 2007).

Chez le rat, la concentration létale médiane (CL50) par inhalation est supérieure à 4,58 mg.L<sup>-1</sup> d'air et supérieure à 1,63 mg.L<sup>-1</sup> d'air pour la tembotrione et la sulcotrione, respectivement. Toujours chez le rat, la dose létale médiane (DL50) par voie orale est supérieure à 2000 mg.kg<sup>-1</sup> pour la tembotrione et à 5000 mg.kg<sup>-1</sup> pour la sulcotrione (par voie cutanée supérieure à 2000 mg.kg<sup>-1</sup> (Tembotrione) et à 4000 mg.kg<sup>-1</sup> (Sulcotrione) (Agritox, 2013; EPA, 2007)). Les données relatives à la toxicité de la tembotrione et la sulcotrione par voie orale sont reportées dans le Tableau I. 3 (Agritox, 2013, 2014). Les valeurs de toxicité les plus importantes sont observées pour la tembotrione envers la majorité des espèces étudiées. Par exemple, envers *Anas platyrhynchos* (oiseaux), la DL<sub>50</sub> obtenue pour la tembotrione est >292 mg.kg<sup>-1</sup> alors que pour la sulcotrione, la DL<sub>50</sub> est 6 fois plus importante (>1350 mg.kg<sup>-1</sup>).

Les concentrations sans effet sur les organismes aquatiques (PNEC) de tembotrione et sulcotrione sont respectivement de 0,599 µg.L<sup>-1</sup> (2009) et 5,1 µg.L<sup>-1</sup> (2010). Ces

concentrations ont été basées sur l'étude de l'espèce *Lemnagibba*, végétal de la famille des *Araceae*.

**Tableau I. 3 : Toxicité et écotoxicité de la tembotrione et la sulcotrione**

Espèces	CL <sub>50</sub> ou DL <sub>50</sub>		
	Tembotrione	Sulcotrione	
Oiseaux	<i>Anas platyrhynchos</i>	> 292 mg.kg <sup>-1</sup>	> 1350 mg.kg <sup>-1</sup>
	<i>Colinus virginianus</i>	> 1788 mg.kg <sup>-1</sup>	> 2250 mg.kg <sup>-1</sup>
Poissons	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	> 100 mg.L <sup>-1</sup>	> 227 mg.L <sup>-1</sup>
Invertébrés aquatiques	<i>Daphnia magna</i>	> 115 mg.L <sup>-1</sup>	> 100 mg.L <sup>-1</sup>
Abeilles (voie orale)		> 93 µg/abeille	> 50 µg/abeille

Concernant les tests d'écotoxicité de référence, différentes valeurs d'EC<sub>50</sub> sont répertoriées dans la littérature pour la sulcotrione suivant les auteurs et les tests réalisés (Tableau I. 4)

**Tableau I. 4 : Valeurs d'EC<sub>50</sub> de la sulcotrione vis-à-vis de différents organismes**

Organismes de référence, Test, durée d'exposition	EC <sub>50</sub> de la sulcotrione (en mg.L <sup>-1</sup> )	Références
<i>T. pyriformis</i> et <i>V. fischeri</i> , Microtox , 15 min	55,1 ± 5,6	Bonnet <i>et al.</i> , (2008)
<i>T. pyriformis</i> et <i>V. fischeri</i> , Population growth rate tubes, 9h	4691,2 ± 702 ,1	
<i>T. pyriformis</i> et <i>V. fischeri</i> , 45min	240,2 ± 34,6	
<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> , 72 h	1,6	Ter Halle <i>et al.</i> , (2009)
<i>Vibrio fischeri</i> , Microtox <sup>®</sup> , 30 min	374 ± 27	
<i>Tetrahymena pyriformis</i> , 1 h	245 ± 26	
<i>Tetrahymena pyriformis</i> , 9 h	4691 ± 702	

Bonnet *et al.* (2008), ont obtenu des valeurs d'EC<sub>50</sub> vis-à-vis de *T. pyriformis* et *V. fischeri* allant de  $55,1 \pm 5,6 \text{ mg.L}^{-1}$  à  $4691,2 \pm 702,1 \text{ mg.L}^{-1}$  selon le test employé. La toxicité de la sulcotrione est plus importante lors des essais avec le Microtox pour une durée d'exposition des bactéries à la sulcotrione de 15 minutes. Les études de Ter Halle *et al.* (2009) ont montré des valeurs d'EC<sub>50</sub> pour la sulcotrione allant de  $1,6 \text{ mg.L}^{-1}$  envers *P. subcapitata* à  $4691 \pm 702 \text{ mg.L}^{-1}$  envers *T. pyriformis* (9 h de contact). Le test Microtox vis-à-vis de *Vibrio fischeri* a été employé par les deux auteurs et ils ont obtenu des valeurs très différentes selon le temps de contact. Les valeurs d'EC<sub>50</sub> sont de  $55,1 \pm 5,6 \text{ mg.L}^{-1}$  pour des durées d'exposition de 15 minutes alors que pour 30 minutes d'exposition cette toxicité diminue et la valeur d'EC<sub>50</sub> est de  $374 \pm 27 \text{ mg.L}^{-1}$ .

Les métabolites majeurs de la sulcotrione et de la tembotrione sont le 4-hydroxysulcotrione et 4-hydroxytembotrione et sont rapidement éliminés par voies urinaires (Leake *et al.*, 2009).

### **III. Présence et devenir dans l'environnement des $\beta$ -tricétones**

#### **III.1. Présence dans l'environnement**

Une étude américaine de 2007 estimait les concentrations futures en tembotrione dans les eaux de surface à 5,84 ppb et dans les eaux souterraines à 0,0139 ppb. (US EPA, Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances, 2007).

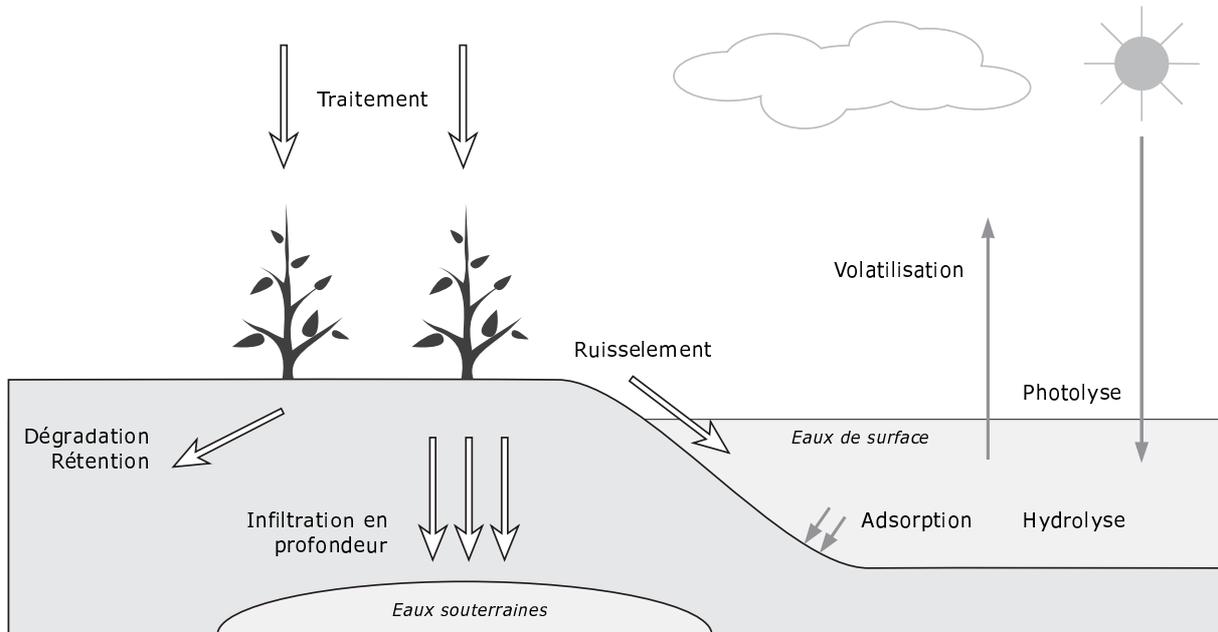
En 2003, soit 9 ans après l'autorisation de mise sur le marché de la sulcotrione, Freitas *et al.* (2004) ont montré par analyses LC-MS/MS la contamination d'un lac suisse avec des concentrations pouvant atteindre  $30 \text{ ng.L}^{-1}$  suivant la saison. De même, en 2012, une étude s'intéressant à plus de 249 pesticides dans les eaux de 5 rivières du plateau suisse a mis en évidence des concentrations de  $91 \text{ ng.L}^{-1}$  pour la sulcotrione et de  $50 \text{ ng.L}^{-1}$  pour la tembotrione (composés détectés dans 4 rivières sur les 5 de l'étude) (Moschet *et al.*, 2014).

#### **III.2. Devenir dans l'environnement**

Le devenir des pesticides dans l'environnement est affecté par leur comportement dans les milieux. Ainsi, la compréhension de la dégradation des pesticides est la principale étape de

l'évaluation des risques de leur persistance et de leur contribution à la pollution (Mamy *et al.*, 2005).

La Figure I. 9 représente les différents modes de transport des pesticides lors de leur propagation dans l'environnement ainsi que leur devenir dans le milieu aquatique.



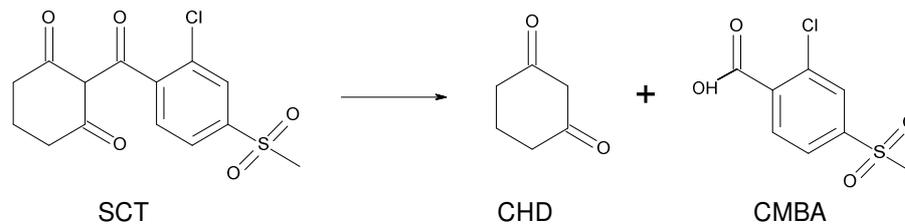
**Figure I. 9 :** *Transport et devenir des pesticides dans l'environnement*

Le transport des pesticides peut s'effectuer par volatilisation, par infiltration pour atteindre les nappes phréatiques ou encore par ruissellement pour atteindre les eaux de surface.

A côté de ces processus de transport, des phénomènes d'adsorption des pesticides peuvent également être observés. Dans les sols, l'adsorption des principes actifs sur les constituants des sols représente un facteur important dans la persistance des herbicides. Cette adsorption est fortement dépendante du pH et est d'autant plus importante que le sol est riche en matières organiques (Dyson *et al.*, 2002; Rouchaud *et al.*, 2001; Wilson and Foy, 1992). Dans les sols, la sulcotrione est considéré comme mobile. Cette mobilité a pu être observée jusqu'à plus d'un mois après son application sur les plantes (Cherrier *et al.*, 2005). Concernant la tembotrione, ce pesticide étant plus récent, son devenir dans le sol est moins bien documenté. Il semble cependant similaire à celui de la sulcotrione (Calvayrac *et al.*, 2014).

La dégradation des pesticides peut être attribuée à des mécanismes biologiques ou abiotiques (Bending *et al.*, 2006). Les processus abiotiques regroupent principalement la photodégradation et l'hydrolyse. Suivant les conditions expérimentales, la biodégradation permet d'obtenir des taux de dégradation plus élevés que les mécanismes abiotiques (Levanon, 1993). Récemment, de plus en plus d'études s'intéressent aux produits de transformation issus des différentes dégradations. Ces sous-produits peuvent en effet se retrouver à la fois dans les eaux souterraines et dans les eaux superficielles avec des concentrations parfois plus importantes que les molécules parentes (Hladik *et al.*, 2005; Postle *et al.*, 2004).

Le devenir des  $\beta$ -tricétones dans les sols est bien documenté dans la littérature. Ainsi, le devenir de la sulcotrione et de la mésotrione a été étudié dans différents types de sols par plusieurs auteurs (Batisson *et al.*, 2009; Calvayrac *et al.*, 2014, 2012; Dyson *et al.*, 2002). Dans le cas de la sulcotrione, des demi-vies comprises entre 16 et 122 jours en conditions naturelles (Rouchaud *et al.*, 1998a, 1998b, 1996) et entre 45 à 65 jours en laboratoire ont été observées (Baer and Calvet, 1999; Chaabane *et al.*, 2008; Doublet *et al.*, 2009; Mamy *et al.*, 2005). Les principaux sous-produits formés sont le cyclohexane-1,3-dione (CHD) et l'acide 2-chloro-4-mesyl benzoïque (CMBA) (voir Figure I. 10). Ces sous-produits proviennent principalement de l'hydrolyse et de la biodégradation de la sulcotrione (Chaabane *et al.*, 2005).



**Figure I. 10 :** Hydrolyse de la sulcotrione (Chaabane *et al.*, 2005)

Dans le milieu aquatique, les principaux processus de dégradation des  $\beta$ -tricétones sont la photolyse et la biodégradation. Dans la suite de ce chapitre, une attention toute particulière à ces deux phénomènes est donc portée.

### III.2.1. Phototransformation des pesticides

Dans le milieu aquatique, la photolyse est une voie significative de dégradation des pesticides (Burrows *et al.*, 2002; Floesser-Mueller et Schwack, 2001; Harris, 1990; Mansour *et al.*, 1983; Stangroom et Collins, 2000). La photodégradation peut parfois générer la

formation de molécules simples sensibles à la biodégradation (Bedding *et al.*, 1983), mais aussi, dans certains cas, des photoproduits plus complexes ou similaires aux composés parents (Faust and Hunter, 1971).

Lors de la production d'eau potable, des traitements d'élimination de pesticides par photolyse UV sont parfois proposés (Bourgine *et al.*, 1997; Sanches *et al.*, 2011, 2010). De même, il est à noter que certains procédés d'oxydation avancés font appel à l'action des rayonnements UV pour générer des radicaux hydroxyle ( $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ ,  $\text{O}_3/\text{UV}$  ...) (Hamdi El Najjar *et al.*, 2013; Katsoyiannis *et al.*, 2011; Xu *et al.*, 2010).

Les rayonnements UV sont des ondes électromagnétiques se situant entre 100 et 400 nm. Les rayonnements UV sont généralement divisés en trois catégories : les UV-C de 100 à 280 nm, les UV-B de 280 à 315 nm et les UV-A de 315 à 400 nm. Dans le domaine de la photochimie de l'environnement, les longueurs d'ondes prises en compte se situent entre 290 et 800 nm (Leifer, 1988). En effet, les constituants atmosphériques (spécialement l'ozone) sont responsables de la réflexion et de l'absorption des plus courtes longueurs d'ondes des radiations UV ( $\lambda < 290$  nm), et, au-delà de 800 nm, l'énergie apportée est insuffisante pour pouvoir rompre des liaisons covalentes.

#### a. Généralités sur la photolyse

Le terme général de réaction photochimique désigne une réaction chimique ou une série de réactions chimiques induites par l'absorption d'un photon. Cette absorption est caractérisée par l'énergie du photon et donc de sa longueur d'onde.

##### i. Principe

Le principe fondamental de la photochimie indique que pour qu'une réaction photochimique ait lieu, il faut que le composé irradié à la longueur d'onde  $\lambda$  absorbe à cette longueur d'onde (Leifer, 1988). La relation de Planck permet de calculer la valeur de l'énergie transportée par un photon.

$$E(\text{J. photon}^{-1}) = h\nu = \frac{hc}{\lambda} = hc\nu' \quad (1)$$

Avec :  $h$  : constante de Planck =  $6,6256 \times 10^{-34}$  (J.s.photon<sup>-1</sup>)

$c$  : célérité dans le vide =  $2,9979 \times 10^8$  (m.s<sup>-1</sup>)

$\lambda$  : longueur d'onde de la radiation (m)

$\nu$  : la fréquence de la radiation (s<sup>-1</sup>)

$\nu'$  : le nombre d'onde (m<sup>-1</sup>)

Ainsi, la valeur de l'énergie d'une mole de photons est égale à :

$$E(\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}) = N \frac{h\nu}{\lambda} \approx \frac{120000}{\lambda (\text{nm})} \quad (2)$$

Un Einstein représente une mole de photons, l'énergie transportée par une mole de photons est alors donnée en  $\text{kJ} \cdot \text{Einstein}^{-1}$ . Ainsi, un Einstein a une énergie d'environ 300 kJ à 400 nm et de 400 kJ à 300 nm. A titre comparatif, les liaisons les plus courantes, comme par exemple  $\text{CH}_3\text{-CH}_3$  ou  $\text{CH}_2=\text{CH}_2$  ont des énergies respectivement de  $368 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$  et  $720 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ .

On distingue deux types de transformation photochimique dans l'environnement :

- **La phototransformation directe** : C'est une réaction au cours de laquelle un composé absorbe un photon d'énergie suffisante lui permettant d'atteindre un état électronique excité instable (Leifer, 1988). La présence d'au moins un groupement chromophore est indispensable. L'énergie en excès contenue dans la molécule est alors dissipée par transformation en produit plus stable. Le composé initial va alors se dégrader et former des produits de dégradation. Le diagramme de Jablonski suivant représente les différents modes de désactivation des molécules à l'état excité (Figure I. 11).

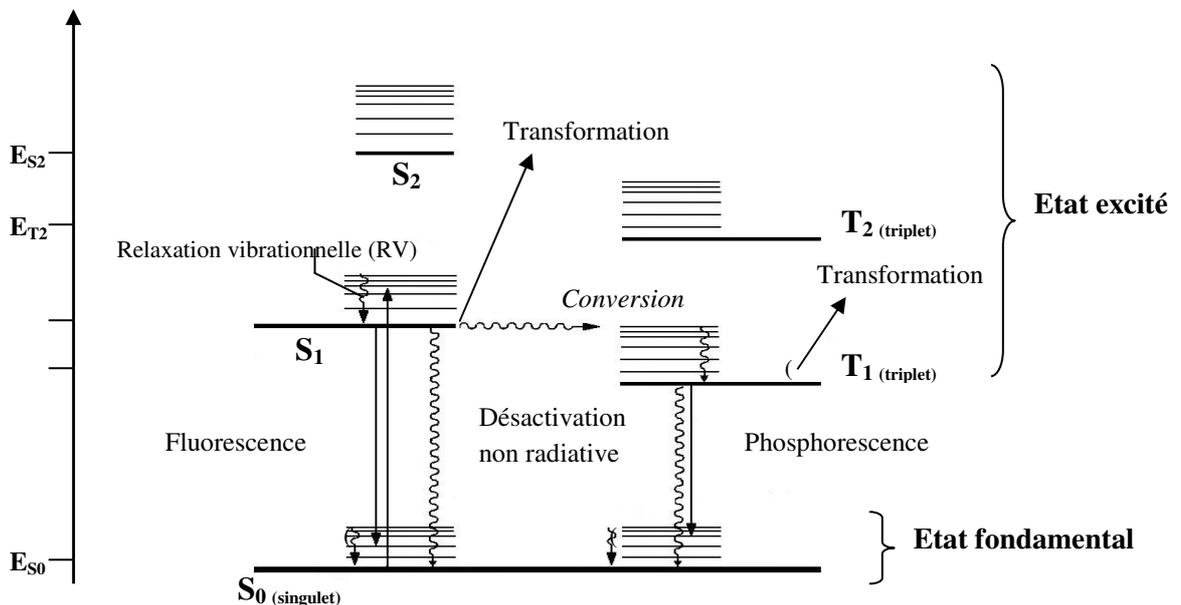


Figure I. 11 : Diagramme de Jablonski

L'efficacité de cette réaction dans les milieux aquatiques naturels est fonction de beaucoup de paramètres dont la latitude, la saison, le moment de la journée, l'épaisseur de la couche d'ozone, la profondeur de l'eau (Zepp and Cline, 1977).

- **La phototransformation indirecte ou induite:**

La photolyse indirecte implique l'absorption de la lumière par une molécule intermédiaire, autre que le composé cible, engendrant la formation d'intermédiaires réactionnels à l'état excité. Dans ces conditions, la photolyse indirecte a lieu lorsque les espèces présentes à l'état excité transfèrent l'énergie des atomes d'hydrogène ou des électrons au composé cible pour induire sa transformation.

La photolyse indirecte implique la plupart du temps la transformation d'un composé suite à des réactions avec des radicaux hydroxyles, de l'oxygène singulet, ou des radicaux peroxy. Dans les eaux de surface, la photolyse de la matière organique naturelle aquatique représente la voie principale de production des différentes entités réactives telles que les radicaux hydroxyle ( $\text{OH}^\circ$ ), le peroxyde d'hydrogène, l'oxygène singulet, les radicaux  $\text{HO}_2^\circ/\text{O}_2^{\circ-}$ , les états triplets et les électrons solvatés (Cooper and Zika, 1983; Draper and Crosby, 1983; Mill *et al.*, 1980; Zepp *et al.*, 1987, 1985). La génération des radicaux hydroxyle peut également être due à la photolyse des ions nitrate (Zepp *et al.*, 1987) et la photolyse du peroxyde d'hydrogène (Draper et Crosby, 1983) :



Dans ces conditions, après absorption de la lumière, ces substances passent de l'état excité à un autre état de plus faible énergie, sans réémission de photons. L'énergie peut alors être transmise au composé cible qui passera à un état excité et pourra subir une transformation chimique.

ii. *Paramètres fondamentaux et équations cinétiques*

Le coefficient d'absorption molaire

Il est déterminé à une longueur d'onde par la loi de Beer Lambert (Eq. 6)

$$A_\lambda = \varepsilon_\lambda \ell [C] \quad (6)$$

Où :  $A_\lambda$  : l'absorbance à une longueur d'onde  
 $\varepsilon_\lambda$  : le coefficient d'absorption molaire ( $L.mol^{-1}.cm^{-1}$ )  
 $\ell$  : le trajet optique de la solution traversé par la lumière (cm)  
 $[C]$  : la concentration en composé C

Le flux photonique

Le flux photonique incident ( $I_0$ ) représente la quantité de photons émis par la lampe par unité de temps. Lorsque le milieu réactionnel est irradié, une partie de ce flux incident est absorbée ( $I_a$ ), une partie est réfléchi ( $I_r$ ) et une partie est transmise ( $I_t$ ) de telle sorte que :

$$I_0 = I_a + I_r + I_t \tag{7}$$

Le facteur d'absorption ( $\alpha$ ) est égal au rapport du flux absorbé et flux incident.

$$\alpha = \frac{I_a}{I_0} = 1 - 10^{-A_\lambda} \tag{8}$$

Avec  $A_\lambda$  : l'absorbance à la longueur d'onde  $\lambda$

Expérimentalement, le flux incident est mesuré par actinométrie. Pour cela, on réalise la photodégradation d'un composé (appelé actinomètre) dont la dégradation dans le domaine des longueurs d'ondes étudiées est connue. Les actinomètres les plus fréquemment utilisés sont le peroxyde d'hydrogène, le ferrioxalate de potassium et le système *p*-nitroanisole/pyridine (Dulin and Mill, 1982; Nicole *et al.*, 1990).

Le rendement quantique

Lorsqu'une molécule est excitée, elle ne donne pas forcément lieu à une dissociation, on peut observer d'autres phénomènes (la fluorescence par exemple). Le rendement quantique ( $\phi$ ) représente la faculté des photons à provoquer une modification physique ou chimique du composé et donc l'efficacité d'une réaction photochimique. Il est défini comme étant le rapport du nombre de moles de produit formé ( $\Delta n$ ) (ou de réactif consommé) au nombre de moles de photons absorbés ( $N_a$ ), pendant un temps d'irradiation  $t$  à la longueur d'onde d'irradiation  $\lambda$ .

$$\phi = \frac{\Delta n}{N_a} \tag{9}$$

Les équations cinétiques○ **Equation générale**

La vitesse de dégradation d'un composé lors de la photolyse directe ou indirecte suit généralement une cinétique du premier ordre telle que :

$$\frac{d[C]}{dt} = -k [C] \quad (10)$$

Ou encore, après intégration :

$$[C] = [C]_0 e^{-k.t} \quad (11)$$

Qui en version logarithmique donne :

$$\ln[C] = \ln[C]_0 - k.t \quad (12)$$

Avec : [C] : la concentration en composé C au temps t (mol.L<sup>-1</sup>)

[C]<sub>0</sub> : la concentration initiale en composé C (mol.L<sup>-1</sup>)

k : la constante de vitesse de premier ordre (s<sup>-1</sup>)

t : le temps (s)

La constante de vitesse de premier ordre peut être déterminée aisément à partir des cinétiques de dégradation et de l'équation 11 ou de l'équation 12.

Le temps de demi-vie du composé (t<sub>1/2</sub> en s) peut alors être déterminé par : (Eq. 13)

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k} \quad (13)$$

○ **Equations détaillées**

Lors de la photolyse directe, la vitesse de dégradation d'un composé C à une longueur d'onde λ, peut également être reliée au flux photonique et au rendement quantique (Braun *et al.*, 1986).

$$-\frac{d[C]}{dt} = \phi I_a = \phi I_0 (1 - 10^{-A}) \quad (14)$$

Plusieurs relations peuvent alors être employées en fonction de la valeur de l'absorbance et du rayonnement (monochromatique ou polychromatique) (tableau I.5) :

Tableau I. 5 : Equations cinétiques de photolyse

Conditions	Expressions cinétiques	
	Rayonnement monochromatique	Rayonnement polychromatique
Cas général	$-\frac{d[C]}{dt} = \phi I_0 (1 - e^{-2,303 A})$	$-\frac{d[C]}{dt} = \sum_{\lambda} \phi_{\lambda} I_{0,\lambda} (1 - 10^{\varepsilon_{\lambda}[C]\ell})$
$A > 2$	$-\frac{d[C]}{dt} = \phi I_0$	$-\frac{d[C]}{dt} = \sum_{\lambda} \phi_{\lambda} I_{0,\lambda}$
$A < 0,02$	$-\frac{d[C]}{dt} = \phi I_0 (2,303 \varepsilon \ell [C])$	$-\frac{d[C]}{dt} = 2,303 \ell [C] \sum_{\lambda} \phi_{\lambda} I_{0,\lambda} \varepsilon_{\lambda}$

Avec :  $\phi_{\lambda}$ : le rendement quantique indépendant de la longueur d'onde ( $\text{mol.Einstein}^{-1}$ )

$\varepsilon_{\lambda}$ : le coefficient d'absorption molaire ( $\text{M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ )

$\ell$ : le trajet optique de la solution traversée par la lumière (cm)

$I_{0,\lambda}$  le flux de photons sur un intervalle de 1 nm à une longueur d'onde centrée sur  $\lambda$  ( $\text{photons.cm}^{-2}$ )

[C]: la concentration en composé C

#### b. Photolyse des $\beta$ -tricétones

##### i. Cinétiques

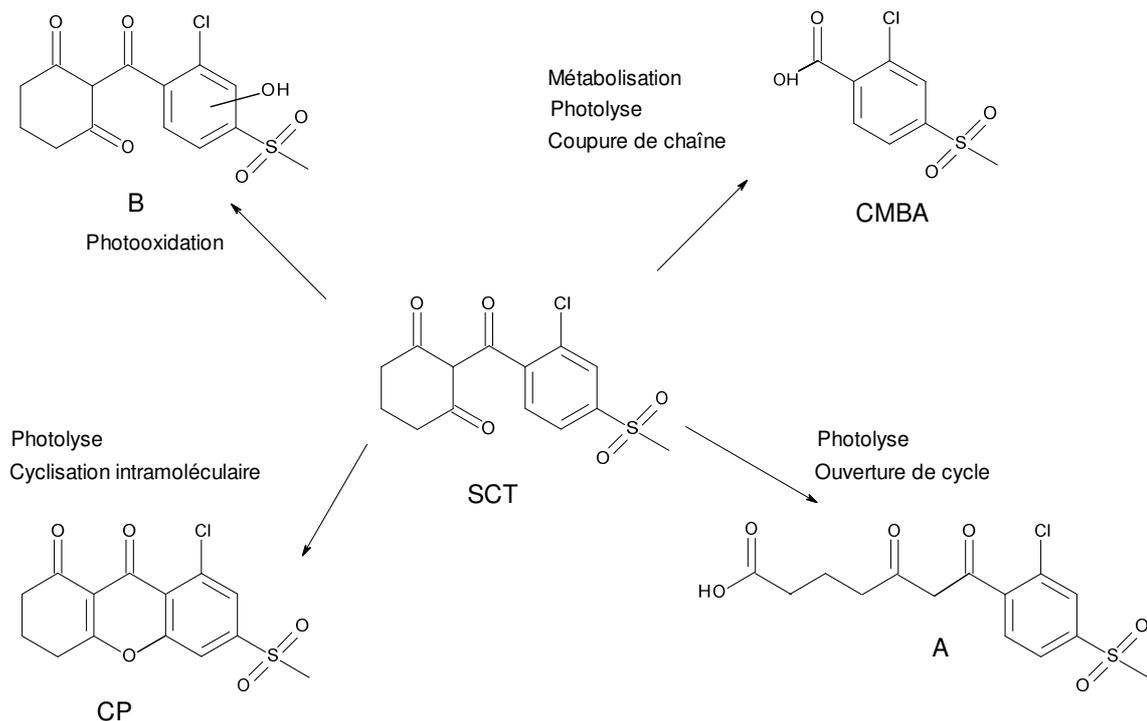
La dégradation de la sulcotrione par photolyse est fortement dépendante du pH (Calvayrac *et al.*, 2013; Chaabane *et al.*, 2007; Ter Halle *et al.*, 2009, 2007, 2006; Wiszniowski *et al.*, 2009). Ainsi, à pH 2, alors que la sulcotrione est à 80 % sous sa forme neutre, Ter Halle *et al.* (2006) ont observé 50 % de photodégradation au bout de 70 minutes. A pH 3,8, une réactivité intermédiaire de la sulcotrione est observée avec moins de 50 % de dégradation au bout de 6 h d'irradiation. Enfin, à pH 6,5 alors que la sulcotrione est majoritairement sous sa forme ionisée (> 99 %), une photolyse très lente, avec moins de 10 % de dégradation après 6 h d'irradiation a été notée.

Calvayrac *et al.* (2013) ont étudié la dégradation de la sulcotrione et de la tembotrione lors de la photolyse sous conditions artificielles ( $\lambda = 254 \text{ nm}$ ). D'un point de vue cinétique, des temps de demi-vie allant de 20 à 550 minutes pour la tembotrione et de 20 à 350 minutes pour la sulcotrione entre pH 2 et 9 ont été observés.

Pour la sulcotrione, selon Chaabane *et al.* (2007, 2005) la vitesse de photolyse de cette molécule est largement supérieure à celle de son hydrolyse que ce soit sous irradiations solaires simulées ou monochromatiques. A 25 °C, les temps de demi-vie par hydrolyse de la sulcotrione varient entre 200 et 400 jours selon le pH. Une hydrolyse photo-assistée de la sulcotrione a été proposée (Chaabane *et al.*, 2007, 2005).

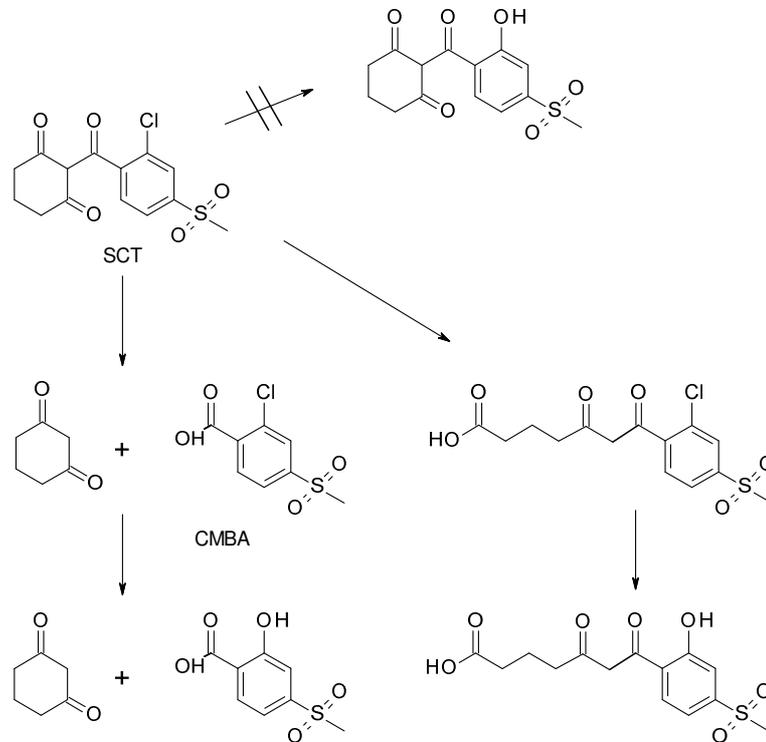
### ii. Produits de transformation

Outre les aspects cinétiques, plusieurs études se sont intéressées aux produits de transformation générés lors de la photolyse de la sulcotrione. La Figure I.12 montre les métabolites et photoproduits de la sulcotrione proposés par Ter Halle *et al.* (2006). Ils ont utilisé de la cire cuticulaire de maïs comme support pour les expériences de photodégradation sous irradiations solaires simulées ( $2,5 < \text{pH} < 6,3$  ;  $500\text{w.m}^{-2}$  ; 27 °C). Les photoproduits détectés dans ces conditions sont l'acide 2-chloro-4 méthylsulfonylbenzoïque (CMBA) (1), des isomères hydroxylés de la sulcotrione (A,B) et un xanthène, issu d'une cyclisation intramoléculaire (CP) (Figure I.12).



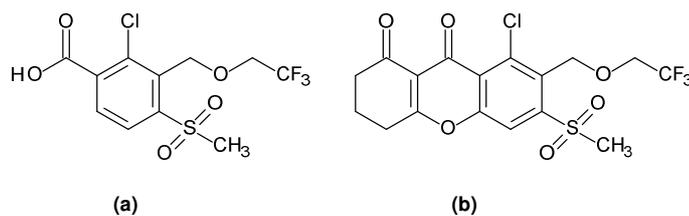
**Figure I.12 :** Métabolites et photoproduits de la sulcotrione (Ter Halle *et al.*, 2006)

De même, plusieurs sous-produits générés lors de la photolyse en milieu aqueux ont été rapportés par Chaabane *et al.* (2007). La Figure I. 13 représente la voie de photodégradation de la sulcotrione en milieu aqueux proposée par ces auteurs.



**Figure I. 13 :** Voie de photodégradation de la sulcotrione en milieu aqueux  
(Chaabane *et al.*, 2007)

Calvayrac *et al.* (2013) se sont intéressés à la photolyse de la tembotrione ainsi que ses deux sous-produits majoritaires, l'acide (2-(2-chloro-4-mesyloxy-3-(2,2,2-trifluoroéthoxy)méthyl)benzoïque (CMBA<sub>T</sub>) et un dérivé xanthendione (CP<sub>T</sub>) (Figure I. 14). Ils ont comparé la photolyse sous irradiations monochromatiques ( $\lambda=254$  nm) de ses molécules à celle de la sulcotrione et ses sous-produits majoritaires. Sous ces conditions, les sous-produits de type acides benzoïques sont plus stables à la photolyse que les molécules parentes. Les dérivés xanthendione sont quant à eux, plus sensibles à la photolyse et leur dégradation dépend fortement du pH.



**Figure I. 14 :** Structures de (a) CMBA<sub>T</sub> et (b) CP<sub>T</sub>.

## iii. Toxicité

Les valeurs des EC<sub>50</sub> de la sulcotrione ainsi que ses principaux sous-produits sont reportées Tableau I. 6.

**Tableau I. 6 : Valeurs d'EC<sub>50</sub> de la sulcotrione, CMBA et CP**

Organismes de référence, durée d'exposition	EC <sub>50</sub> en mg.L <sup>-1</sup>	Références
<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> , 72 h	SCT : 1,6 CMBA : 33 CP : 22,1	
<i>Vibrio fischeri</i> , Microtox®, 30 min	SCT : 374 ± 27 CMBA : 314 ± 22 CP : 42 ± 2	Ter Halle <i>et al.</i> (2009)
<i>Tetrahymena pyriformis</i> , 1 h	SCT : 245 ± 26 CMBA : 256 ± 12 CP : 75	Wiszniewski <i>et al.</i> (2011)
<i>Tetrahymena pyriformis</i> , 9 h	SCT : 4691 ± 702 CMBA : 6773 ± 1091 CP : 229	

Chaabane *et al.* (2007) n'ont pas observé de toxicité de la sulcotrione et de ses photoproduits envers les micro-organismes marins pour des concentrations allant de 0,1 à 100 µg.L<sup>-1</sup>. La molécule active et les produits de dégradation n'ont en effet pas inhibé de manière significative la croissance de *Deleya aquamarina* ou *Synechocystis sp.* De même, seule une légère stimulation de croissance a été observée sur *V. angustum*, pour les solutions photolysées avec des concentrations initiales de sulcotrione de l'ordre de 100 mg.L<sup>-1</sup>.

Une augmentation de la toxicité a en revanche été observée par Wiszniewski *et al.* (2011) après photolyse de solutions de sulcotrione lors du suivi de la toxicité par le test de bioluminescence de *Vibrio fischeri* à l'aide d'un Microtox®. D'après ces auteurs, une synergie d'action entre les deux principaux photoproduits (1H-xanthène-1,9-dione-3,4-dihydro-6-méthylsulfonyl (CP) et l'acide 2-chloro-4-méthyl benzoïque (CMBA)) ne pourrait pas expliquer cette augmentation de la toxicité. En effet, ils ont montré que l'interaction entre

ces deux photoproduits majoritaires donnait un effet synergique. Leur toxicité ensemble est moins importante qu'une toxicité additive pouvant être générée par chaque sous-produit séparément. La toxicité générée par ces deux sous-produits est également plus faible que celle observée au cours de la photolyse de la sulcotrione, lorsque tous les sous-produits sont présents. L'augmentation de la toxicité du mélange pourrait être due à des photoproduits mineurs présents dans le mélange réactionnel. Pour un temps de réaction prolongé (> 48h) une diminution de la toxicité est observée. Néanmoins la toxicité du mélange reste beaucoup plus élevée que celle de la solution mère.

Aucune étude portant sur l'évolution de la toxicité de solutions de tembotrione photolysée n'est actuellement disponible.

### **III.2.2. Biodégradabilité**

Parmi les processus environnementaux qui interviennent dans le devenir des pesticides dans l'environnement, la biodégradation représente probablement l'un des plus importants processus de dégradation. Au cours des processus de biodégradation, la matière organique est transformée en CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O, en sels inorganiques et en biomasse microbienne (Swisher, 1987). La biodégradation contribue ainsi à l'atténuation des polluants organiques dans les différents compartiments de l'environnement mais elle contribue également à la formation de produits de transformation (Helbling *et al.*, 2010)

Le devenir des composés chimiques et de leurs résidus dans l'environnement est devenu un enjeu important de santé environnementale. A cet égard, des méthodes d'investigation des processus de biodégradation ont été développées (Battersby, 1990) pour des applications industrielles (e.g. efficacité des procédés de traitement des eaux usées) ou de contrôle environnemental. Ainsi, l'Organisation de Coopération et de Développement Economiques (OCDE) a proposé en 1981 trois lignes directrices correspondant à des tests de biodégradabilité des polluants : les tests de biodégradabilité facile, les tests de biodégradabilité dite intrinsèque et les tests de biodégradabilité anaérobie. Ces tests peuvent être réalisés dans diverses matrices : les sols, les sédiments aquatiques, les boues, les eaux usées, l'eau de mer et les eaux superficielles.

Les mécanismes de biodégradation restent mal connus dans les milieux aquatiques car il est difficile de les étudier de manière isolée (Zhi, 2012). En effet, le devenir des polluants est affecté simultanément par d'autres processus de dégradation tels que la photolyse et

l'hydrolyse. La photodégradation peut en effet mener à la formation de molécules dont la sensibilité à la biodégradation est différente de la molécule mère (Bedding *et al.*, 1983). En effet, de nombreux produits de photolyse sont identiques aux métabolites produits par des microorganismes (Zepp and Baughman, 1978).

De même, les traitements réalisés sur les usines de production d'eau potable ou les stations d'épuration peuvent modifier la biodégradabilité. En effet, l'ozonation augmente, par exemple, la concentration en carbone organique assimilable (AOC) et donc de façon plus globale la biodégradabilité (Escobar and Randall, 2001). Une formation significative de petits composés biodégradables a été observée après l'ozonation par divers auteurs (Block *et al.*, 1993; Servais *et al.*, 1993; Volk *et al.*, 1993, 1997).

En ce qui concerne la tembotrione et la sulcotrione, peu d'études se sont consacrées à leur biodégradabilité. Le règlement relatif à la classification, à l'étiquetage et à l'emballage des substances et des mélanges (CLP : Classification Labelling Packaging) a classé la tembotrione comme étant difficilement biodégradable (test OECD 301D, 1992) (CLH report, 2012). Cette classification a ensuite été confirmée par l'EFSA (European Food Safety Authority, 2013). La tembotrione présente une durée de demi-vie de 108 jours dans une étude eau/sédiment et ne répond donc pas aux critères caractérisant une dégradation rapide (ECHA, 2013).

La sulcotrione, comme la tembotrione est également difficilement biodégradable avec des temps de demi-vie de 84 jours (ECHA, 2011; EFSA, 2008; INERIS, 2014). L'impact de la photolyse sur les essais de biodégradabilité de la tembotrione et la sulcotrione n'a pas été étudié à notre connaissance.

Durand *et al.* (2006a, 2006b, 2010) se sont intéressés à la biotransformation de la mésotrione par une souche de *Bacillus*. Ils ont observé cinq sous-produits correspondant tous à une réduction de la fonction nitro. La Figure I. 15 représente le mécanisme réactionnel proposé par ces auteurs pour la biodégradation de la mésotrione. Une coupure au niveau du groupe carbonyle est observée lors de la dégradation par *Bacillus* sp. 3B6 pour former l'acide 4-methylsulfoyl-2-nitrobenzoic (MNBA). Lors de la biodégradation de la sulcotrione ou de la tembotrione, une coupure au niveau du groupe carbonyle pourrait aussi être attendue.

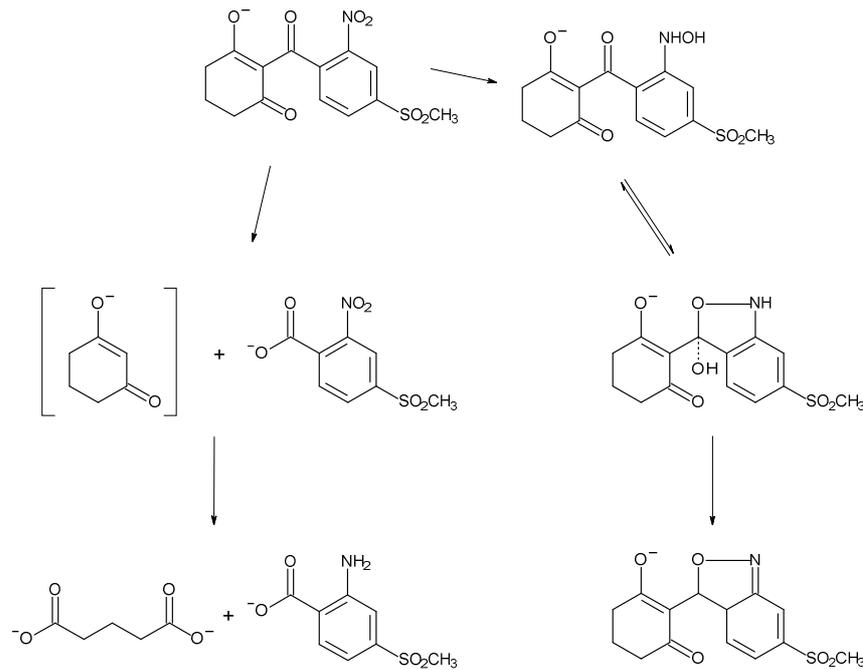


Figure I. 15 : Mécanisme de dégradation de la mésotrione par *Bacillus sp. 3B6* (adapté de Durand *et al.*, 2010, 2006b)

#### IV. Devenir des $\beta$ -tricétones au cours des étapes d'oxydation du traitement des eaux

Les pesticides sont largement utilisés dans l'agriculture, ils représentent en quantité la majorité des polluants organiques retrouvés dans les eaux naturelles. Ces polluants peuvent donc contaminer les eaux de surface ainsi que les eaux souterraines (Comoretto *et al.*, 2007; Knauer and Hommen, 2013; Kreuger, 1998; Tanabe and Kawata, 2009). La tembotrione et la sulcotrione ont déjà été détectées dans les eaux de surface avec des concentrations allant de 50 ng.L<sup>-1</sup> à 91 ng.L<sup>-1</sup>, respectivement (Freitas *et al.*, 2008, 2004; Moschet *et al.*, 2014).

L'eau de surface est largement utilisée pour la production d'eau potable, la présence de pesticides peut donc poser problème lors de la potabilisation de l'eau. De nos jours, différentes technologies d'oxydations chimiques sont employées au cours de la filière de traitement des eaux dont la chloration et l'ozonation. Le chlore et l'ozone présentent des capacités d'oxydation des molécules organiques et de désinfection vis-à-vis des bactéries et virus. Le chlore représente le désinfectant chimique le plus utilisé mondialement. L'ozone est un agent de purification très efficace avec une grande réactivité envers les micropolluants présent dans les eaux (Huber *et al.*, 2003).

Ainsi, lorsque des micropolluants organiques tels que la tembotrione et la sulcotrione sont présents dans les eaux à traiter, il est indispensable de connaître leur réactivité vis-à-vis du chlore et de l’ozone.

## IV.1. Le chlore et sa réactivité vis-à-vis des $\beta$ -tricétones

### IV.1.1. Généralités

Le chlore est utilisé en France et dans de nombreux autres pays pour la désinfection de l’eau potable (Doré, 1989; Morris, 1986). De même, aux Etats Unis, le chlore est souvent utilisé également pour le traitement des eaux usées avant leur rejet dans l’environnement (Pinkston and Sedlak, 2004). Lors de son utilisation, le chlore assure la destruction ou alors l’inactivation d’un grand nombre de micro-organismes pathogènes. Bien que peu efficace contre les biofilms (Bois *et al.*, 1997; LeChevallier *et al.*, 1988), l’apparition de maladies d’origine hydrique est fortement inhibée par la rémanence du chlore dans le réseau de distribution (Galal-Gorchev, 1996).

Les étapes de chloration peuvent avoir lieu à différents moments lors du traitement de l’eau :

- **Pré-chloration** : la chloration est alors utilisée pour des eaux de qualité particulièrement mauvaise. Le chlore est ajouté avant tout traitement en entrée des eaux brutes. Cette étape enlève les odeurs, goûts et contrôle la croissance biologique tout au long du traitement. Cependant, la pré-chloration tend à disparaître car elle utilise des fortes doses de chlore qui engendrent la formation de sous-produits indésirables tels que les trihalométhanes (THM) et les composés organohalogénés totaux (TOX). Elle n’est pas autorisée en France.

- **Chloration primaire** : C’est l’étape de chloration principale qui intervient généralement en fin de traitement. Elle assure la limitation de la croissance d’agents pathogènes en sortie de traitement. Cette phase peut être accompagnée d’un autre traitement chimique tel que l’ozonation. Cette étape est également appelée post-chloration.

- **Désinfection secondaire** : Afin de garder après l’usine de production d’eau potable une concentration résiduelle en chlore, des points de rechloration peuvent être disposés le long du réseau de distribution. Ainsi, les risques de croissance bactérienne sont fortement atténués. L’OMS conseille des teneurs en chlore libre résiduel de 0,2 à 0,5 mg.L<sup>-1</sup> dans le réseau de distribution.

En général, la chloration de l'eau potable est réalisée par addition de chlore gazeux ( $\text{Cl}_2$ ) ou d'hypochlorite de sodium ( $\text{NaOCl}$ ). Cependant, dans certains pays, d'autres oxydants sont utilisés pour limiter la formation de sous-produits de désinfection indésirable comme les THMs : le dioxyde de chlore ( $\text{ClO}_2$ ) ou encore la monochloramine ( $\text{NH}_2\text{Cl}$ ) (Aieta and Berg, 1986).

Le chlore ( $\text{Cl}_2$ ) est fortement hydrosoluble. Une fois en solution, il se dismute en acide hypochloreux ( $\text{HOCl}$ ), en chlorure ( $\text{Cl}^-$ ) et proton ( $\text{H}^+$ ).



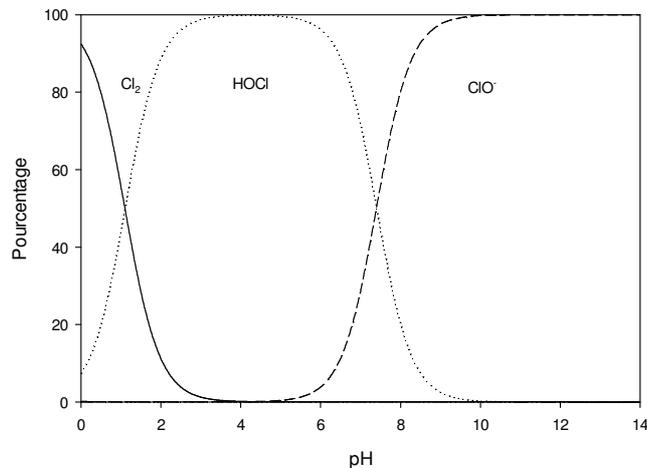
La constante d'équilibre  $K_{\text{Cl}_2}$  varie généralement de  $1,3 \times 10^{-4}$  à  $5,1 \times 10^{-4}$  (entre 0 et 25 °C) (Wang and Margerum, 1994).

L'acide hypochloreux ainsi obtenu est un acide faible qui se dissocie en ion hypochlorite ( $\text{OCl}^-$ ) selon l'équilibre :



La constante d'acidité  $K_{a_{\text{HOCl}}}$  varie entre  $1,5 \times 10^{-8}$  et  $2,9 \times 10^{-8}$  (entre 0 et 25 °C) (Morris, 1966).

L'acide hypochloreux et l'ion hypochlorite forment ce qu'on appelle le chlore libre (Doré, 1989). Leurs concentrations relatives dans le milieu varient avec le pH (Figure I. 16). L'acide hypochloreux est la forme la plus active de par sa grande capacité à altérer les centres vitaux des micro-organismes (bactéries planctoniques (Bois *et al.*, 1997; Le Chevallier *et al.*, 1988)), il est aussi appelé chlore libre actif.



**Figure I. 16 :** Distribution des principales formes du chlore en fonction du pH (25 °C,  $[\text{Cl}^-] = 5 \times 10^{-3} \text{ M}$ ).

D'autres espèces intermédiaires peuvent se former en solution en plus de ces espèces majoritaires. Par exemple, l'ion trichlorure ( $\text{Cl}_3^-$ ), l'hémioxyde de chlore ( $\text{Cl}_2\text{O}$ ) et l'espèce  $\text{H}_2\text{OCl}^+$  dont l'existence est controversée (Arotsky and Symons, 1962; Cherney *et al.*, 2006). Cependant, les concentrations en solutions de ces espèces sont généralement très faibles (Reinhard and Stumm, 1980; Zimmerman and Strong, 1957).

#### IV.1.2. Réactivité du chlore avec les composés organiques

En plus de son action biocide, le chlore exerce également une action oxydante sur des composés minéraux ( $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  ...) et organiques.

L'action du chlore sur un composé C organique ou minéral s'explique généralement par l'action de l'acide hypochloreux (Deborde and von Gunten, 2008) :



Toutefois, pour des pH acides, d'autres réactions élémentaires supplémentaires de catalyse par les ions  $\text{H}^+$  ou la réaction de  $\text{Cl}_2$  avec le composé cible ont été proposées (Deborde *et al.*, 2004; Deborde and von Gunten, 2008; Dodd and Huang, 2007; Gallard *et al.*, 2004; Gallard and von Gunten, 2002; Kumar and Margerum, 1987; Nagy *et al.*, 1988; Pinkston and Sedlak, 2004; Rebenne *et al.*, 1996).



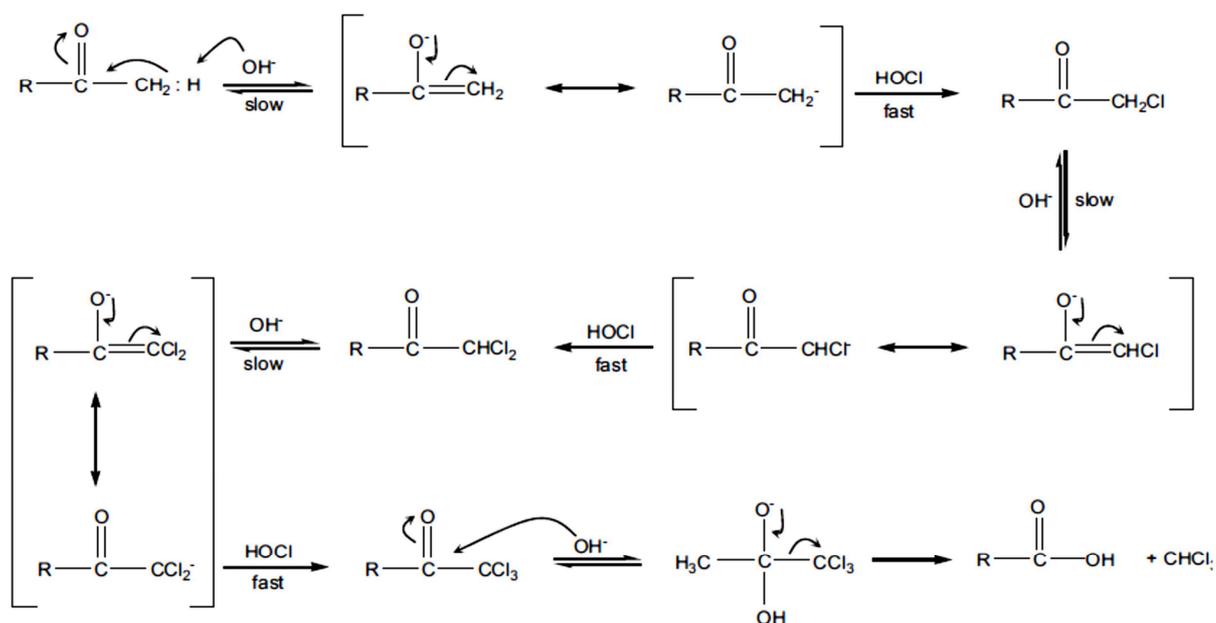
La réaction catalysée par les ions  $\text{H}^+$  a parfois été associée à la réaction de  $\text{H}_2\text{OCl}^+$  (Deborde *et al.*, 2004; Gallard *et al.*, 2004; Gallard and von Gunten, 2002; Rebenne *et al.*, 1996).

Généralement, le chlore réagit avec les molécules organiques soit par réactions d'oxydation sur les fonctions réductrices, soit par réactions d'addition sur les liaisons insaturées, ou encore par réactions de substitution électrophile. Beaucoup plus rarement le chlore réagit par attaque nucléophile (Burttschell *et al.*, 1959; Deborde and von Gunten, 2008; Doré, 1989). L'action du chlore sur les molécules organiques a fait l'objet d'une synthèse par Deborde et von Gunten (2008). L'objet n'est pas ici d'effectuer une synthèse exhaustive de la réaction du chlore avec les composés organiques mais de présenter les principales réactions susceptibles d'avoir lieu avec les pesticides  $\beta$ -tricétones, molécules présentant un noyau

aromatique et des fonctions carbonyles susceptibles d'initier des réactions avec le chlore. L'action du chlore avec les fonctions soufrées sera également présentée.

*a. Réaction haloforme*

La formation du chloroforme lors de la chloration des eaux s'explique par la réaction haloforme. Cette réaction est une des plus vieilles réactions décrites en chimie organique. Elle s'explique par la réaction de l'acide hypochloreux avec une cétone méthyliée à pH basique. La Figure I. 17 représente le mécanisme de cette réaction. Dans ce mécanisme, un remplacement successif par des atomes de chlore des atomes d'hydrogène du carbone en  $\alpha$  du groupement carbonyle est proposé. La dernière étape consiste en une hydrolyse qui conduit à la formation de chloroforme et d'acétate (Morris, 1978). L'étape cinétiquement limitante de la réaction haloforme est la déprotonation du carbone en  $\alpha$  de la fonction carbonyle. Cette étape formerait un carbanion en équilibre avec la forme énolate avant l'attaque par le chlore.

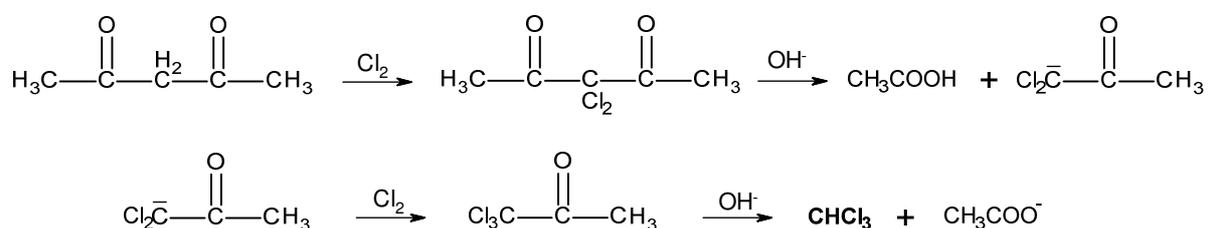


**Figure I. 17 :** Schéma réactionnel de la réaction du chlore avec les cétones méthyliées proposé par Deborde et von Gunten (2004)

*b. Réaction du chlore avec les  $\beta$ -dicétones*

Les  $\beta$ -dicétones sont des composés qui possèdent un groupement méthylène entre deux fonctions carbonyles. Les hydrogènes de ce groupement ont donc un caractère mobile et très acide, qui entraîne alors instantanément lors de la chloration la formation de trichloroacétone puis de chloroforme (Figure I. 18). Lors de cette réaction, la formation de chloroforme est

limitée par l'étape de décomposition de la trichloroacétone qui est favorisée par la présence d'ions OH<sup>-</sup>. Montiel, (1980) a noté que les β-dicétones ont des rendements de formation de chloroforme de 40 à 100 %, beaucoup plus importants que ceux observés pour les α et γ-dicétones (~0,1 %). De même, certains composés aliphatiques contenant des groupements β-dicarbonyl tels que l'acide 6-dioxoheptanoïque, l'acide 5,7-dioxooctanoïque ou encore l'acide 3-oxohexanedioïque ont des rendements de formation de chloroforme lors de la chloration pouvant aller jusqu'à 0,95 mol CHCl<sub>3</sub>/mol (Dickenson *et al.*, 2008). Enfin, le résorcinol, qui peut être considéré comme étant une β-dicétoe masquée (Larson et Weber, 1994), a des rendements de 0,95 mol chloroforme par mol de composé (Gallard et von Gunten, 2002).



**Figure I. 18 :** Chloration de l'acétylacétoe. D'après De Laat *et al.*, (1982)

D'un point de vue cinétique, la chloration des β-dicétoes est une réaction très rapide. Le Tableau I. 7 résume quelques constantes d'action du chlore sur des β-dicétoes. De même, pour comparaison, les constantes de quelques composés aromatiques à pH 7 sont reportées.

Tachikawa *et al.* (2002) ont obtenu pour le monochlorodimédon une dikétoe cyclique (2-chloro-5,5-diméthylcyclohexane-1,3-dione) des constantes de vitesse de l'action du chlore  $k_{\text{app}} > 7.60 (\pm 0.67) \times 10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ . Cette constante est de l'ordre de  $10^5$  fois plus importante que pour le phénol ( $18 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ). Les β-dicétoes réagissent beaucoup plus rapidement avec le chlore que les composés aromatiques ou phénoliques.

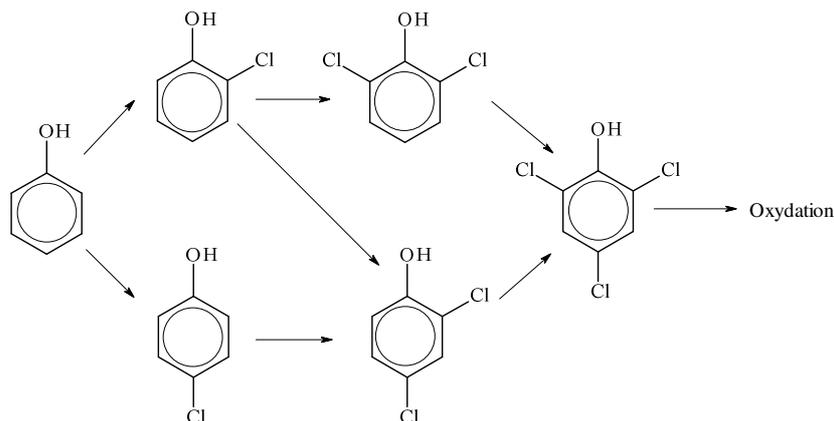
**Tableau I. 7 :** Constantes apparentes de chloration de quelques  $\beta$ -dicétones et composés aromatique à pH 7

Composés	$k_{app}$ ( $M^{-1}s^{-1}$ )	Références
Monochlorodimedon	$6,9 (\pm 0,1) \times 10^6$	Folkes <i>et al.</i> , (1995)
	$3,6 (\pm 0,7) \times 10^6$	Pattison and Davies, (2001)
	$> 7.60 (\pm 0.67) \times 10^6$	Tachikawa <i>et al.</i> , (2002)
Résorcinol	$4 \times 10^3$	Rebenne <i>et al.</i> , (1996)
Phénol	18	Gallard and von Gunten, (2002)
Anisol	0,02	Pinkston and Sedlak, (2004)

*c. Réaction du chlore avec les composés aromatiques*

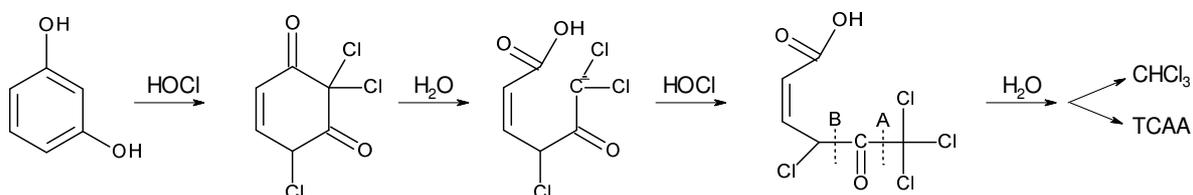
En plus des réactions spécifiques sur certains fragments liés au cycle aromatique, le chlore réagit avec la plupart des composés aromatiques par des substitutions électrophiles. Dans un premier temps, ces réactions se produisent principalement en position ortho ou para des substituants électrodonneurs (Roberts and Caserio, 1968).

Sur les composés phénoliques, par exemple, l'action du chlore se fait majoritairement par substitution électrophile en position 2, 4 et 6 de la fonction phénolique (Figure I. 19). Ainsi, le phénol est tout d'abord chloré en position 2 et 4. Puis, le 2-chlorophenol est chloré et forme le 2,4- ou le 2,6- dichlorophenol, tandis que le 4-chlorophenol produit uniquement le 2,4-dichlorophenol. Enfin, les deux composés ainsi obtenus forment du 2,4,6-trichlorophenol qui va à son tour réagir avec le chlore et former des composés avec rupture du cycle aromatique (Burttschell *et al.*, 1959; De la Mare, 1974).



**Figure I. 19 :** Chloration du phénol d'après Burttschell et al., (1959)

Le résorcinol ou méta-dihydroxybenzène est un composé aromatique qui peut être considéré comme étant un composé  $\beta$ -dicarbonylé (Larson et Weber, 1994). Dans ce cas, une réaction haloforme impliquant une énolisation suivie d'une substitution de l'hydrogène par le chlore en position 2 peut être proposée. Elle conduirait rapidement à la libération de chloroforme suivant le mécanisme réactionnel illustré Figure I. 20.



**Figure I. 20 :** Chloration du résorcinol (Boyce and Hornig, 1983; Rook, 1977)

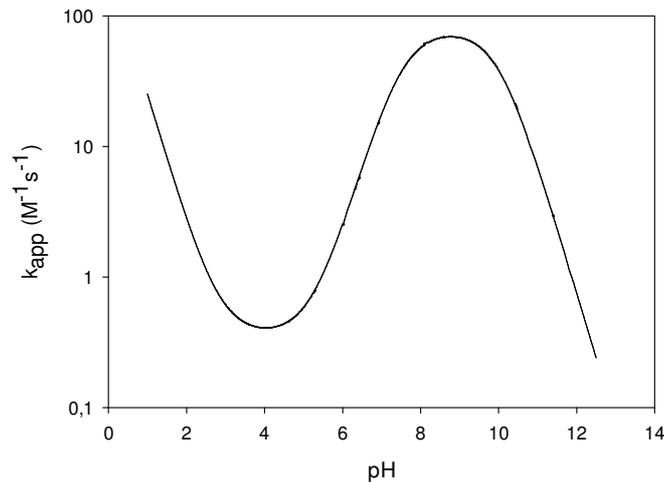
La chloration des composés phénoliques ainsi que de leurs sous-produits chlorés a été largement étudiée dans la littérature (De Laat *et al.*, 1982; Gallard and von Gunten, 2002; Lee and Morris, 1962; Rebenne *et al.*, 1996). Ces études ont montré pour tous les composés des réactions d'ordre 2, ordre 1 par rapport au chlore et ordre 1 par rapport au composé organique. La nature du substituant du noyau aromatique influe sur la vitesse de réaction du chlore. Les groupements électro-donneurs comme  $-\text{OH}$  et  $-\text{CH}_3$  vont augmenter les cinétiques de réaction en augmentant la densité électronique du noyau aromatique alors que des groupements électro-attracteurs comme  $-\text{Cl}$  et  $-\text{NO}_2$  diminuent la réactivité du chlore. Le Tableau I. 8 résume quelques constantes d'action du chlore sur des composés aromatiques en fonction de leurs substituants.

**Tableau I. 8 :** Constantes d'action du chlore sur quelques composés aromatiques

Composés	Substituants	$k_{\text{HOCl/P}^-}$ ( $\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$ )	$k_{\text{app}}$ ( $\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$ )	Références
Phénol	- OH	$2,19 (\pm 0,08) \times 10^{4(a)}$	18	Gallard and von Gunten, (2002)
		$3,52 (\pm 0,19) \times 10^{4(b)}$	28	
4-chlorophénol	- OH et Cl	$2,17 (\pm 0,33) \times 10^{3(a)}$	6	
		$3,16 (\pm 0,22) \times 10^{3(b)}$	9	
2,4-dichlorophénol	- OH et 2 Cl	303 ( $\pm 9$ )	29	
4-bromophénol	- OH et Br	$2,3 \times 10^3$	12	
Anisole	- $\text{OCH}_3$		0,02	Pinkston and Sedlak, (2004)
Acide salicylique	- $\text{COOH}$ et OH	0,1	0,1	Prütz, (1998)

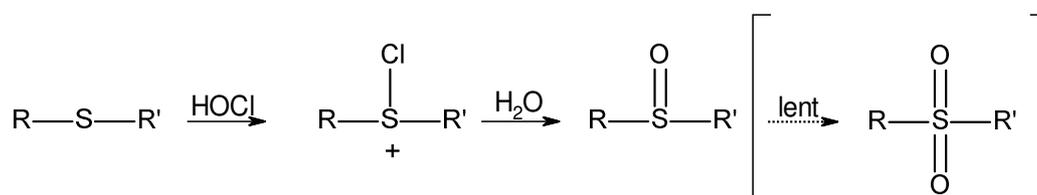
(a) 18 °C, (b) 28 °C

Pour les mêmes raisons, les formes déprotonées des composés phénoliques ont une réactivité plus grande que les formes acides. Les constantes apparentes de vitesse dépendent donc du pH ; elles sont faibles pour des pH compris entre 4 et 6 et augmentent pour des pH compris entre 7 et 10 (Figure I. 21).

**Figure I. 21 :** Evolution des constantes de vitesse apparentes en fonction du pH au cours de la chloration du phénol ( $T = 20\text{ °C}$ )

d. Réaction du chlore avec les composés soufrés

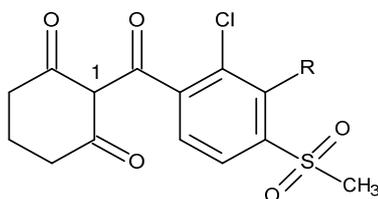
Les groupements soufrés réduits peuvent être facilement oxydés en présence de chlore. La chloration des thioéther (RSR') conduit à un sulfoxyde comme sous-produit le plus généralement observé (Armesto *et al.*, 2000; Drozdź *et al.*, 1988; Hawkins *et al.*, 2003 Pereira *et al.*, 1973; Winterbourn and Brennan, 1997)). La Figure I. 22 représente un mécanisme réactionnel de la chloration d'un thioether. Premièrement, un transfert de chlore aboutit à un cation chlorosulfonium intermédiaire. Ensuite, après hydrolyse, les composés sulfoxydes sont formés (Armesto *et al.*, 2000). Ces composés sont habituellement plus stables en présence de chlore (Armesto *et al.*, 2000; Drozdź *et al.*, 1988). Néanmoins, une transformation ultérieure très lente de sulfoxyde en sulfone a été décrite par Lopez *et al.* (1994) pour les pesticides de la famille des S-triazines.



**Figure I. 22 :** Mécanisme réactionnel de chloration des thioether (RSR')

e. Conclusions concernant l'action attendue du chlore sur les β-tricétones

La chloration des pesticides β-tricétones n'a pas encore été étudiée dans la littérature mais les éléments de la synthèse bibliographique permettent d'envisager l'action du chlore sur ce type de molécule.



L'absence de groupement électrodonneur sur le cycle aromatique rend l'action du chlore sur le cycle probablement beaucoup moins rapide que l'action du chlore sur la β-tricéto*n*e i.e. sur le carbone en position C1. Le chlore réagit en effet quasi instantanément avec les β-tricéto*n*es et très lentement sur un cycle aromatique en l'absence de groupement donneur comme -OH. L'action du chlore avec les β-tricéto*n*es est aussi susceptible de former des quantités importantes de chloroforme. En ce qui concerne le groupement sulfone, Lopez *et al.*,

(1994) ont montré que ce groupement était le résultat de l'étape finale de chloration de certains composés soufrés. Il sera donc stable et ne subira pas de chloration.

## IV.2. L'ozone et sa réactivité vis-à-vis des $\beta$ -tricétones

### IV.2.1. Généralités

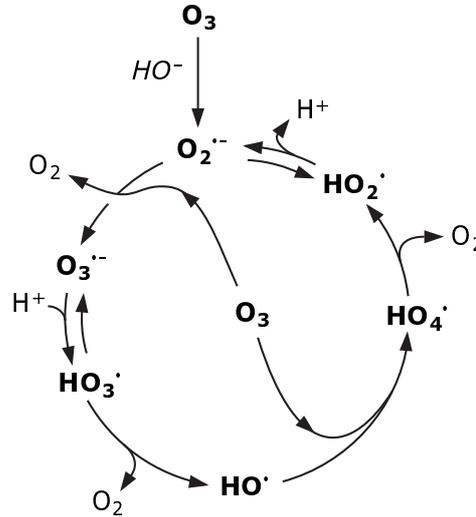
L'ozone est un oxydant employé dans le traitement des eaux depuis le début du XX<sup>ème</sup> siècle. L'ozone a des applications très variées, il peut être utilisé en différents points lors des étapes de traitements des eaux. En début de filière, l'ozone (0,5 à 1,2 mg.L<sup>-1</sup>) est principalement utilisé pour améliorer les qualités organoleptiques (élimination des couleurs, amélioration des goûts et odeurs) et pour la déferrisation et la démanganisation. Il augmente l'efficacité des étapes de coagulation-floculation et favorise l'élimination des algues. En plus des applications précédentes, l'ozone est employé en potabilisation en inter-ozonation ou post-ozonation (concentration moyenne en ozone 1 à 4 mg.L<sup>-1</sup>) pour permettre l'oxydation de composés organiques et la désinfection en milieu de filière. L'ozone peut également être utilisé afin d'augmenter la biodégradabilité des matières organiques pour une meilleure élimination par traitement biologique sur charbon actif (Glaze, 1987; Takanashi *et al.*, 2002; Tripathi *et al.*, 2011). En effet, dans le traitement de l'eau potable, les expositions à l'ozone sont de l'ordre de 10 mg.min.L<sup>-1</sup>. Ces doses d'ozone peuvent augmenter de 49 % la teneur de l'eau en carbone organique dissous biodégradable (BDOC) (Escobar and Randall, 2001).

L'ozone (O<sub>3</sub>) est une forme allotropique de l'oxygène. A température ambiante, c'est un gaz incolore avec une odeur très caractéristique. Il est produit par décharge électrique dans l'air ou dans l'oxygène (décharge à effet corona). L'équation globale de sa formation s'écrit (Doré, 1989) :



La solubilité de l'ozone dans l'eau est environ dix fois plus élevée que celle de l'oxygène, ce qui permet d'obtenir une concentration en ozone plutôt élevée par saturation de l'eau. Elle dépend de la pression partielle de l'ozone et de la température. Elle diminue lorsque la température augmente et également lorsque le pourcentage massique en ozone dans le gaz est faible (Baig and Mouchet, 2010). La solubilité de l'ozone est d'environ deux fois plus élevée à 0 °C qu'à température ambiante (Mizuno and Tsuno, 2010).

Dans l'eau pure, l'ozone est instable. Sa décomposition résulte d'un mécanisme complexe de réactions en chaîne, initiée par l'action des ions hydroxyde. La décomposition de l'ozone conduit à la formation de radicaux hydroxyle ( $\text{HO}^\bullet$ ) et hydro et superoxyde ( $\text{HO}_2^\bullet$  et  $\text{O}_2^{\bullet-}$ ), espèces radicalaires très réactives (Figure I. 23).



**Figure I. 23 :** Cycle de décomposition de l'ozone dans l'eau pure  
(Staelin et al., 1984; Staelin and Hoigne, 1985)

La décomposition de l' $\text{O}_3$  en phase aqueuse est influencée par le pH. Dans l'eau pure, les temps de demi-vie de l'ozone diminuent avec l'augmentation du pH. Entre pH 7 et 10, ils passent de 15 à 20 minutes à 20 °C. En solutions acides et à 31 °C, la constante de vitesse de décomposition de l'ozone a été calculée à  $3 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$  soit un temps de demi-vie de 64 heures. (Sehested et al., 1992).

Ainsi, à des pH < 3, les réactions radicalaires sont négligeables. Pour des pH > 8 en revanche, les concentrations en  $\text{HO}^\bullet$  dans le milieu deviennent importantes et l'ozonation peut alors être considérée comme un procédé d'oxydation avancée.

Certains composés organiques tels que les hydrates de carbone, peuvent réagir en solution aqueuse avec le radical hydroxyle et produire l'ion radical superoxyde  $\text{O}_2^{\bullet-}$ . Ces composés sont dits « propagateurs » de la chaîne radicalaire. Inversement, certains composés tels que le ter-butanol et les ions carbonate piègent les radicaux hydroxyle et ralentissent ainsi la chaîne radicalaire de décomposition de l'ozone. Ils sont dits « pièges à radicaux » ou « inhibiteurs ». Le Tableau I. 9 rapporte les constantes cinétiques de réaction de l'ozone et des

radicaux  $\text{HO}^\bullet$  avec le tert-butanol et les ions carbonates (Buxton *et al.*, 1988; Hoigné and Bader, 1983a).

**Tableau I. 9 :** Constantes cinétiques de réaction de l’ozone et des radicaux  $\text{HO}^\bullet$  sur certains inhibiteurs

Inhibiteurs	$k_{\text{O}_3}$ ( $\text{M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ )	$K_{\text{HO}^\bullet}$ ( $\text{M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ )
Ter-butanol	$\approx 0,003$	$6,0 \times 10^8$
$\text{HCO}_3^-$	$\ll 0,01$	$8,5 \times 10^6$
$\text{CO}_3^{2-}$	$< 0,01$	$3,9 \times 10^8$

Lors de la réaction entre les ions carbonate ou hydrogénocarbonate et les radicaux hydroxyle, des radicaux carbonate peuvent être générés. Ces radicaux peuvent réagir avec de nombreux composés organiques (Karpel Vel Leitner and Fu, 2005).



#### IV.2.2. Réactivité de l’ozone avec les molécules organiques

De par son fort potentiel standard d’oxydoréduction, l’ozone est un désinfectant puissant (Weast, 1980).



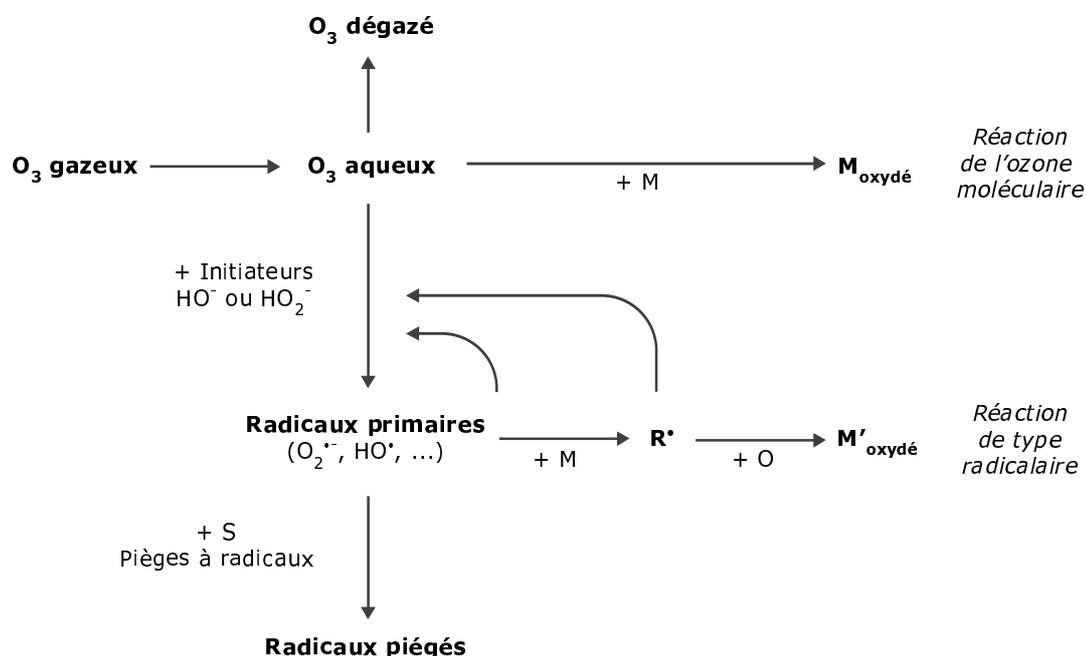
C’est également un oxydant pour beaucoup de composés organiques (micropolluants organiques, matières organiques naturelles) et minéraux ( $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{ClO}_2^-$ ,  $\text{ClO}^-$ , ...). Les constantes d’action de l’ozone sur ces composés sont parfois très élevées, surtout pour des  $\text{pH} \geq 7$  (Hoigné *et al.*, 1985; Hoigné and Bader, 1983a).

Durant l’ozonation, les composés organiques et minéraux peuvent être oxydés suivant deux voies :

- la voie directe : réactions de la forme moléculaire de l’ozone,
- la voie indirecte : réactions de type radicalaire, mettant principalement en jeu les radicaux hydroxyles  $\text{HO}^\bullet$  ( $E^\circ = 2,74 \text{ V}$  ; Klaning *et al.*, 1985).

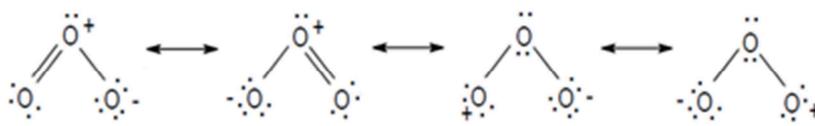
L’importance relative des deux voies réactionnelles dépend des concentrations en espèces oxydantes et de la réactivité des composés vis-à-vis des deux espèces oxydantes.

Hoigné and Bader (1983a) ont proposé un mécanisme simplifié des modes d'action de l'ozone en milieux aqueux représenté Figure I. 24.



**Figure I. 24 :** Voies de réactions de l'ozone en solution aqueuse (Hoigné and Bader, 1983a)

La structure moléculaire de l'ozone est décrite comme étant un hybride de quatre formes mésomères (Figure I. 25).



**Figure I. 25 :** Formes de résonance de l'ozone (Bailey, 1972)

De par ses caractéristiques structurales, l'ozone moléculaire peut réagir comme dipôle, électrophile et nucléophile, ce qui en fait une molécule instable dans l'eau. Il peut réagir avec les composés organiques par différents types de réactions (Doré, 1989) :

- une cyclo-addition 1,3-dipolaire sur une double liaison C=C. Cette réaction conduit à un ozonide primaire instable qui se décompose en un composé présentant des fonctions carbonyles et en peroxyde d'hydrogène,
- une attaque électrophile,
- une attaque nucléophile, plus rare mais qui explique l'action de l'ozone sur le carbone de la liaison C=N en présence d'un solvant inerte.

Comme pour le chlore, l'ozone réagit sélectivement avec les composés et les vitesses de réaction dépendent fortement de la nature des groupements fonctionnels mais également leur caractère protoné ou déprotoné (Bailey *et al.*, 1972). Compte tenu de sa sélectivité, l'ozone peut être qualifié d'oxydant électrophile comme le montre notamment sa réactivité sur les composés aromatiques simples (Decoret *et al.*, 1984; Doré et Legube, 1983; Hoigné et Bader, 1983a, 1983b; Legube *et al.*, 1983). Ainsi, les constantes d'action de l'ozone avec les composés aromatiques varient fortement avec la nature des substituants de  $9 \times 10^{-2} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  pour le nitrobenzène (Hoigné et Bader, 1983a) à  $1,4 \times 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  pour l'ion phénolate (Hoigné et Bader, 1983b).

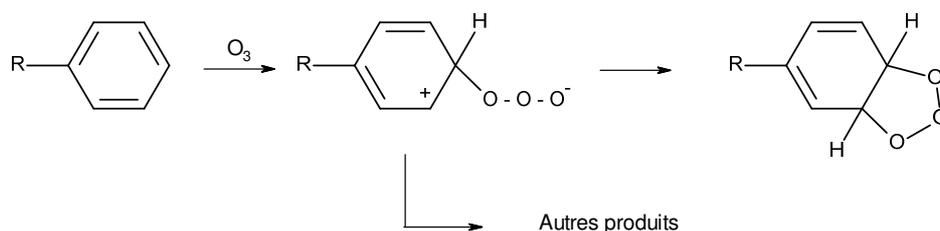
Au contraire, le radical hydroxyle est un radical peu sélectif qui agit principalement par arrachement d'un atome d'hydrogène, par addition sur une double liaison C=C ou par transfert d'un électron. Le Tableau I. 10 présente les constantes de vitesse de réaction de l'ozone moléculaire et du radical hydroxyle avec quelques composés organiques retrouvés dans la littérature (Buxton *et al.*, 1988; David Yao et Haag, 1991; Hoigné et Bader, 1983a, 1983b).

**Tableau I. 10 :** Constantes de vitesse du second ordre pour la réaction de l'ozone moléculaire et du radical hydroxyle avec quelques composés organiques de référence

Composés	$k_{\text{O}_3} (\text{M}^{-1}\cdot\text{s}^{-1})$	$K_{\text{HO}\cdot} (\times 10^8)(\text{M}^{-1}\cdot\text{s}^{-1})$
Acide formique	5	1,3
Acide acétique	$\leq 3 \times 10^{-5}$	0,2
Méthanol	0,02	9,7
Formaldéhyde	0,1	10
Acétaldéhyde	1,5	73
Dichlorométhane	< 0,1	0,6
Chloroforme	< 0,1	0,1
Trichloroéthylène	17	40
Phénol	1300	140
2-chlorophenol	1100	120

a. Réactivité de l'ozone avec les composés aromatiques

Dans le cas de systèmes aromatiques, la charge positive qui se développe lors de la formation d'un produit d'addition de l'ozone est répartie sur l'ensemble du cycle aromatique. La formation de l'ozonide est suffisamment retardée pour permettre à un produit d'addition de l'ozone de devenir une entité chimique distincte. Ceci explique pourquoi, outre la formation d'ozonide, pour les composés aromatiques, d'autres voies de réactions sont observées et la formation d'autres sous-produits d'ozonation a lieu (Figure I. 26).



**Figure I. 26 :** Formation d'un produit d'addition lors de l'ozonation de composés aromatiques (von Sonntag et von Gunten, 2012)

Les réactions électrophiles se produisent particulièrement sur les composés aromatiques, molécules à forte densité électronique. Doré et Legube (1983) ont montré que lors de l'ozonation en solution aqueuse de composés aromatiques monocycliques et polaires, la vitesse de réaction est dépendante de la nature des substituants sur le cycle aromatique. Les constantes de vitesse d'oxydation par l'ozone de quelques composés aromatiques sont résumées au Tableau I. 11 (Hoigné et Bader, 1983a, 1983b; Stafford *et al.*, 1994).

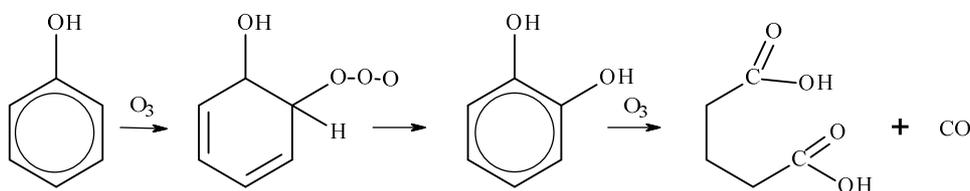
**Tableau I. 11** : Influence du substituant sur les constantes de vitesse d'ozonation de quelques composés aromatiques (Hoigné et Bader, 1983a, 1983b; Stafford et al., 1994)

Composé aromatique	Substituants	$k_{O_3/P^-}$	$k_{app} (M^{-1}s^{-1})$
Chlorobenzène	- Cl		0,75
Acide benzoïque	- COOH	1,2	1,2
Benzène	- H		2
Toluène	- CH <sub>3</sub>		14
Anisole	- OCH <sub>3</sub>		290
4-chlorophénol	- Cl et OH	$0,6 \times 10^9$	600
2-chlorophenol	- Cl et OH	$0,2 \times 10^9$	1100
Phénol	- OH	$1,4 \times 10^9$	1300
Aniline	- NH <sub>2</sub>	$9 \times 10^7$	$1 \times 10^{8*}$

\* pH 8

La présence de groupements donneurs d'électrons tels que OH ou NH<sub>2</sub> sur les cycles aromatiques augmente la densité électronique sur les atomes de carbone en position ortho et para et favorise l'attaque électrophile de la molécule d'ozone sur ces positions. Au contraire, les groupements attracteurs d'électrons tels que COOH ou COCH<sub>3</sub> vont diminuer la réactivité de la molécule d'ozone.

Le Tableau I. 11 montre que les composés de type phénol réagissent ainsi rapidement avec l'ozone. Dans le cas de ces composés, le schéma réactionnel proposé lors de l'ozonation est représenté Figure I. 27. D'après Doré and Legube, 1983, la réaction évolue vers la formation de composés de type aldéhyde, acides avec une perte limitée en acide carbonique.



**Figure I. 27** : Réaction de l'ozone avec le phénol (Doré and Legube, 1983)

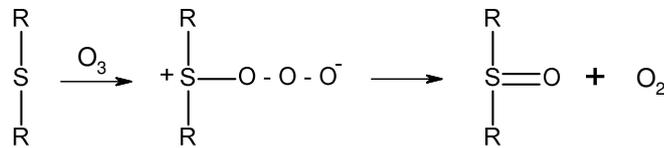
b. Réaction de l'ozone avec les composés organosoufrés

L'ozone réagit avec les composés soufrés qui présentent les plus faibles états d'oxydation tels que les thiols (RSH), les sulfures (RSR), les disulfures (RSSR), les sulfoxydes (R<sub>2</sub>SO), les acides sulfiniques (RS(O)OH) et le sulfite (HOS(O)O<sup>-</sup>). Le Tableau I. 12 reporte quelques constantes de vitesse à pH 7 retrouvées dans la littérature pour ce type de composés.

**Tableau I. 12 :** Constantes d'action de l'O<sub>3</sub> sur des composés soufrés à pH 7

Composés	k <sub>O<sub>3</sub></sub> (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	Références
Dimehtyl sulfoxyde	8	Pryor <i>et al.</i> , (1984)
Trans-1,2-Dithiane-4,5-diol	2,1 × 10 <sup>5</sup>	Muñoz <i>et al.</i> , (2001)
Glutathione	4 × 10 <sup>6</sup>	Pryor <i>et al.</i> , (1984)
Methanesulfinate	2 × 10 <sup>6</sup>	Flyunt <i>et al.</i> , (2001)

Dans le cas des sulfures, des disulfures et des acides sulfiniques, le transfert d'oxygène est considéré comme étant la seule réaction ayant lieu, comme le montre la réaction avec un sulfure (Figure I. 28).



**Figure I. 28 :** Ozonation d'un sulfure

Les sulfoxydes quant à eux réagissent très lentement avec l'ozone. Ces produits peuvent donc être considérés comme réfractaires à l'ozone (von Sonntag et von Gunten, 2012).

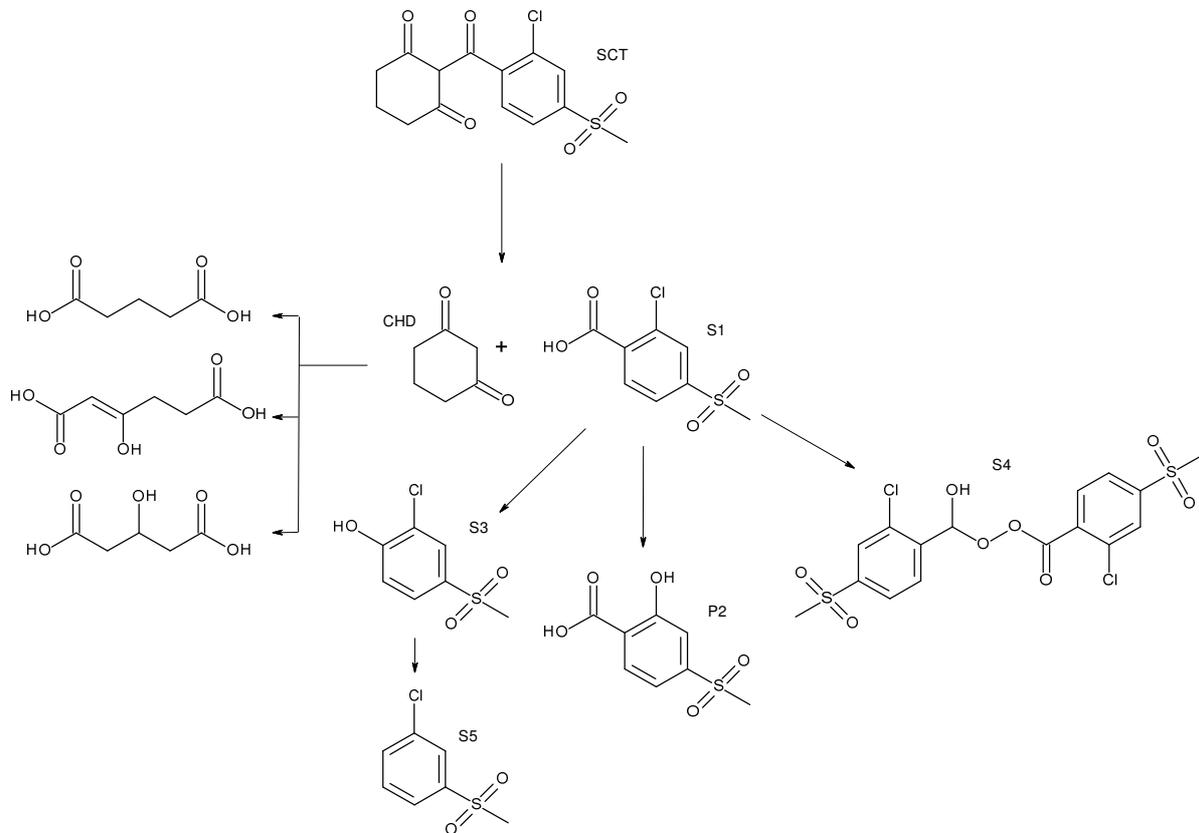
c. Réaction de l'ozone sur les β-tricétones

Jović *et al.* (2013) ont étudié la dégradation de deux β-tricétones (la mésotrione et la sulcotrione) avec différents procédés d'oxydation avancé (AOPs). Selon ces auteurs, la dégradation par l'ozone de ces molécules commence par une attaque du groupement carbonyle pour former (i) le cyclohexane-1,3-dione instable qui se décompose en acides carboxyliques aliphatiques et (ii) l'acide 2-hydroxy-4-methylsulfonylbenzoïque (P2) (Figure I. 29). Ce sous-produit a été retrouvé majoritairement pour tous les AOPs étudiés dans ce travail (Ozonation, réacteur type décharge à barrière diélectrique, photocatalyse et procédé

Fenton). Lors de l'ozonation de la sulcotrione, la formation de l'acide 2-chloro-4-methylsulfonylbenzoïque (S2) a également été notée comme dans le cas de l'hydrolyse et de la photolyse (Cf Partie III). Aucune ouverture du cycle benzène n'a été observée au cours de l'ozonation, ce qui implique que dans ces conditions l'ozone est l'oxydant majoritaire par rapport aux radicaux hydroxyle.

Aucune différence notable n'a été notée entre la sulcotrione et la mésotrione lors de l'ozonation. Pour les deux composés, la présence d'un groupement électro-attracteur sur le cycle aromatique des deux composés (Cl<sup>-</sup> pour la sulcotrione et NO<sub>2</sub><sup>-</sup> mésotrione) ne favorise pas la réaction avec l'ozone.

Pour un taux de traitement de 200 mg O<sub>3</sub>.L<sup>-1</sup> et des concentrations initiales en composé de 220 ppm, une faible minéralisation a été observée. Au bout de 180 minutes de traitement, en revanche une dégradation totale des deux pesticides a été observée. Les concentrations en carbone organique dissous ont diminué de 139 mg.L<sup>-1</sup> avant traitement à 113 mg.L<sup>-1</sup> après ozonation pour la sulcotrione et de 129 mg.L<sup>-1</sup> à 121 mg.L<sup>-1</sup> pour la mésotrione.



**Figure I. 29** : Schéma réactionnel proposé pour la réaction de l'ozone avec la sulcotrione (adapté de Jović et al., 2013).

## **V. Conclusion**

Cette étude bibliographique a permis de mettre en évidence que les herbicides de la famille des  $\beta$ -tricétones sont fréquemment retrouvés dans les ressources en eau. Comme la plupart des pesticides, notamment les herbicides, les besoins de l'agriculture intensive semblent expliquer une utilisation de plus en plus importante de ces substances, notamment depuis qu'elles remplacent l'atrazine, interdite depuis 2003. De nombreux travaux ont été menés pour comprendre leur comportement dans les milieux naturels. Les travaux présents dans la littérature ont mis en évidence que ces molécules sont dégradables par photolyse. Les études portant sur la réactivité du chlore et de l'ozone ont montré qu'une dégradation des  $\beta$ -tricétones par ces oxydations chimiques peut être attendue. De nombreuses études se sont notamment intéressées à la réactivité de la sulcotrione, mais le devenir de la tembotrione reste peu étudié.

Aussi, l'objectif de ces travaux de thèse a été d'évaluer et de comparer le comportement de ces deux herbicides, la tembotrione et la sulcotrione, soumis soit à la photolyse (lumière solaire simulée), soit à des oxydations chimiques pouvant intervenir lors de la potabilisation de ressources en eau contaminées par ces substances.

---

**CHAPITRE II**

**MATÉRIEL ET MÉTHODES**

---

## Chapitre II : Matériel et méthodes

---

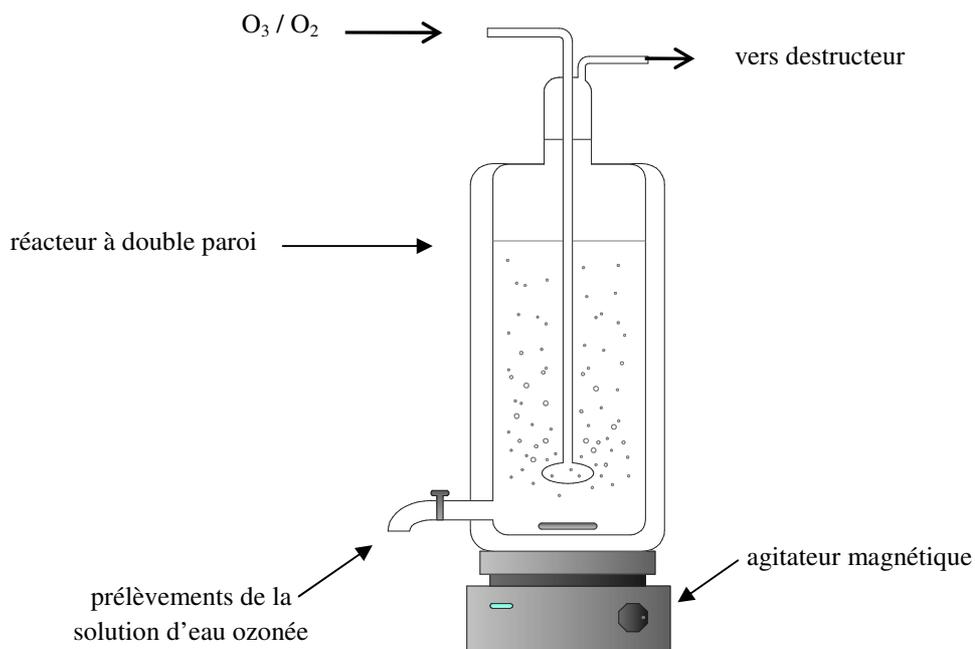
I.	Réactifs et solutions .....	52
I.	Protocoles expérimentaux .....	53
I.1.	Photolyse.....	53
I.1.1.	Dispositifs d'étude de la photolyse.....	53
I.1.2.	Démarche expérimentale .....	56
I.2.	Chloration .....	58
I.3.	Ozonation.....	59
II.	Méthodes analytiques .....	61
II.1.	Quantifications des pesticides et composés de référence .....	61
II.2.	Identification des sous-produits .....	62
II.2.1.	Analyse des THM.....	64
II.3.	Evaluation de la toxicité .....	64
II.4.	Suivi de la biodégradabilité .....	65
II.4.1.	Principe de la méthode .....	65
II.4.2.	Mode opératoire.....	65
II.4.3.	Validité des résultats.....	67
II.5.	Dosage des oxydants.....	67
II.5.1.	Dosage du Chlore .....	67
II.5.2.	Dosage de l'ozone .....	69
II.5.3.	Dosage H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	70
II.6.	Autres méthode d'analyses .....	71
II.6.1.	Carbone et azote .....	71
II.6.2.	Spectroscopie d'absorption UV-Visible.....	71
II.6.3.	Nitrates et nitrites.....	72
II.6.4.	pH et oxygène dissous .....	72

## I. Réactifs et solutions

L'eau ultra-pure (EUP) utilisée pour la préparation de toutes les solutions est produite par un système Millipore Synergy 185 muni d'une cartouche Sim Pack 1. Il fournit une eau de résistivité 18 M $\Omega$ .cm, de teneur en carbone organique total inférieure ou égale à 0,1 mg.L<sup>-1</sup>. Les herbicides étudiés (la tembotrione et la sulcotrione) sont de qualité analytique Pestanal<sup>®</sup> (pureté > 98 %, Sigma-Aldrich). Le peroxyde d'hydrogène employé pour les expériences de photolyse indirecte est commercialisé par Fluka.

L'acide parachlorobenzoïque est un composé peu soluble, sa solubilité dans l'eau à 25 °C est de 46,95 mg.L<sup>-1</sup>. La solution mère de l'acide parachlorobenzoïque (pCBA) est préparée par introduction d'une masse de 30 mg dans 2 L d'eau MilliQ. Après 48 à 72 heures d'agitation, la solution est alors filtrée sur membrane de 0,45  $\mu$ m afin de retenir la fraction de produit non solubilisée. La concentration de la solution obtenue dans ces conditions est alors déterminée par chromatographie liquide haute performance par comparaison avec une gamme étalon préparée dans un mélange eau-méthanol. Les concentrations ainsi obtenues sont de l'ordre de 10 mg.L<sup>-1</sup>.

Les solutions de chlore sont obtenues par dilution d'une solution commerciale d'hypochlorite de sodium fournie par Acros et contenant 13 % de chlore actif (m/v). Les solutions renferment une quantité équimolaire d'ions hypochlorite et chlorure. Les solutions d'eau ozonée utilisées pour les expériences d'ozonation sont préparées dans un réacteur semi-continu d'une contenance de 1,5 L (Figure II. 1). Pour cela, de l'ozone gaz est produit dans un ozoneur Trailigaz (de type 5LO et de puissance 75 W) à partir d'oxygène (Air Liquide, qualité industrielle). Le gaz est introduit en continu dans ce réacteur pour la production d'eau ozonée. Dans ces conditions, les concentrations en ozone dissous sont de l'ordre de 14 mgO<sub>3</sub>.L<sup>-1</sup> à température ambiante.



**Figure II. 1 :** Réacteur semi continu utilisé pour la production d'eau ozonée

## II. Protocoles expérimentaux

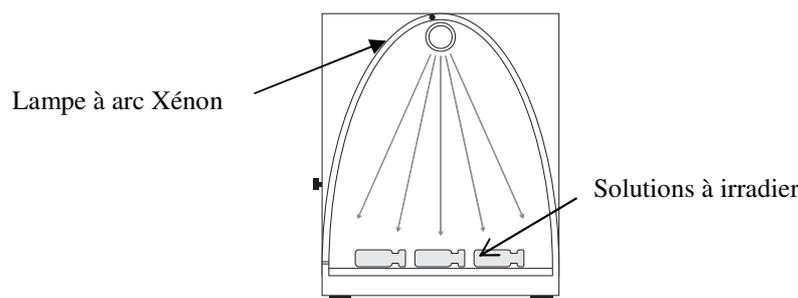
### II.1. Photolyse

#### II.1.1. Dispositifs d'étude de la photolyse

Différents réacteurs ont été utilisés pour les expériences de photodégradation suivant le volume de solution irradiée souhaité. Pour chaque configuration, des solutions témoins sont conservées à l'obscurité et à température ambiante de façon à vérifier la stabilité des molécules au cours du temps de réaction.

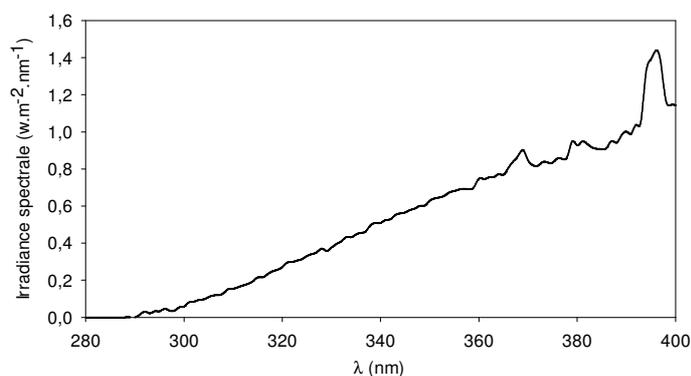
##### a. *Le suntest*

Pour les expériences de cinétique et d'identification des sous-produits, un simulateur solaire de type Suntest CPS+ de marque Atlas (Figure II. 2) a été utilisé de façon à estimer au mieux la dégradation par photolyse dans l'environnement aquatique des molécules étudiées.



**Figure II. 2 :** *Le réacteur Suntest®*

Ce simulateur est équipé d'une lampe à arc xénon à laquelle est ajouté un filtre « lumière du jour » qui élimine tous les rayonnements infrarouge et UV de  $\lambda < 290$  nm. La distribution spectrale de ce réacteur reproduit assez fidèlement le spectre solaire (Figure II. 3).



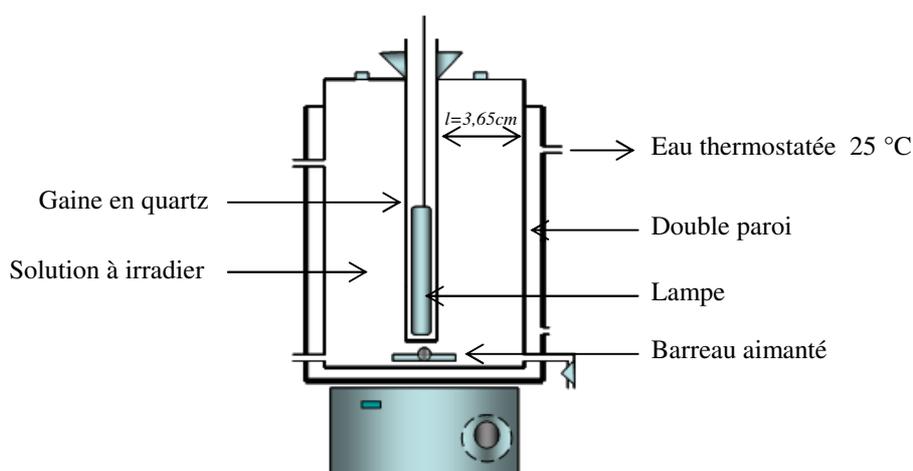
**Figure II. 3 :** *Spectre d'émission de la lampe Xénon avec le filtre lumière du jour (ATLAS Materials)*

Les expériences de photolyse ont été réalisées dans des vials fermés de 2 mL, placés horizontalement dans le réacteur et recevant des rayonnements d'une puissance de  $350 \text{ W}\cdot\text{m}^{-2}$  (soit  $900 \text{ kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ ). Une plaque de refroidissement dans laquelle de l'eau circule en continu a été rajoutée au réacteur. Des vials témoins recouverts de papier d'aluminium ont permis de contrôler la stabilité thermique des composés étudiés car dans ces conditions les températures atteignent  $35 \text{ }^\circ\text{C}$  au bout de quelques heures d'irradiation.

#### *b. Réacteurs annulaires*

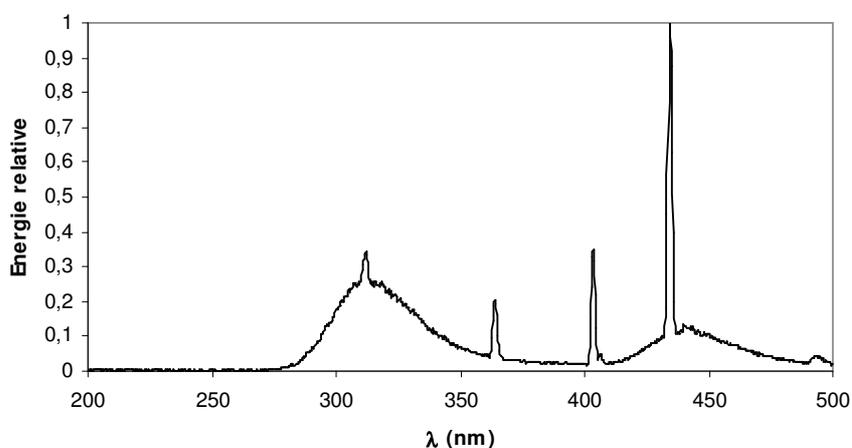
Pour les expériences nécessitant un plus grand volume de solution photolysée (i.e. suivi de la toxicité et de la biodégradabilité) ainsi que les expériences d'identification des sous-produits, des manipulations d'irradiation à  $\lambda > 290$  nm ont été réalisées dans un réacteur

cylindrique de 2 L (Figure II. 4). Le réacteur utilisé possède une double paroi en verre borosilicaté et est entouré d'un film plastique noir. Dans ce réacteur, la température est régulée à 25 °C par recirculation d'eau thermostatée dans la double enveloppe. Les lampes sont dans une gaine en quartz et immergées en position axiale dans le réacteur. Au cours de chaque manipulation, les lampes sont allumées 30 minutes avant leur introduction dans les réacteurs. La solution à irradier est sous agitation magnétique tout au long des expériences pour assurer son homogénéité. Le réacteur est maintenu fermé par un couvercle équipé de cols rodés afin de permettre l'accès à la solution pour les prélèvements ainsi que les mesures de pH et de température.



**Figure II. 4 :** Schéma du réacteur cylindrique

Une lampe à vapeur de mercure basse pression Vilber et Lourmat T6M de puissance électrique 6 W a été employée pour les expériences d'irradiation à  $\lambda > 290$  nm. Cette lampe émet un rayonnement polychromatique centré dans l'UV à 312 nm (Figure II. 5).



**Figure II. 5 :** Spectre d'émission de la lampe Vilbert Lourmat T6M

Dans ces conditions, le flux lumineux délivré par la lampe a été vérifié tout au long de cette étude par photolyse d'une solution référence de phénol. La photolyse du phénol a été aussi utilisée pour les calculs du rendement quantique des pesticides étudiés.

### ***II.1.2. Démarche expérimentale***

#### ***a. Photolyse directe***

Les expériences de photolyse directe menées au cours de ce travail ont été réalisées avec des concentrations initiales en pesticides de (i) 10  $\mu\text{M}$  pour l'étude cinétique, (ii) de 20  $\mu\text{M}$  pour l'étude des sous-produits et le suivi de la toxicité ou (iii) 5 mg C.L<sup>-1</sup> soit 25  $\mu\text{M}$  (TBT) et 30  $\mu\text{M}$  (SCT) pour le suivi de la biodégradabilité. Pour ce type d'expérience, un suivi des concentrations en pesticides au cours du temps a été réalisé par HPLC.

De même, pour chaque échantillon photolysé, un suivi de la toxicité et de la biodégradabilité ainsi qu'une identification des produits de transformation générés ont été menés.

L'influence du pH (2 - 9) sur la cinétique de dégradation a été étudié alors que seules des expériences à pH 7 ont été réalisées pour l'étude des sous-produits, de la toxicité et de la biodégradabilité. Pour les expériences à pH 7, la photolyse a été suivie avec ou sans tampon phosphate 10 mM. En milieu non tamponné, les pH ont été ajustés avec NaOH ou HCl.

#### ***b. Photolyse indirecte***

Les expériences de photolyse indirecte ont été réalisées à pH 7 avec des concentrations initiales de pesticides de 10  $\mu\text{M}$  (pour les expériences de cinétiques) ou 20  $\mu\text{M}$  (pour l'étude des sous-produits) et pour différentes concentrations de  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  ou MON. Pour le calcul des constantes d'action des radicaux  $\text{OH}^\bullet$  sur les pesticides, un compétiteur (l'acide *p*-chlorobenzoïque, *p*CBA) a été ajouté aux solutions de pesticides avec une concentration de 10  $\mu\text{M}$ . Pour chaque manipulation, un suivi des concentrations en pesticides au cours du temps a été réalisé par HPLC.

Dans les conditions de cinétique compétitive entre le pesticide (P) et l'acide *p*-chlorobenzoïque (*p*CBA), les expressions de vitesses suivantes sont décrites :

$$\frac{d[\text{P}]}{dt} = -k_{\text{HO}^\bullet/\text{P}} [\text{P}][\text{HO}^\bullet] \quad (1)$$

$$\frac{d[pCBA]}{dt} = -k_{HO^\bullet/pCBA} [pCBA][HO^\bullet] \quad (2)$$

avec  $k_{HO^\bullet/P}$  et  $k_{HO^\bullet/pCBA}$  les constantes cinétiques apparentes de second ordre du pesticide P et du compétiteur pCBA.  $k_{HO^\bullet/pCBA} = 5 \times 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  (Buxton *et al.*, 1988).

Le pesticide et le compétiteur étant présent simultanément en solution, la relation suivante peut s'appliquer :

$$\frac{d[P]}{[P]} = \frac{k_{HO^\bullet/P}}{k_{HO^\bullet/pCBA}} \frac{d[pCBA]}{[pCBA]} \quad (3)$$

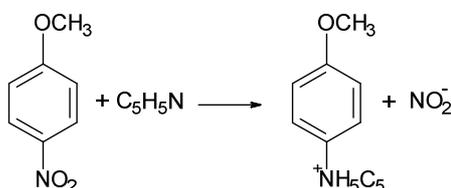
Ou encore,

$$\ln \frac{[P]_0}{[P]_t} = \frac{k_{HO^\bullet/P}}{k_{HO^\bullet/pCBA}} \frac{(\ln[pCBA]_0 - \ln[pCBA]_t)}{[pCBA]_t} \quad (4)$$

A partir de cette équation, connaissant  $k_{HO^\bullet/pCBA}$ , la constante cinétique  $k_{HO^\bullet/P}$  peut être calculée.

### c. Actinométrie

Afin de calculer l'intensité du flux photonique de la lampe xénon (Suntest), le système d'actinométrie développé par Dulin et Mill (1982) a été suivi. C'est un système *nitroanisole-pyridine* (PNA/pyr).



**Figure II. 6 :** Photolyse du PNA en présence de la pyridine

Afin d'être dans des conditions de cinétique de pseudo-premier-ordre, le ratio des concentrations PNA/pyr était de 10 afin de maintenir un large excès en pyridine par rapport au PNA. Les concentrations initiales en PNA et pyr étaient de 10 $\mu$ M. Les dégradations du PNA et de la tembotrione ou de la sulcotrione ont été suivies à pH 7 pendant 10 heures d'irradiation.

Les rendements quantiques de photolyse de la tembotrione et de la sulcotrione ( $\phi_P$ ) ont été calculés d'après la formule établie par Dulin and Mill (1982).

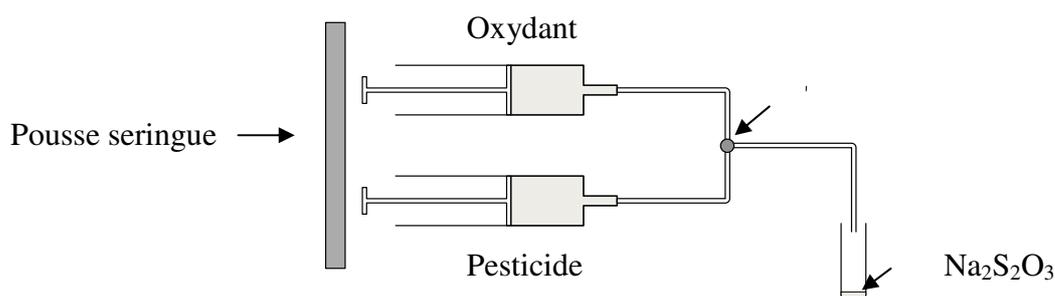
$$\phi_P = \phi_a \left[ \frac{1}{S} \frac{\sum L_\lambda \varepsilon_\lambda^a}{\sum L_\lambda \varepsilon_\lambda^P} \right] \quad (5)$$

Où  $P$  et  $a$  correspondent au pesticide (TBT ou SCT) et l'actinomètre (PNA/pyr), respectivement.  $\phi_a$  représente le rendement quantique de photolyse de PNA/pyr,  $\phi_a = 0,44 [\text{pyr}] + 0,00028$ .  $S$  est la pente de la régression linéaire de  $\ln ([A_0]/[A_t])$  vs  $\ln ([P_0]/[C_t])$ .  $L_\lambda$  et  $\varepsilon_\lambda$  sont respectivement l'irradiance solaire et le coefficient d'extinction molaire à la longueur d'onde  $\lambda$ .

## II.2. Chloration

Les expériences de chloration ont été effectuées dans de l'eau MilliQ à différents pH (compris entre 2 et 12). Le pH du milieu réactionnel a été ajusté par ajout de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  dilué ou de  $\text{NaOH}$  dilué. Les concentrations initiales en pesticides  $P$  (i .e. TBT ou SCT) étaient égales à  $4 \mu\text{M}$ .

Des expériences préliminaires ont montré que les cinétiques de dégradation étaient très rapides. Les expériences de cinétique de chloration ont alors été menées dans un réacteur « stopped flow » de  $0,5223 \text{ mL}$ . Le réacteur utilisé, constitué d'un tube en Peek ( $l = 100 \text{ cm}$ , diamètre interne =  $0,8 \text{ mm}$ ) est relié à un Té ( $V = 22,3 \mu\text{L}$ ) et est alimenté par un pousse seringue double canaux KDSscientific assurant des débits de  $1$  à  $100 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$  (Figure II. 7). Ce dispositif permet d'étudier des temps de réaction compris entre  $0,313 \text{ s}$  et  $31,33 \text{ s}$ . La réaction a été stoppée en sortie de réacteur dans un vial de  $2 \text{ mL}$  avec  $50 \mu\text{l}$  du thiosulfate de sodium ( $[\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3] = 100 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ). Des analyses HPLC des prélèvements ont ensuite été menées pour suivre l'évolution de la dégradation des pesticides en fonction du temps.



**Figure II. 7 :** Réacteur pour les expériences de chloration par dégénérescence d'ordre

Lors des expériences de cinétique, des concentrations initiales en chlore très supérieures aux concentrations initiales en pesticides ( $[\text{HOCl}]_{T,0} > 40 [\text{P}]_T$ ) ont été employées (méthode de dégénérescence d'ordre). Si la réaction de décomposition du composé  $P$  est une réaction d'ordre 2 suivant l'équation (6) :

$$v = - \frac{d[P]}{dt} = k_{\text{HOCl}} [P]_{T,0} [\text{HOCl}] \quad (6)$$

et que  $[\text{HOCl}]_{T,0} \gg [P]_{T,0}$ , il vient alors :

$$v = - \frac{d[P]}{dt} = k_{\text{obs}} [P]_{T,0} \quad (7)$$

$$\text{soit } \ln \frac{[P]_{T,t}}{[P]_{T,0}} = - k_{\text{obs}} t \quad (8)$$

avec  $[\text{HOCl}]_T$  et  $[P]_T$ , les concentrations totales en chlore et P

$k_{\text{obs}} = [\text{HOCl}] k_{\text{HOCl/P}}$  : la constante de pseudo premier ordre

et  $k_{\text{HOCl/P}}$  la constante cinétique apparente d'ordre 2 pour un pH donné.

Pour le suivi de la toxicité et des sous-produits de chloration, les expériences de chloration ont été réalisées avec des concentrations initiales en pesticides de 19 mg.L<sup>-1</sup> pour TBT et 9 mg.L<sup>-1</sup> pour SCT. Le choix de ces concentrations a été basé sur les valeurs d'EC50 déterminées pour chaque composé dans cette étude afin d'avoir une réponse initiale des bactéries du test Lumistox<sup>®</sup>. Les expériences ont été effectuées dans des réacteurs de 50 mL à pH 7. Différents volumes en chlore ont ensuite été ajouté afin d'obtenir des concentrations en chlore dans chaque flacon allant de 0 à 85 µM pour les expériences de tembotrione et de 0 à 55 µM dans le cas de la sulcotrione. Ces concentrations ont été calculées afin d'avoir des rapports de [chlore]/[pesticide] allant de 0 à 2. Après consommation totale du chlore dans le milieu réactionnel (24h de contact), des analyses par LC-MS/MS et une évaluation de la toxicité ont été réalisées.

### II.3. Ozonation

Pour l'étude cinétique, les expériences d'ozonation ont été effectuées en présence d'un compétiteur : la carbamazépine (CBZ) dont la constante de vitesse avec l'ozone est connue ( $k_{\text{O}_3/\text{CBZ}} = 7,80 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ , Rebenne *et al.*, 1996). Lorsque les cinétiques de dégradation de P et du compétiteur CBZ sont d'un ordre global 2, les expressions de vitesses suivantes peuvent être écrites:

$$v = - \frac{d[P]}{dt} = k_{\text{O}_3/\text{P}} [P]_T [\text{O}_3] \quad (9)$$

$$v = - \frac{d[\text{CBZ}]}{dt} = k_{\text{O}_3/\text{CBZ}} [\text{CBZ}] [\text{O}_3] \quad (10)$$

avec  $k_{O_3/P}$  et  $k_{O_3/CBZ}$  les constantes cinétiques apparentes de second ordre du composé P et du compétiteur CBZ.

Comme le composé et le compétiteur sont simultanément présents dans la solution, la relation suivante peut alors être obtenue :

$$\frac{d[P]}{dt} = \frac{k_{O_3/P}}{k_{O_3/CBZ}} \frac{d[CBZ]}{[CBZ]} \quad (11)$$

Ou encore,

$$\ln \frac{[P]_{T,0}}{[P]_{T,t}} = \frac{k_{O_3/P}}{k_{O_3/CBZ}} \ln \frac{[CBZ]_0}{[CBZ]_t} \quad (12)$$

A partir de cette équation, connaissant  $k_{O_3/CBZ}$ , la constante cinétique  $k_{O_3/P}$  peut être calculée.

Les expériences d'ozonation ont été réalisées dans des réacteurs en verre de 50 mL fermés hermétiquement avec un septum. Le pH initial souhaité des solutions a été ajusté entre 2 et 12 avec des solutions diluées de  $H_2SO_4$  et NaOH. Pour tous les pH étudiés et quel que soit le composé, les expériences d'ozonation ont été effectuées en présence d'un piège à radicaux, le tert-butanol, afin de limiter les réactions radicalaires. La concentration en tert-butanol nécessaire a été calculée suivant l'équation (12) :

$$k_{HO^\bullet/tert-butanol} [tert-butanol] \geq 50 \times k_{HO^\bullet/P} [P]_0 + k_{HO^\bullet/CBZ} [CBZ]_0 \quad (13)$$

avec,  $k_{HO^\bullet/CBZ} = 2,05 \times 10^9 M^{-1} s^{-1}$  (Buxton *et al.*, 1988)

$$k_{HO^\bullet/tert-butanol} = 6 \times 10^8 M^{-1} s^{-1} \text{ (Buxton } et al., 1988)$$

Dans ces conditions, pour les deux composés, un protocole expérimental identique a été employé. Dans 8 réacteurs, 45 mL d'un mélange de pesticide (5  $\mu M$ ), carbamazépine (5  $\mu M$ ) et tert-butanol (ajusté au pH souhaité) a été versé. Ensuite, des volumes de 5 mL contenant différentes proportions d'eau ozonée et d'EUP ont été ajoutés de telle sorte à avoir dans les réacteurs des concentrations initiales en ozone comprises entre  $0 < [O_3]_0 < 15 \mu M$ . Après consommation totale de l'ozone par le milieu réactionnel, un suivi par HPLC des concentrations résiduelles de pesticide et de compétiteur a été effectué.

Pour l'étude des sous-produits et le suivi de la toxicité, un protocole expérimental d'ozonation similaire a été employé à pH 7, sans compétiteur et en absence de pièges à radicaux. Pour chaque manipulation, les concentrations initiales en pesticides étaient de 19

mg.L<sup>-1</sup> pour TBT et 9 mg.L<sup>-1</sup> pour SCT. Les concentrations en ozone ajoutées variaient de 0 à 85 µM pour la tembotrione et de 0 à 55 µM dans le cas de la sulcotrione. Ces concentrations correspondent à des rapports [ozone]/[pesticide] de 0 à 2. Après 24h de contact et consommation totale de l'ozone dans le milieu réactionnel, des analyses par LC-MS/MS et un suivi de l'évolution de la toxicité ont été réalisés.

Pour le suivi de la biodégradabilité, le même protocole expérimental a été suivi. Cependant, les concentrations en pesticides initiales étaient de 25 µM pour la tembotrione et 30 µM pour la sulcotrione soit 5 mg C.L<sup>-1</sup>. Ces concentrations sont choisies pour assurer la répétabilité et la reproductibilité des expériences. Les concentrations initiales en ozone variaient de 0 à 0,12 mM pour des rapports de  $0 \leq [\text{Ozone}]/[\text{Pesticide}] \leq 2$ .

### **III. Méthodes analytiques**

#### **III.1. Quantifications des pesticides et composés de référence**

Les pesticides et les composés de référence ont été analysés par chromatographie liquide haute performance (HPLC). Pour cela, une chaîne chromatographique équipée d'une pompe et d'un passeur automatique d'échantillons Alliance-Waters<sup>®</sup> 2695 a été employée. A la sortie de la colonne, la détection des composés a été effectuée à partir d'un détecteur spectrophotométrique UV-Visible Waters<sup>®</sup> 2487. Pour chaque analyse, un volume d'injection de 100 µL, une colonne Kromasil C18 (5 µm, 100 Å- 250 mm × 4,6 mm) et un débit de la phase mobile de 1 mL.min<sup>-1</sup> ont été utilisés. La composition des phases mobiles et les longueurs d'onde employées pour les différents composés sont résumées dans le Tableau II. 1.

**Tableau II. 1 :** Conditions chromatographiques pour les analyses en HPLC

Composés analysés	Phase mobile	Longueur d'onde de détection (nm)
	EUP (0,1 % HCOOH)/ Acétonitrile	
Tembotrione	40/60	250
Sulcotrione	60/40	230
Phénol	45/55	270
<i>p</i> CBA	40/60	234
Carbamazépine	50/50	295
<i>p</i> nitroanisole	50/50	317

### III.2. Identification des sous-produits

L'identification des sous-produits a été réalisée par HPLC couplée à un détecteur UV-visible et à un spectromètre de masse (HPLC-MS).

Pour cela, un ensemble chromatographique (Surveyor) de chez Thermo Finnigan a été utilisé pour les expériences de photolyse. Il comprend :

- une pompe quaternaire basse pression
- un passeur automatique d'échantillons
- un détecteur UV-Visible à barrette de diodes
- un spectromètre de masse (Deca XP max) équipé d'un analyseur de piège ionique et d'une source d'ionisation par electrospray (ESI) fonctionnant en mode positif ou négatif.

Dans ce cas, les composés ont été séparés à l'aide d'une colonne Kromasil ODS C18 (5 µm, 100 Å, 250 mm × 3,2 mm).

Dans le cas des expériences de chloration et d'ozonation, un spectromètre de masse de type Q exactiv quadrupole-Orbitrap (Thermo Scientific) équipé d'un détecteur de masse exacte haute résolution (Orbitrap<sup>TM</sup>) a été utilisé. Une colonne Kinetex C18 (2,6 µm, 100 mm × 3 mm) a été employée pour la séparation des composés.

Dans ces conditions, quel que soit le système employé, les composés ont été séparés à l'aide d'une phase mobile constituée d'un mélange acétonitrile/eau acidifiée avec 0,1 % d'acide acétique. Le débit de la phase mobile a été fixé à 0,3 mL.min<sup>-1</sup>. Le Tableau II. 2 présente les différents gradients d'élution utilisés.

**Tableau II. 2 :** Gradients d'élution utilisés pour la séparation chromatographique des sous-produits de transformation (Voie A : Acétonitrile ; Voie B : EUP + CH<sub>3</sub>COOH)

Photolyse			Chloration			Ozonation		
Temps	Voie A	Voie B	Temps	Voie A	Voie B	Temps	Voie A	Voie B
0 min	10 %	90 %	0 min	5 %	95 %	0 min	5 %	95 %
25 min	100 %	0 %	1 min	5 %	95 %	7 min	5 %	95 %
30 min	100 %	0 %	18 min	100 %	0 %	27 min	100 %	0 %
31 min	10 %	90 %	20 min	100 %	0 %	29 min	100 %	0 %
44 min	10 %	90 %	21 min	5 %	95 %	30 min	5 %	95 %
			30 min	5 %	95 %	45 min	5 %	95 %

Les conditions d'ionisation de la source ainsi que les conditions de fragmentation utilisées sur les deux spectromètres de masse sont reportés dans le Tableau II. 3.

**Tableau II. 3 :** Conditions d'ionisation et de fragmentations analyse MS et MS/MS

Paramètres		Sous-produits de photolyse (Deca XP max Thermo Finnigan)	Sous-produits de chloration et d'ozonation (Q exactiv quadrupole- Orbitrap)
Conditions d'ionisation	Température du capillaire de transfert des ions	350 °C	350 °C
	Débit du gaz de nébulisation (N <sub>2</sub> )	59 unités arbitraires	45 unités arbitraires
	Tension de cône	4,5 kV	3 kV
	Tension capillaire	-4 ou +15 V	
Conditions de fragmentation	Gamme de masse	50-600 uma	50-700 uma
	Energie de collision normalisée (en %)	25-40 %	25-40 %
	Tension d'activation	30 ms	200 ms
	Q d'activation	0,25 ms	
	Largeur d'isolation	2 uma	4 uma

### III.2.1. Analyse des THM

Le chloroforme issu de la chloration des pesticides étudiés a été analysé par GC/MS en mode espace de tête (HeadSpace). La chaîne chromatographique comprenait :

- un chromatographe Agilent 7890A
- un passeur automatique Combi Pal CTC Analytic
- un spectromètre de masse Agilent 5975C (mode impact électronique)
- une colonne capillaire Agilent HP-5MS (1 $\mu$ m, 30m  $\times$  0.25mm).

Dans ces conditions, pour chaque analyse, un vial de 20 mL contenant 10 mL d'échantillon acidifié avec 80  $\mu$ L d'HCl (1M) est introduit dans un agitateur chauffant (50 °C ; 500 tpm) pendant 15 min pour atteindre l'équilibre gaz-liquide. Ensuite, 2,5 mL de la phase gaz sont introduits (mode « pulsed » split 1:10) dans la colonne capillaire.

Dans le cadre de ce travail, un étalonnage du chloroforme a été effectué avec des étalons de concentrations allant de 13  $\mu$ g.L<sup>-1</sup> à 300  $\mu$ g.L<sup>-1</sup>.

### III.3. Evaluation de la toxicité

Un test normalisé (AFNOR NF EN ISO 11348-3, 1999) a été employé pour les mesures de toxicité. C'est un test basé sur la luminescence de bactéries lyophilisées *Vibrio fischeri* mesurée à l'aide du Lumistox<sup>®</sup> 300. *Vibrio fischeri* étant une bactérie marine, la concentration en sel a été ajustée à 2 % en ajoutant du NaCl en poudre dans chaque échantillon (conditions optimales pour ces bactéries). Le pH des échantillons a été ajusté à 7 par ajout de NaOH ou HCl. Un échantillon témoin contenant des bactéries et une solution de NaCl (2 %) ajustée à pH 7 a été analysé dans les mêmes conditions.

Lors de chaque test, l'émission de luminescence par les bactéries est mesurée par un luminomètre avant addition de l'échantillon. Une fois l'échantillon ajouté, les solutions sont incubées à 15 °C pendant 30 minutes, puis la luminescence est remesurée. Dans ces conditions, la toxicité est exprimée en pourcentage d'inhibition de la luminescence des bactéries.

Ce pourcentage d'inhibition est calculé par la relation suivante:

$$\text{Inhibition (en \%)} = \frac{I_{ct} - I_t}{I_{ct}} \times 100 \quad (14)$$

Avec  $I_{ct}$  : luminescence de l'échantillon à  $t_0$  prenant en considération les facteurs de correction obtenus sur les échantillons témoins (NaCl)

$I_t$  : luminescence des bactéries après 30 minutes d'incubation en contact avec les échantillons

Pour chaque pesticide, les valeurs d'EC<sub>50</sub> obtenues dans le cadre de ce travail ont été déterminées selon le protocole décrit dans les méthodes standards NF/EN/ISO 11348-3.

Pour le suivi de la toxicité au cours de la photolyse, de la chloration et de l'ozonation, des expériences ont été réalisées avec des concentrations initiales en pesticides avant oxydation de 18,8 mg.L<sup>-1</sup> pour TBT et 9 mg.L<sup>-1</sup> pour SCT. Ces concentrations ont été choisies à partir des valeurs d'EC<sub>50</sub> déterminées dans cette étude afin d'avoir une réponse initiale des bactéries du test Lumistox<sup>®</sup>.

### **III.4. Suivi de la biodégradabilité**

Une procédure décrite par l'OCDE (Organisation de Coopération et de Développement Economiques) a été mise en place pour le suivi de la biodégradabilité des pesticides et de leurs sous-produits de dégradation. Le test employé est le OECD 301D: Essai en flacons fermés (1992). C'est une version modifiée de la norme ISO 7827-1984 adoptée en 1981.

#### ***III.4.1. Principe de la méthode***

Une solution contenant l'échantillon à tester et un milieu minéral estensemencée par un inoculum hétérotrophe puis mis à incuber en aérobiose dans l'obscurité. La dégradation de l'échantillon est évaluée au travers du suivi régulier de l'oxygène dissous, du carbone organique dissous, ainsi que de l'azote total pendant 28 jours. Cette méthode d'évaluation de la biodégradabilité est utilisée pour des concentrations allant de 2 à 5 mg de carbone par litre.

En parallèle des échantillons testés, des témoins contenant uniquement le milieu minéral et/ou l'inoculum sont suivis pour prendre en compte l'activité endogène de l'inoculum et des témoins contenant uniquement des solutions à tester sont suivis pour évaluer les effets de toxicité vis à vis des bactéries présentes.

La quantité de carbone organique dissous (COD) apportée par l'inoculum est négligeable par rapport au COD de la solution à tester

#### ***III.4.2. Mode opératoire***

Tous les essais de biodégradabilité ont été réalisés avec des solutions de concentration initiale en pesticides égale à 5 mg de carbone par litre avant photolyse et ozonation.

Les solutions sont versées dans des flacons en verre de 50 mL équipés de bouchons à DBO. Les flacons sont nettoyés soigneusement avant usage (solution de lavage : 2,5 g d'iode plus 12,5 g d'iodure de potassium par litre d'acide sulfurique à 1 % (m/v), puis rinçage avec de l'eau déminéralisée). Les bouteilles sont ensuite conservées à température constante ( $23 \pm 1$  °C), à l'abri de la lumière sous faible agitation. Chaque flacon estensemencé avec 500 µL d'inoculum.

L'inoculum est préparé à partir de 50 mL de l'effluent secondaire d'une station d'épuration (Saint-Julien l'Ars, station par boues activées de 2500 eq hab) centrifugé à 7000 G. Le culot est ensuite récupéré dans un 1 mL d'un mélange 50/50 EUP/glycérol. Un nombre suffisant de ce même inoculum a été préparé et conservé à -80 °C afin d'avoir la même diversité bactérienne tout au long des expériences de biodégradabilité.

Lors des tests de biodégradabilité, les suspensions bactériennes sont décongelées doucement en passant de -80 °C à -20 °C puis 5 °C avant d'être laissées à température ambiante. Ensuite elles sont centrifugées à 7000 G pour éliminer le glycérol. Le culot est versé dans une solution d'eau peptonée à 250 mg.L<sup>-1</sup> pendant 48 h pour permettre le développement bactérien.

Le milieu minéral est une solution de 1 L contenant 1mL de chacune des solutions suivantes :

- Solution A: KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (0,062 M), K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (0,125 M), Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>. 2H<sub>2</sub>O (0,187 M), NH<sub>4</sub>Cl (0,009 M) (pH = 7,4)
- Solution B: CaCl<sub>2</sub> (0,247 M)
- Solution C: MgSO<sub>4</sub>. 7H<sub>2</sub>O (0,090 M)
- Solution D: FeCl<sub>3</sub>. 6H<sub>2</sub>O (0,001 M)

Le milieu minéral est aéré fortement pendant au moins 20 minutes, puis il est laissé au repos pendant 20 h à la température de l'essai. 1 mL de milieu minéral est ajouté à 1 L de solution à tester.

L'oxygène dissous est mesuré par une sonde O<sub>2</sub> (CellOx 325, WTW). Le carbone organique est analysé par un COT-mètre (Shimadzu, TOC-V<sub>CSH</sub>). Les résultats obtenus pour l'échantillon sont corrigés par la consommation des témoins contenant uniquement l'inoculum. Les résultats obtenus sont exprimés sous forme de pourcentage de perte d'oxygène ou de dégradation du carbone dissous.

### III.4.3. Validité des résultats

Plusieurs conditions doivent être remplies afin que le test de biodégradabilité soit considéré comme étant valide :

- la perte d'oxygène ne doit pas dépasser  $1,5 \text{ mg.L}^{-1}$  au bout de 28 jours pour le témoin contenant uniquement l'inoculum,
- la concentration résiduelle d'oxygène dans les flacons d'essai ne doit pas être inférieure à  $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$ ,
- le composé de référence (acétate de sodium) doit être dégradé à plus de 70 % au bout de 14 jours de test,
- la substance à tester est considérée comme non toxique envers l'inoculum, si dans le cas du flacon témoin de toxicité (substance à tester + composé de référence + inoculum) la dégradation du composé de référence est supérieure à 35 % au bout du 14<sup>ème</sup> jour de test.

Pour toutes les expériences de biodégradabilité effectuée, les conditions de validité des tests ont été remplies. Les concentrations en oxygène sont comprises entre  $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$  et  $9 \text{ mg.L}^{-1}$ . Les taux de dégradation de l'acétate de sodium ont été compris entre 70 et 80 %. Dans le cas des flacons contenant uniquement l'inoculum, les pertes d'oxygène observées ont été négligeables ( $< 0,7 \text{ mg.L}^{-1}$ ).

## III.5. Dosage des oxydants

### III.5.1. Dosage du chlore

#### a. Méthode par iodométrie

La méthode par iodométrie (Standard Methods, 1995) a été appliquée pour le dosage de la solution commerciale d'hypochlorite de sodium et des solutions mères de chlore de concentrations  $> 4.10^{-5} \text{ M}$ .

Dans cette méthode, le chlore total contenu dans la solution à doser est réduit en milieu acide en présence d'un excès d'iodure de potassium. L'iode formé au cours de cette réaction est alors dosé par le thiosulfate de sodium. Les réactions mises en jeu sont les suivantes :



Lors de l'utilisation de cette méthode, on ajoute, dans un erlenmeyer contenant 100 mL d'EUP et un volume  $V_E$  de solution à doser :

- 5 mL d'acide acétique
- 1g de KI en poudre

L'iode libéré est titré en retour par une solution de thiosulfate de sodium à 0,01 M en présence de thiodène.

Dans ces conditions, la concentration en chlore total est donnée par la relation suivante :

$$[\text{Chlore}]_{\text{total}} (\text{mol.L}^{-1}) = \frac{[\text{S}_2\text{O}_3^{2-}] \times V_{\text{S}_2\text{O}_3^{2-}}}{2 V_E} \quad (17)$$

Avec  $[\text{S}_2\text{O}_3^{2-}]$  : le titre de la solution de thiosulfate ( $\text{mol.L}^{-1}$ )

$V_{\text{S}_2\text{O}_3^{2-}}$  : le volume de thiosulfate versé (mL)

$V_E$  : le volume de solution à doser (mL)

*b. Méthode spectrophotométrique à la DPD (N,N-diéthylphénylène-1,4 diamine)*

La méthode colorimétrique à la N,N-diéthylphénylène-1,4 diamine (DPD) (méthode AFNOR n° 90-037) a été utilisée pour le dosage du chlore libre des solutions dosées de concentration comprise entre  $5 \times 10^{-7}$  M et  $4 \times 10^{-5}$  M.

Cette méthode consiste à oxyder (en milieu neutre) la DPD par le chlore en radical semi quinonique rouge. L'intensité de la couleur du composé rouge formé est alors mesurée à la longueur d'onde de 510 nm.



Pour le dosage, 250  $\mu\text{L}$  de solution tampon phosphate (pH = 6,5) puis 250  $\mu\text{L}$  du réactif à la DPD ( $1,1 \text{ g.L}^{-1}$ ) et enfin 5 mL de la solution à doser sont successivement introduits dans un pilulier. La réaction est instantanée et l'absorbance de la solution est alors mesurée immédiatement.

A partir de cette méthode, les concentrations en chlore libre sont déterminées par application de la loi de Beer Lambert :

$$A = \varepsilon l C \quad (19)$$

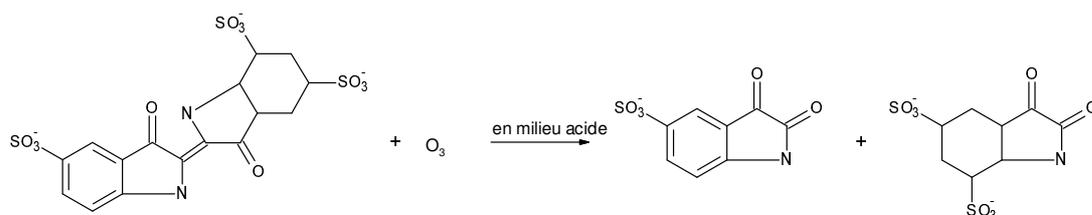
Où :

- $\varepsilon$  est le coefficient d'extinction molaire, il est déterminé expérimentalement par étalonnage préalable ( $\varepsilon = 14500 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ ).
- A est l'absorbance obtenue,
- l est le trajet optique de la cuve,

- C est la concentration en chlore libre.

### III.5.2. Dosage de l'ozone

L'ozone dissous a été dosé selon la méthode spectrophotométrique au carmin indigo thiosulfonate. En milieu acide, l'ozone attaque sélectivement et rapidement la double liaison C=C de la molécule de carmin indigo (Bader and Hoigne, 1982).



**Figure II. 8 :** Ozonation du carmin indigo

Le carmin indigo possède un coefficient d'absorption molaire à 600 nm de 20 000 L.mol<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup> alors que ses produits de dégradation n'absorbent pas à cette longueur d'onde. La dégradation du carmin indigo par l'ozone conduit alors à une diminution de l'absorbance (à 600 nm) qui varie linéairement avec la quantité d'ozone introduit dans la solution (i.e. une diminution de 0,41 ± 0,01 cm<sup>-1</sup>.mg<sup>-1</sup> O<sub>3</sub>.L est observée) (Bader and Hoigne, 1982).

Lors de l'utilisation de cette méthode, une solution mère de carmin indigo thiosulfonate de potassium (10<sup>-3</sup>M) est préparée en solution acidifiée avec 0,7 % (v/v) de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 85 % massique. A partir de cette solution, une solution de carmin indigo diluée de concentration 10<sup>-4</sup>M est préparée dans un tampon phosphate (10 g.L<sup>-1</sup> de NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> anhydre et 7g.L<sup>-1</sup> de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 85 % massique).

Pour doser l'ozone dissous, on introduit successivement dans une fiole jaugée de volume V<sub>T</sub> (10, 25 ou 50 mL) :

- V<sub>C.I</sub> mL d'une solution de carmin indigo
- V<sub>e</sub> mL d'échantillon à doser ce tel que V<sub>e</sub>=V<sub>T</sub>-V<sub>C.I</sub>

Ensuite, l'absorbance de la solution à 600 nm est mesurée après un temps de contact minimum de 10 minutes à l'obscurité. Ainsi, la concentration en ozone dissous de l'échantillon peut être déterminée à partir de la relation suivante :

$$[O]_3 (\text{mg. L}^{-1}) = \frac{V_T \Delta_{\text{absorbance}}}{0,42 V_e} \quad (20)$$

Avec  $\Delta_{\text{absorbance}}$  = absorbance du blanc de réactif – absorbance de l'échantillon (à 600 nm).

La limite de détection de cette méthode est de 2 × 10<sup>-7</sup> M.

### III.5.3. Dosage $H_2O_2$

#### a. Dosage par iodométrie

Un titrage en retour par iodométrie a été utilisé pour doser les solutions de peroxyde d'hydrogène de concentrations  $> 10^{-2}$  M. (Masschelein et Fransolet, 1977) :

Le protocole employé a consisté à introduire successivement dans un erlenmeyer :

- 10 mL de KI (0,1 M)
- 1 mL d'acide sulfurique (1N)
- $V_E$  d'échantillon (mL)
- 3 gouttes d'un catalyseur, le molybdate d'ammonium ( $30 \text{ g.L}^{-1}$ )

Après 15 minutes de réaction,  $I_3^-$  formé est dosé par une solution de thiosulfate de sodium (0,1 M ou 0,01 M).

Lors de ce dosage, les réactions observées sont les suivantes :



Les concentrations en  $H_2O_2$  dans les échantillons sont calculées par la relation suivante :

$$[H_2O_2] (\text{mol.L}^{-1}) = \frac{N_{S_2O_3^{2-}} \times V_{S_2O_3^{2-}}}{2 \times V_E} \quad (23)$$

Avec

- $V_E$  : Volume d'échantillon à doser (mL)
- $N_{S_2O_3^{2-}}$  : titre de la solution de thiosulfate de sodium (0,01 M ou 0,1 M) ;
- $V_{S_2O_3^{2-}}$  : volume de thiosulfate versé.

#### b. Méthode colorimétrique au titane

Pour des solutions de concentrations en peroxyde d'hydrogène comprises entre  $10^{-2}$  et  $10^{-5}$  M, la méthode colorimétrique au titane a été employée (Eisenberg, 1943).

Cette méthode consiste à introduire dans des fioles de 25 mL : 2 mL d'une solution de  $TiCl_4$  préparée dans  $H_2SO_4$  2N (10 mL de  $TiCl_4$  dans 1 L de  $H_2SO_4$  2N), 2 mL d'une solution d'acide sulfurique (36 N) et un volume  $V_E$  de la prise d'essai jusqu'au trait de jauge.

Dans ces conditions, la réaction suivante conduisant à la formation d'un complexe jaune est observée :



Après stabilisation de la coloration (environ 20 minutes), l'absorbance des solutions est alors mesurée à 410 nm. A partir du coefficient d'absorption molaire du complexe déterminé par étalonnage ( $\varepsilon = 695 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ ), les concentrations en  $\text{H}_2\text{O}_2$  dans les échantillons peuvent alors être calculées par la relation suivante :

$$[\text{H}_2\text{O}_2] (\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}) = \frac{\text{Abs} \times V_T}{\varepsilon \times \ell \times V_E} \quad (25)$$

Avec

- Abs: Absorbance de l'échantillon après soustraction de la valeur du blanc,
- $V_T$ : Volume totale de la fiole jaugée (mL),
- $V_E$ : Volume de la prise d'essai (mL),
- $\ell$ : Trajet optique,
- $\varepsilon$ : coefficient d'absorption molaire.

### III.6. Autres méthodes d'analyse

#### III.6.1. Carbone et azote

Les mesures de carbone total, carbone organique et azote total ont été effectuées à l'aide d'un analyseur de carbone Shimadzu (TOC-VCSH 500) et d'un analyseur d'azote total (TNM-1). Les mesures s'effectuent pour ce type d'analyseur par oxydation catalytique de l'échantillon en  $\text{CO}_2$  à température élevée. Le catalyseur est composé de platine déposé sur des billes d'alumine. La détection du  $\text{CO}_2$  formé se fait par spectrométrie infrarouge. Dans ces conditions, les mesures de carbone total sont égales à la somme des ions carbonates, bicarbonate et carbone organique total. Le carbone organique est déterminé après acidification avec  $\text{H}_3\text{PO}_4$   $2 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  puis dégazage du  $\text{CO}_2$ . La gamme de détection est de 0 à  $20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  pour les mesures de carbone et 0 à  $33 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  pour les mesures d'azote. Lors de ce travail, les analyses ont été faites avec ou sans filtration de l'échantillon sur  $0,45 \mu\text{m}$ .

#### III.6.2. Spectroscopie d'absorption UV-Visible

Les spectres d'absorption UV-Visible (entre 200 et 500 nm) et les mesures d'absorbance ont été réalisés à l'aide d'un spectrophotomètre à simple faisceau Varian Cary 50. Les cuves employées sont des cuves en quartz de trajet optique de 1 cm ou de 5 cm.

### ***III.6.3. Nitrates et nitrites***

Les ions nitrate et nitrite ont été quantifiés par chromatographie ionique avec un module Dionex ICS-3000. Les ions ont été séparés sur une colonne AS19 IonPac (19 mm × 4 mm) en mode gradient avec une phase mobile constituée d'un mélange NaOH 100 mM et eau ultra-pure. Le mélange varie en cours d'analyse de 10 à 50 % de NaOH. Le débit de la phase mobile était de 1 mL.min<sup>-1</sup>.

### ***III.6.4. pH et oxygène dissous***

Les mesures de pH ont été réalisées à l'aide d'un pH mètre Meter Lab. L'oxygène dissous a été mesuré à l'aide d'une sonde à oxygène Cellox<sup>®</sup> 325.

---

## **CHAPITRE III**

# **PHOTOLYSE : IMPACT SUR LA TOXICITÉ ET LA BIODÉGRADABILITÉ**

---

# Chapter III: Photolysis of aqueous solutions of tembotrione and sulcotrione: impact on toxicity and biodegradability

---

Abstract.....	73
I. Introduction .....	74
II. Materials and Methods .....	75
II.1. Chemical reagents.....	75
II.2. Photolysis experiments .....	76
II.3. Analytical methods .....	77
II.4. Toxicity tests.....	77
II.5. Biodegradability tests .....	78
III. Results and discussion.....	79
III.1. Kinetics of photolysis .....	79
III.1.1. Direct photolysis in pure solution.....	79
III.1.2. Irradiation in presence of nitrate.....	82
III.2. Photoproducts identification .....	83
III.3. Toxicity study .....	89
III.4. Biodegradability of photo-products .....	91
IV. Conclusions .....	93

## Photolysis of aqueous solutions of tembotrione and sulcotrione: impact on toxicity and biodegradability

---

### Abstract

Tembotrione (TBT) and sulcotrione (SCT) are two systemic herbicides of the  $\beta$ -triketones family that are mainly used for foliar application on corn in replacement for atrazine. The impact of their phototransformation under simulated solar irradiation was investigated on both toxicity and biodegradation. Kinetic studies confirmed the pH-dependence of photolysis of these two herbicides. Half-life of tembotrione and sulcotrione were respectively 2.49 h and 2.37 h at pH 2 and 112 h and 105 h at pH 9. Rates constants of HO radical with TBT of  $3.34 \pm 0.21 \times 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  and with SCT of  $4.43 \pm 0.11 \times 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  were determined in presence of nitrate. Eight different photoproducts were identified by LC-MS/MS for each pesticide. The two major by-products result from an intramolecular cyclization and a cleavage of the carbonyl functional group. Photoproducts resulting of sulfone loss and production of the photoproduct 2,2,2-trifluoroethoxy acetic acid was also observed for high irradiation time of TBT. The toxicity studies toward *Vibrio fischeri* showed continuous increase of bioluminescence inhibition during irradiation for both triketones. Finally, an increase in the biodegradability measured with the Closed Bottle Test (OECD 301D) was observed after irradiation.

**Keywords:** Tembotrione, sulcotrione, photolysis, photoproducts, toxicity, biodegradability

## I. Introduction

Since the ban of atrazine in several European countries,  $\beta$ -triketones have been introduced for post-emergence maize and are now widely used. Synthetic  $\beta$ -triketone herbicides have the 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase (HPPD) for molecule target. Their mode of action is based on an irreversible inhibition of HPPD (Dayan *et al.*, 2007; Soltani *et al.*, 2011; Sutton *et al.*, 2002).

Pesticides of the  $\beta$ -triketone family are used for foliar application on corn (Tarara *et al.*, 2009). Sulcotrione (SCT; 2-[2-Chloro-4-(methylsulfonyl)benzoyl]-1,3-cyclohexanedione) and mesotrione (2-[4-(Methylsulfonyl)-2-nitrobenzoyl]cyclohexane-1,3-dione) have been commercialized since 1994 and 2000, respectively. Tembotrione (TBT; 2-{2-Chloro-4-(methylsulfonyl)-3-[(2,2,2-trifluoroethoxy)methyl]benzoyl}-1,3-cyclohexanedione) was developed more recently (2007) for use on maize with lower application rates than other  $\beta$ -triketone herbicides (Tarara *et al.*, 2009). The presence of a trifluoroethoxy methyl chain confers a more hydrophobic character to the pesticide.

As for many pesticides,  $\beta$ -triketones have been identified in water and soil (Knauer and Hommen, 2013). In 2003, Freitas *et al.* (2004) reported contamination of a Swiss lake by sulcotrione with concentrations up to 30 ng L<sup>-1</sup>. More recently, Moschet *et al.* (2014) found concentrations around 50 ng L<sup>-1</sup> for tembotrione and 91 ng L<sup>-1</sup> for sulcotrione in different rivers in Switzerland. Few investigations concerning the persistence of tembotrione and sulcotrione have been done. The European Chemicals Agency report (ECHA) for classification and labeling classified sulcotrione as not readily biodegradable (OECD, 301 D) with half-life of 84 days in a water/sediment system (ECHA, 2011). Tembotrione also did not meet the criteria of rapid degradation because the half-life observed in a water/sediment system was 108 days (ECHA, 2013).

Exposition to sunlight significantly influences the fate of pesticides in aquatic environment (Burrows *et al.*, 2002; Harris, 1990; Mansour *et al.*, 1983). Photodegradation of  $\beta$ -triketones, especially sulcotrione and mesotrione, was already studied under simulated sunlight and artificial radiations. Several major photo-products of SCT have been identified such as the benzoic acid derivative, 2-chloro-4-mesyl benzoic acid and xanthenedione derivative (Calvayrac *et al.*, 2013; Chaabane *et al.*, 2007; Ter Halle *et al.*, 2009, 2007, 2006; Wiszniowski *et al.*, 2009). Several studies have been also carried out on the impact of photoirradiation on SCT (Ter Halle *et al.*, 2009; Wiszniowski *et al.*, 2011). Ter Halle *et al.*

(2009) found an EC<sub>50</sub> value for sulcotrione of 374 mg.L<sup>-1</sup> by using the *Vibrio fischeri* luminescence inhibition test.

To date, only one study is available in the literature about tembotrione photodegradation. Calvayrac *et al.* (2013) investigated the photodegradation of sulcotrione and tembotrione under extreme artificial conditions. Two main tembotrione photoproducts were identified (2-(2-chloro-4-methyl-3-(2,2,2-trifluoroethoxy)methyl)benzoic acid and a xanthenedione derivative. Toxicity of tembotrione and its photo-products has not been investigated on non-target microorganisms like heterotrophic marine bacteria. Also, biodegradability of photoproducts of both pesticides is not documented.

The main objective was to study the photolysis of tembotrione and to use sulcotrione as a reference compound. In this study, photo-degradation of TBT and SCT has been investigated under simulated solar irradiation ( $\lambda > 290$  nm) for high irradiation times to identify new photoproducts. The photo-products were identified by liquid chromatography and high-resolution ion trap mass spectrometry (LC-MS/MS). Additionally, bacterial toxicity of photoproducts against *Vibrio fischeri* has been followed during irradiation. Furthermore, the Closed Bottle test (OECD 301D, 1992) was used to assess biodegradability of TBT and SCT photo-transformation products.

## II. Materials and Methods

### II.1. Chemical reagents

Tembotrione, sulcotrione and other chemical reagents such as *p*-chlorobenzoic acid, *p*-nitroanisole and pyridine were purchased from Sigma Aldrich with purity higher than 99 %. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> commercial solution (30 %) was obtained from Fluka. Acetonitrile was LC grade and supplied by VWR Chemicals. The other reagents as NaNO<sub>3</sub>, KI, HCl, NaOH, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and phosphate salts were of analytical grade and used without purification.

All stock solutions were prepared in water purified with a MilliQ Millipore system. The purified water (Resistivity 18.2 MΩ cm) contained less than 0.1 mg.L<sup>-1</sup> of dissolved organic carbon. Tembotrione and sulcotrione were dissolved in pure water and the solutions were kept stirring for 24 hours before analysis and performing photolysis experiments.

## II.2. Photolysis experiments

A Suntest CPS+ solar simulator from Atlas Material Testing Solutions equipped with a 1500 W xenon lamp and a glass filter restricting the transmission of wavelengths below 290 nm was used for photolysis experiments. The lamp intensity was set to  $350 \text{ W}\cdot\text{m}^{-2}$ . Photolysis experiments were conducted in Pyrex vials containing 2 mL of the solution. Vials were laid on a plate cooled by circulation of water at  $5 \text{ }^\circ\text{C}$ . In these conditions, the temperature of the solution in vials was constant at  $30 (\pm 2) \text{ }^\circ\text{C}$ . The pH of the pesticide solutions was initially adjusted with NaOH and HCl and remained constant within  $\pm 0.2$  unit. Vials were exposed to irradiation for up to 200 hours. At different time intervals, vials were withdrawn and solution analyzed for pesticide concentrations.

Kinetic experiments of direct photolysis were performed in Milli-Q water at pH 2, 5, 7 and 9 and for initial TBT or SCT concentration of  $10 \text{ }\mu\text{M}$ . The *p*-nitroanisole-pyridine (PNA/pyr) system developed by Dulin and Mill (1982) was used for the determination of TBT and SCT quantum yields. Concentrations ratio of PNA/pyr was 1:10 to maintain a large excess of pyr over PNA (pseudo-first-order reaction). Initial concentrations of PNA and pesticides were  $10 \text{ }\mu\text{M}$ .

Indirect photolysis experiments were conducted at pH 7 in presence of  $100 \text{ }\mu\text{M}$  to  $1300 \text{ }\mu\text{M}$  nitrate. During these experiments, *p*-chlorobenzoic acid (*p*-CBA) was used as hydroxyl radical probe to quantify hydroxyl radical steady-state concentrations. The degradation of *p*-CBA is only due to the reaction with hydroxyl radicals with a second order rate constant of  $5 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$  (Buxton *et al.*, 1988).

A cylindrical jacketed double-layer glass reactor with a volume of 2 L and an annular thickness of 3.65 cm was also used to obtain large volumes of irradiated solutions for the identification of by-products, toxicity and biodegradation tests. The irradiated solution was mixed with a magnetic stirrer and was thermostated at  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  by water recirculation in the outer shell of the reactor. A Vilber Lourmat 6 W fluorescent T6M lamp located in axial position in a quartz sleeve was used for polychromatic irradiations. The experiments were performed at pH 7 with TBT or SCT initial concentrations of  $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  and for irradiation times up to 600 hours. These concentrations were chosen on the basis of the  $\text{EC}_{50}$  values determined in preliminary tests (Annexe III). The same photoproducts were observed with this reactor and the Suntest CPS+ solar simulator.

### II.3. Analytical methods

The residual TBT or SCT concentrations during irradiation experiments were determined using a high performance chromatography system equipped with an Alliance-Waters 2695 module, and a Waters 2487 UV detector. The separation was performed with a Kromasil C<sub>18</sub> column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm). The mobile phase was a 0.1 % (v/v) HCOOH acidified water / acetonitrile mixture (40/60 for TBT, 60/40 for SCT), with a 1 mL.min<sup>-1</sup> flow rate. For all samples, the injected volume was 100 μL. The UV detection was performed at 250 nm for TBT and 230 nm for SCT.

LC-MS/MS analyses were performed in order to identify the photodegradation products of TBT and SCT. A Thermo Surveyor chromatographic system (Surveyor pump and Surveyor thermostated autosampler) equipped with a Thermo surveyor diode array detector and a Thermo Deca XP MAX ion trap mass spectrometer was used. The column was a Kromasil C<sub>18</sub> column (3 mm × 250 mm, 5 μm). The injected volume was 100 μL. A flow-rate of 0.3 mL min<sup>-1</sup> was used with a linear gradient from 10 % acetonitrile / 90 % acidified water (0.1 % v/v acetic acid) to 100 % acetonitrile in 25 min, and then back to initial conditions in 1 min. Mass spectrometry was performed with electrospray ionization in both positive and negative modes. A mass range TIC of 50-600 amu was applied. An ion transfer capillary temperature of 350 °C, a sheath gas flow of 59 (arbitrary unit) and a spray voltage of 4.5 kV were used. The MS/MS analyses were carried with normalized collision energy between 25 and 40 %. The activation time was 30 ms, the Q activation parameter was at 0.25 and the isolation width was 2 amu.

### II.4. Toxicity tests

The *Vibrio fischeri* bioluminescence inhibition test was used for toxicity evaluation (NF/EN/ISO 11348-3, 1999). The 30-min median effect concentration (EC<sub>50</sub>) values were determined for TBT and SCT solutions before and after irradiation. The protocol was carried out according to the AFNOR standard method (1999). During each test, a luminometer maintained at 15 °C was used for the luminescence measurements. Lyophilized bacteria (LCK 491, Hach-Lange) stored at -20 °C were reactivated in a 2 % NaCl solution before tests. The salt concentration was adjusted to 2 % NaCl in all irradiated solutions before the bioassays. The initial and irradiated solutions of pesticides were not neutralized by using phosphate salts because we observed that phosphates strongly decreased the inhibition of bioluminescence for

TBT and SCT. It was then decided to avoid the use of phosphate salts because the interference of phosphate could be different between the parent compounds and the photoproducts. Solutions were then neutralized with 0.1M HCl or 0.1M NaOH at pH 7 before tests as recommended by the standard method.

## **II.5. Biodegradability tests**

Samples were collected during photolysis experiments at  $t = 0$ , after 50 % of degradation (83 h and 73 h of irradiations for TBT and SCT, respectively, after 100 % of degradation (350 h of irradiation for TBT and 300 h for SCT) and after 150 % of the time required for total photo-degradation of the target compounds (525 h for TBT and 450 h for SCT). Biodegradability was assessed according to an adapted version of the OECD 301D Closed Bottle Test procedure (OECD, 1992). Briefly, 1 L of a stock solution of pesticides or irradiated mixture was adjusted to a final dissolved organic concentration (DOC) of  $5 \text{ mg.L}^{-1}$  and to a pH of 7.4 to ensure results were comparable. The solution was supplemented with 1 mL of a nutrient mix solution (OECD 301D test, 1992) to favor biomass growth. The biodegradability experiments were performed in bottle tests with 50 mL of solution inoculated with 500  $\mu\text{L}$  of bacteria ( $\sim 10^9$  colony-forming units on Plate Count Agar/mL) from an activated sludge sample (collected at a municipal sewage treatment plant). The experiments were performed in the dark at constant temperature ( $25 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ ).

During the test, samples were monitored on the 0, 1<sup>st</sup>, 7<sup>th</sup>, 14<sup>th</sup>, 21<sup>th</sup> and 28<sup>th</sup> day. In addition to the studied samples, several quality control experiences were performed with sodium acetate, a readily biodegradable organic compound, as the unique organic carbon source. At least 70 % removal of DOC of this reference substance within the first 14 days of inoculation is required to validate the test. Biodegradation was confirmed by measuring the consumption of dissolved oxygen concentration with a WTW Cellox 325 oxygen electrode. The biodegradation was expressed as the percent removal of dissolved organic carbon. Dissolved organic carbon concentrations were analyzed with a Shimadzu TOC-V<sub>CSH</sub> analyzer. The biodegradation rates were calculated as  $\mu\text{g}$  of DOC degraded per liter per day.

Each test had four different series of vessels for quality controls including blanks, procedure control or toxicity control (OECD 301D) to validate the biodegradation assay. The composition of the test vessels is given in supporting information (Annexe I).

### III. Results and discussion

#### III.1. Kinetics of photolysis

##### III.1.1. Direct photolysis in pure solution

Under polychromatic radiations, the photo-degradation rate of a compound in dilute aqueous solution is given by the equation 1 (Leifer, 1988):

$$-\frac{d[C]}{dt} = \sum_{\lambda} \phi_{\lambda} I_{0,\lambda} (1 - 10^{-\varepsilon_{\lambda}[C]\ell}) \quad (1)$$

with  $\phi_{\lambda}$  is the phototransformation quantum yield (mol Einstein<sup>-1</sup>);  $\varepsilon_{\lambda}$  the molar absorption coefficient (M<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup>) at the wavelength  $\lambda$ ;  $I_{0,\lambda}$  the photon fluence rate (photons cm<sup>-2</sup>) at the wavelength  $\lambda$ ,  $[C]$  the concentration of the compound and  $\ell$  the light path length (cm).

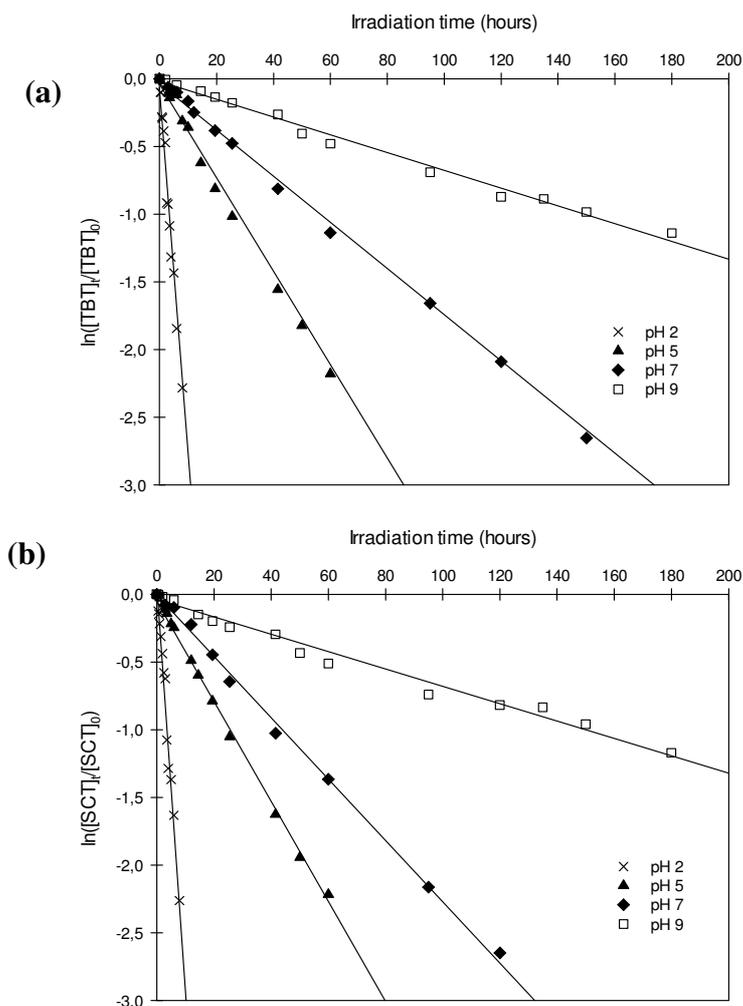
For low concentrations of pollutants, which is usually the case in natural waters, the equation (1) can be simplified in equation (2). Thus, the rate of photodegradation process is an apparent first-order kinetic law.

$$-\frac{d[C]}{dt} = 2.303 \ell [C] \sum_{\lambda} \phi_{\lambda} I_{0,\lambda} \varepsilon_{\lambda} \quad (2)$$

The integration of equation (2) gives:

$$\ln \frac{[C]_0}{[C]_t} = 2.303 \ell \sum_{\lambda} \phi_{\lambda} I_{0,\lambda} \varepsilon_{\lambda} t = k_{app} t \quad (3)$$

The validity of the first-order rate law was demonstrated by the representation of  $\ln([C]_t/[C]_0)$  as a function of the irradiation time for tembotrione (Figure 1-a) and sulcotrione (Figure 1-b) solutions at pH 2, 5, 7 and 9. The apparent first-order rate constants  $k_{app}$  were calculated for all experiments from the slope of the semi-logarithmic plot according to the equation 3. The half-life  $t_{1/2}$  was calculated as the time corresponding to 50 % degradation of pesticides i.e.  $t_{1/2} = \ln 2/k_{app}$ . The apparent first-order rate constants  $k_{app}$  and half-life are given in Table 1.



**Figure 1:** First-order plot for the photodegradation kinetics of (a) tembotrione and (b) sulcotrione at different pH in dilute aqueous solution upon irradiation with Suntest reactor.

$$[TBT]_o = [SCT]_o = 10 \mu\text{M}. \text{ Lines are linear regression.}$$

**Table 1:** First-order apparent reaction rate constants  $k_{app}$ , regression coefficient  $R^2$ , half-life  $t_{1/2}$  and quantum yields for phototransformation of TBT and SCT ( $10\mu\text{M}$ ) in Suntest reactor.

pH	Tembotrione				Sulcotrione			
	$k_{app}$ ( $\text{h}^{-1}$ )	$R^2$	$t_{1/2}$ (h)	$\phi$	$k_{app}$ ( $\text{h}^{-1}$ )	$R^2$	$t_{1/2}$ (h)	$\phi$
2	0.2782	0.986	2.5	$4.01 \times 10^{-4}$	0.2913	0.995	2.4	$3.14 \times 10^{-4}$
5	0.0349	0.993	19.8	$2.09 \times 10^{-5}$	0.0375	0.998	18.5	$2.31 \times 10^{-5}$
7	0.0195	0.994	35.5	$1.20 \times 10^{-5}$	0.0229	0.997	30.3	$1.48 \times 10^{-5}$
9	0.0062	0.994	112.1	$3.81 \times 10^{-6}$	0.0066	0.995	105.2	$4.26 \times 10^{-6}$

The results show that the photo-degradation of the two triketones was strongly pH-dependent. The degradation rate of tembotrione and sulcotrione were more important for acidic pH values and were very slow at neutral and alkaline pH. For tembotrione, the half-life varied from 2.5 hours at pH 2 to 35.5 hours at pH 7 and 112.1 hours at pH 9. A similar behavior was observed for sulcotrione, the degradation being slightly faster than for tembotrione with half-life of 2.4 hours at pH 2, 30.3 hours at pH 7 and 105.2 hours at pH 9.

This pH-dependence was in agreement with pH-dependence obtained under monochromatic irradiation at  $\lambda = 254$  nm with half-lives of 0.41 h at pH 2 and 9.16 h at pH 9 for tembotrione and half-lives from 0.33 to 5.83 hours for pH from 2 to 9 for sulcotrione (Calvayrac *et al.*, 2013). Chaabane *et al.* (2007) previously obtained similar results with irradiation of sulcotrione under a solar simulator. No significant degradation was observed at alkaline and neutral pH, while the degradation occurred at acidic pH. This result was explained by the weak acid character of TBT and SCT. The pKa values are 3.18 and 3.13 for TBT and SCT, respectively (Tarara *et al.*, 2009). The molecular form is predominant at acidic pH and is more reactive than the anionic one.

The polychromatic quantum yields  $\phi_c$  were evaluated by assuming that the quantum yield was constant within the wavelength range and by using the *p*-nitroanisole-pyridine actinometer according to the protocol and equation 4 developed by Dulin and Mill (1982).

$$\phi_c = \phi_a \left[ \frac{1}{S} \frac{\sum L_\lambda \varepsilon_\lambda^a}{\sum L_\lambda \varepsilon_\lambda^c} \right] \quad (4)$$

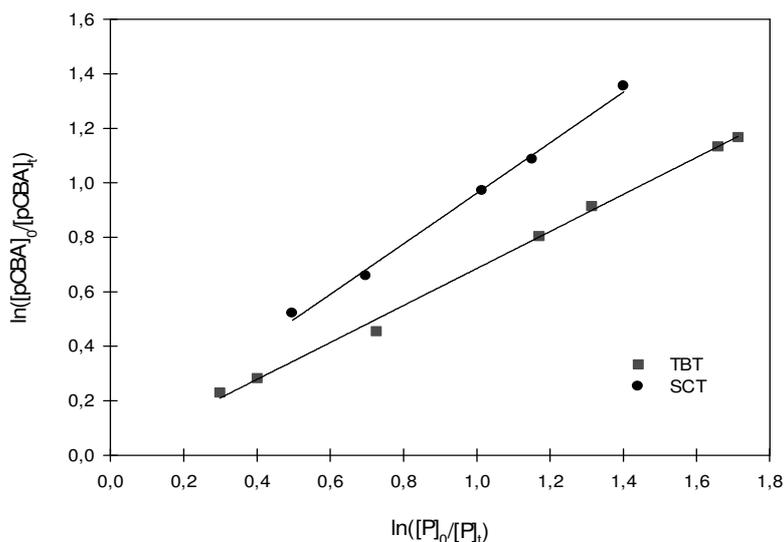
where c and a refer to chemical and actinometer,  $\phi_a$  is the quantum yield of PNA/pyr  $\phi_a = 0.44 [\text{pyr}] + 0.00028$ , S is the slope of the linear regression  $\ln(A_0/A_t)$  vs  $\ln(C_0/C_t)$ ,  $L_\lambda$  and  $\varepsilon_\lambda$  are respectively the solar irradiance and the extinction coefficient at wavelength  $\lambda$ . The polychromatic efficiency of TBT and SCT were calculated with a 1 nm-step in the wavelength range of 290-400 nm. The results are given in table 1.

The quantum yields were similar for tembotrione and sulcotrione. The trifluoroethoxymethyl group in TBT did not significantly affect the photodecomposition kinetics. The quantum yields showed the same pH dependency than transformation rates. The quantum yields were about two orders of magnitude higher at pH 2 compared to pH 9 for the two pesticides. At pH 2 and 9, respectively, they were evaluated to be  $4.01 \times 10^{-4}$  and  $3.81 \times 10^{-6}$  for TBT and  $3.14 \times 10^{-4}$  and  $4.26 \times 10^{-6}$  for SCT. The values obtained for SCT at pH 2 and 7 were found significantly lower than the photolysis quantum yields at 365 nm of  $60 \times 10^{-4}$  and

$4 \times 10^{-4}$  obtained by Ter Halle *et al.* (2006) for SCT at pH 2.5 and 6.5, respectively and using potassium ferrioxalate as a chemical actinometer.

### III.1.2. Irradiation in presence of nitrate

In natural waters, photolysis of nitrate ions is the main source of HO radical. HO radical is a very reactive and non-specific molecule that can contribute to the degradation of micropollutants (Zepp *et al.*, 1987, Draper and Crosby, 1983). HO radical was generated with the Suntest for different concentrations of nitrate from 100 to 1300  $\mu\text{M}$  in presence of *pCBA* as a molecular probe of OH radical. The rate constants of TBT or SCT with HO radical were calculated from the slope of the plot of  $\ln \frac{[P]_0}{[P]_t}$  versus  $\ln \frac{[pCBA]_0}{[pCBA]_t}$  which is also equal to  $\frac{k_{HO^\bullet/P}}{k_{HO^\bullet/pCBA}}$  (Figure 2). The rate constants for reactions of HO radical with TBT and SCT were determined to be respectively  $3.34 \pm 0.21 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$  and  $4.43 \pm 0.11 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ .



**Figure 2 :** Determination of the ratios  $k_{HO^\bullet/pCBA}/k_{HO^\bullet/P}$  for the simultaneous reaction of  $HO^\bullet$  with TBT and *pCBA*, and  $HO^\bullet$  with SCT and *pCBA*

Zepp *et al.* (1987) proposed an estimation of the nitrate-induced photooxidation rates of trace organic chemicals under a variety of environmental conditions. This estimation was done by calculating the rate and quantum efficiency for production of  $HO^\bullet$  from irradiated nitrate ions in water near the surface where rate is the maximum.

$$v_{HO^\bullet} = (2.5 \times 10^{-7})[NO_3^-] \quad (\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}) \quad (5)$$

The steady state concentration of HO radical also depends on the consumption by dissolved organic carbon represented by  $\sum_i k_i [S_i]$  (Haag and Hoigné, 1985).

$$[\text{HO}^\bullet]_{\text{ss}} = \frac{v_{\text{HO}^\bullet}}{\sum_i k_i [S_i]} \quad (6)$$

For  $\text{DOC} = 4 \text{ mg.L}^{-1}$ , the rate constant of  $\text{HO}^\bullet$  consumption was estimated to be  $10^5 \text{ s}^{-1}$  (Haag and Hoigné, 1985). Steady-state  $\text{HO}^\bullet$  concentrations from  $2.5 \times 10^{-16}$  to  $2.5 \times 10^{-15} \text{ M}$  was then calculated for concentrations of nitrate from  $0.1 \text{ mM}$  ( $6.2 \text{ mg.L}^{-1}$ ) to  $1 \text{ mM}$  ( $62 \text{ mg.L}^{-1}$ ) in surface waters. The rate constants of degradation of TBT and SCT by reaction with  $\text{HO}^\bullet$  radical can then be calculated by the equation 7 with the steady-state  $\text{HO}^\bullet$  concentrations and the rate constants of reactions of  $\text{HO}^\bullet$  with TBT and SCT determined previously.

$$k_{\text{exp/P}} = [\text{HO}^\bullet]_{\text{ss}} k_{\text{HO}^\bullet/\text{P}} \quad (7)$$

The rate constant coefficients of TBT would then vary from  $8.35 \times 10^{-7} \text{ s}^{-1}$  for  $0.1 \text{ mM}$   $\text{NO}_3^-$  to  $85 \times 10^{-7} \text{ s}^{-1}$  for  $1 \text{ mM}$   $\text{NO}_3^-$ . For SCT, the rate constant coefficient would be  $k_{\text{exp/SCT}} = 11 \times 10^{-7} \text{ s}^{-1}$  and  $111 \times 10^{-7} \text{ s}^{-1}$  for respectively  $0.1 \text{ mM}$  and  $1 \text{ mM}$ . Half lives would then vary from 2.3 to 230 hours and from 17 to 175 hours for TBT and SCT, respectively.

The effect of DOM on photolysis of TBT and SCT was not investigated in our study. As already mentioned DOM contributes to trap HO radical but it is also a source of reactive species such as singlet oxygen and excited triplet states. Ter Halle and Richard (2006) showed that Suwannee River natural organic matter sensitizes the oxidation of the triketone mesotrione. Mesotrione sensitized also the production of singlet oxygen and its oxidation was inhibited by H-donors in DOM. Rate constant of  $35 \times 10^{-7} \text{ s}^{-1}$  was found in presence of  $30 \text{ mg.L}^{-1}$  Suwannee River organic matter (SRNOM) for lamp intensity of  $750 \text{ W.m}^{-2}$  and by using the Suntest Simulator. For the same condition, the contribution of  $50 \text{ }\mu\text{M}$  nitrate was found negligible due to the quenching effect of HO radical by DOM. This rate constant is in the same range than rate constants estimated in this study for contaminated surface waters with low DOC of  $4 \text{ mg.L}^{-1}$  and nitrate concentrations ranging from 6 to  $60 \text{ mg.L}^{-1}$ .

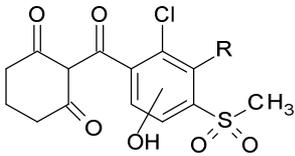
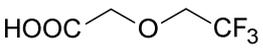
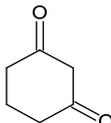
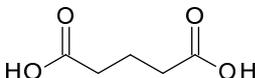
### III.2. Photoproducts identification

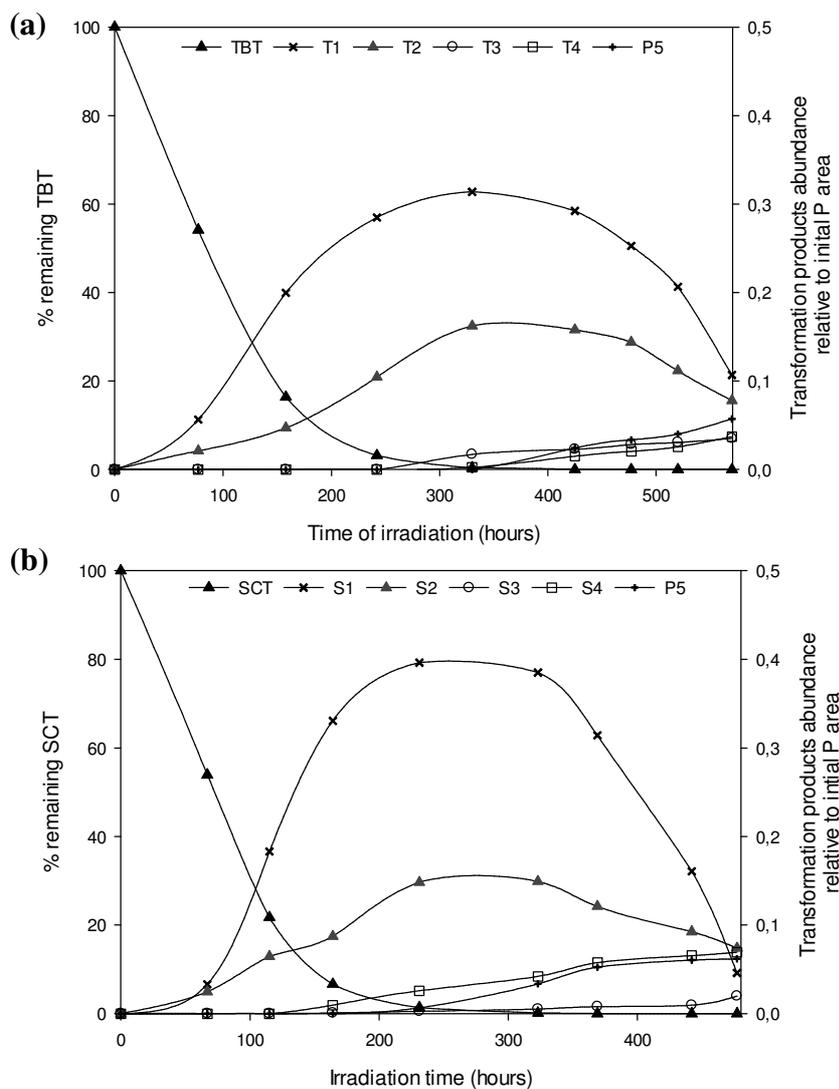
Figures 3 show the evolution of TBT (Figure 3-a) and SCT (Figure 3-b) and their photoproducts upon irradiation for reaction time up to 600 hours. More than seven photoproducts were identified for each pesticide. The overall MS and MS/MS characteristics

corresponding to TBT, SCT and the observed photoproducts are presented Table 2. More information about photoproducts identification is available in supporting information (Annexe II). Only negative ESI mode is presented because SCT, TBT and their photoproducts could not be detected in positive mode. In order to facilitate reading, a letter and a number were assigned for the photoproducts: T for TBT photoproducts, S for SCT photoproducts and P for photoproducts found for both pesticides.

**Table 2 :** *Main fragment ions obtained from MS and MS/MS analysis of TBT and SCT transformation products*

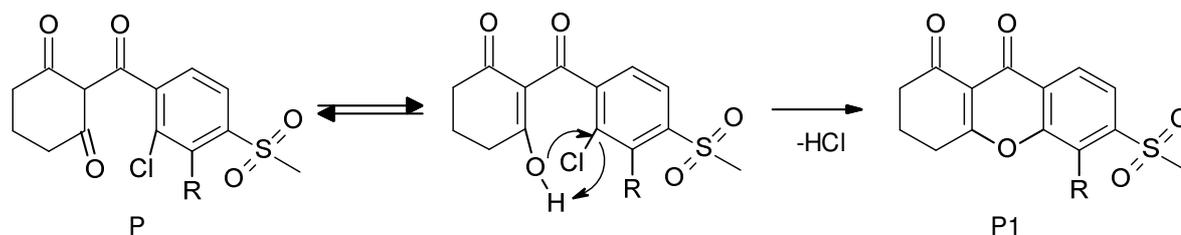
Compounds	Observed fragment ions and m/z values (relative abundance)		Proposed chemical structures	
	MS	MS/MS		
P	TBT	439 (100) ; 441 (38) ; 403 (17)	403 (100)	
	SCT	327 (100) ; 329 (30) ; 291 (10)	291 (100) ; 327 (60)	
P1	T1	403 (100) ; 404 (18) ; 345 (20)	361 (40) ; 305 (60) ; 239 (100) ; 226 (87)	
	S1	291 (100)	249 (59) ; 212 (100) ; 291 (85)	
P2	T2	345 (100) ; 347 (35) ; 235 (35)	301 (100)	
	S2	233(100) ; 189 (100) ; 190 (30)	189 (100) ; 233 (17)	
P3	T3	421 (100)	377 (100) ; 277 (60)	
	S3	309 (100)	265 (100) ; 309 (20)	
P4	T4	327 (100)	283 (30) ; 327 (20) ; 227 (20)	
	S4	215 (100)	171 (100) ; 215 (30)	
P5	T5	293 (100) ; 294 (40) ;	236 (100) ; 221 (25) ; 293 (7)	
	S5	293 (100)	236 (100) ; 221 (20) ; 293 (30)	
P6	T6	267 (100) ; 269 (30)	223 (48) ; 203 (89) ; 153 (50) ; 267 (100)	

Compounds		Observed fragment ions and m/z values (relative abundance)		Proposed chemical structures
		MS	MS/MS	
P7	T7	455 (100)	419 (100)	
	S7	343 (100) ; 345 (37)	307 (100)	
P8	T8	157 (100) ; 118 (24) ;	137 (100) ; 117 (26) ;	
CHD		111 (100) ; 112 (10)	111 (100) ; 93 (60)	
Glutaric acid		131 (100)	131 (35) ; 87 (100)	



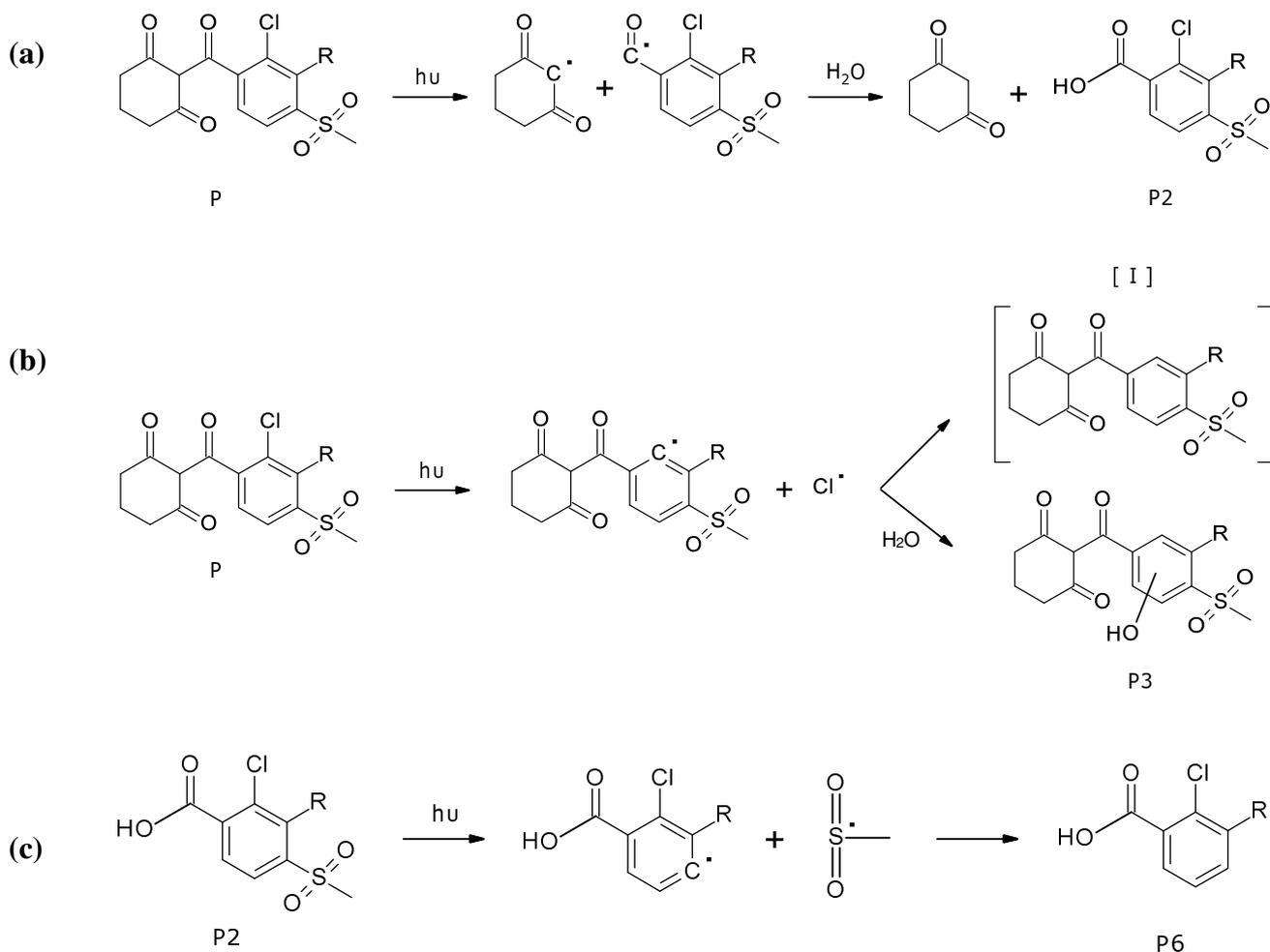
**Figure 3:** Photoproducts formation during irradiation of (a) TBT and (b) SCT

P1 and P2 were produced for the first 300 hours and then slowly disappeared for longer reaction times (Figure 3). They were the main photoproducts in relative abundance. S1 is the cyclization product 1H-xanthene-1,9-dione-3,4-dihydro-6-methylsulfonyl SCMBAs previously described during monochromatic ( $\lambda = 354$  nm, Calvayrac *et al.*, 2013) and polychromatic irradiations of SCT (Ter Halle *et al.*, 2006) but not observed during relatively high-energetic UV-B irradiation (Chaabane *et al.*, 2007). These chromone derivatives were the result of the intramolecular substitution with elimination of HCl (Figure 4). According to literature data, P2 and 1,3-cyclohexanedione (CHD) would be produced by the splitting off of the carbonyl functions as the major step of the phototransformation of triketone molecules (Chaabane *et al.*, 2007, 2005). This reaction is known as the Norrish reaction and is explained by the excitation  $^1(n\pi^*)$  of the carbonyl functional group allowing the cleavage of the bond in  $\alpha$  position of the carbonyl (Rabasso, 2011). The photoproduct P2 would then be produced by subsequent hydrolysis and/or oxidation mechanisms as shown in Figure 5-a.

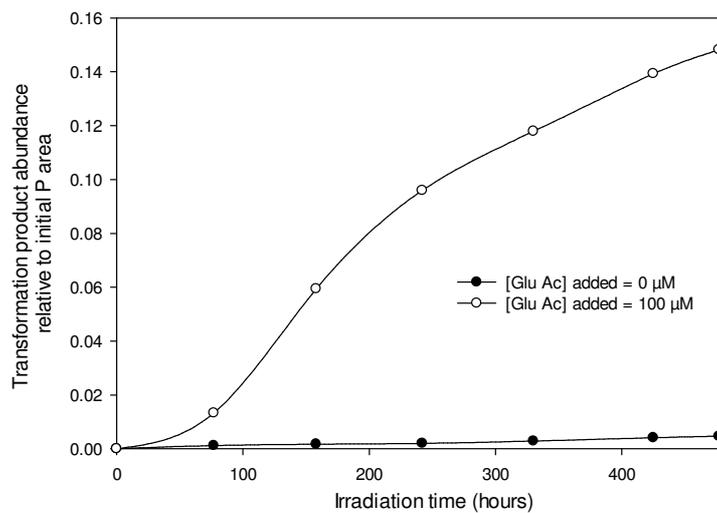


**Figure 4:** Intramolecular substitution from P to P1 (Ter Halle *et al.*, 2006)

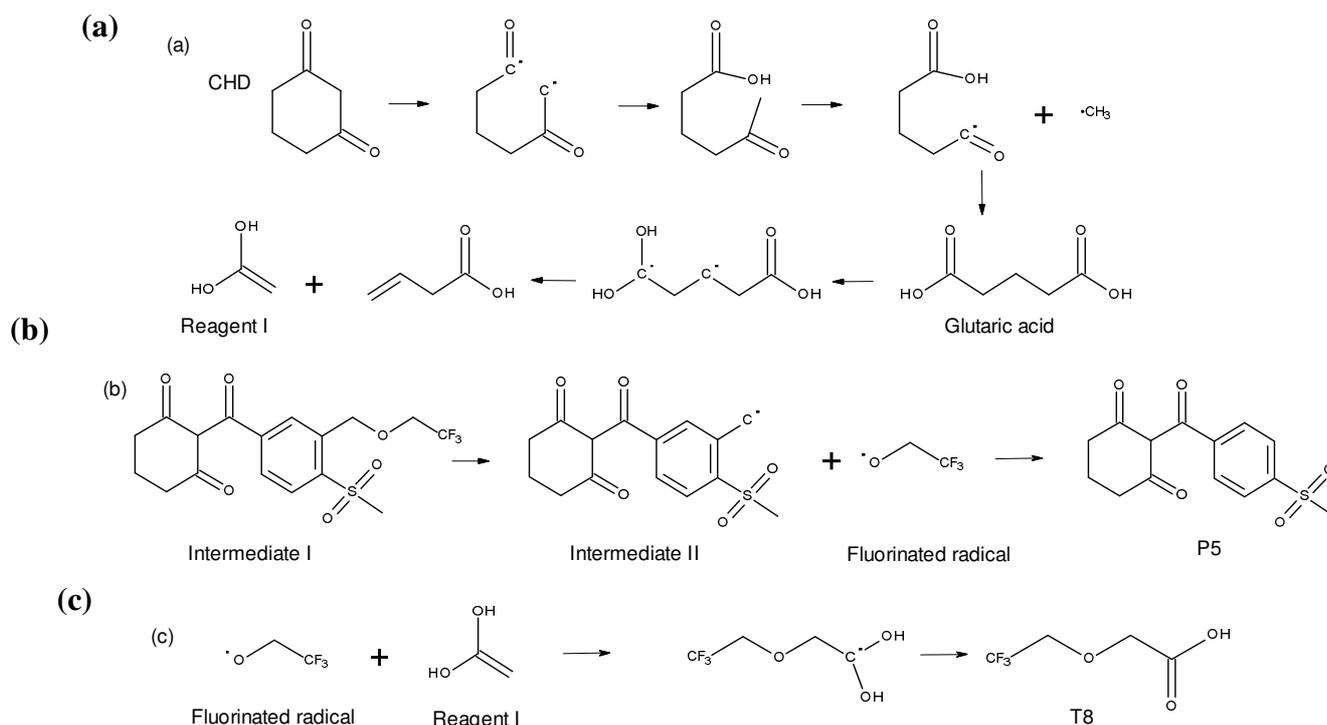
In addition to P1 and P2, 6 minor transformation products P3, P4, P6 and P7 were observed during TBT and SCT photolysis. Photoproduct P3 would result from Cl loss followed by hydroxylation (figure 5-b). For SCT, H transfer would result in the formation of the dehalogenated photoproduct S5. For TBT, the photoproduct resulting of the Cl loss was not observed but the photoproduct T5 resulting of the losses of Cl and (2,2,2-trifluoroethoxy)methyl chain was identified. The photoproduct P6 would be the consequence of sulfone loss from P2 (Figure 5-c).



**Figure 5:** Proposed mechanisms for transformation from (a) P to P2  
(b) P to P3 and (c) P2 to P6.



**Figure 6:** Evolution of T8 formation in absence and presence of 100 μM of glutaric acid  
( $[TBT]_0 = 10 \mu M$ , pH 7)

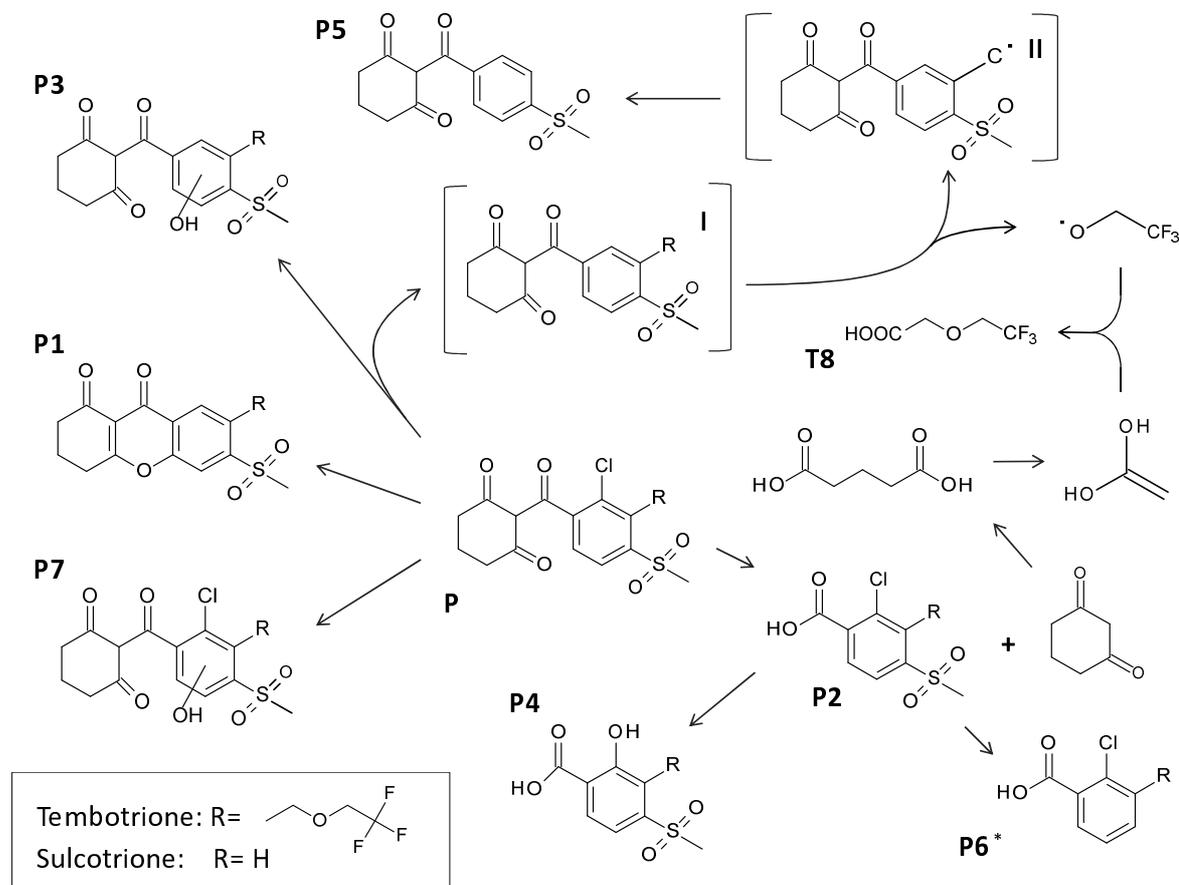


**Figure 7:** Proposed mechanisms for the formation and photodegradation of glutaric acid and the formation of T5 and T8

The photoproduct T8 produced from tembotrione was identified as the 2,2,2-trifluoroethoxyacetic acid. This compound could not be produced by the simple loss of the 2,2,2-trifluoroethoxymethyl group from tembotrione. Further experiment of tembotrione irradiation showed that the production of the photoproduct T8 was increased by a factor of 20 when 100  $\mu\text{M}$  of glutaric acid, the photoproduct of 1,3-cyclohexanedione decomposition, was added in the solution (Figure 6).

Figure 7 shows the proposed mechanism for the formation of T8 and involving glutaric acid. The first step would be the decomposition of glutaric acid into the reactive compound ethene-1,1-diol (Reagent I) and 3-butenic acid according to mechanisms proposed for dicarbonyl moieties by Wagner and Frerking Jr., (1995). The second part of the mechanism would involve the formation of a fluorinated radical by the homolytic scission of the C-O bond as shown in Figure 5 leading to the T5 photoproduct. The reaction of the fluorinated radical with the ethene-1,1-diol would then produce the photoproduct T8.

The whole reaction pathway proposed for the photolysis of TBT and SCT is shown in Figure 8.



**Figure 8:** Proposed photodegradation reaction pathway for photolysis of tembotrione and sulcotrione (\*not observed for SCT, structures proposed in brackets were not observed under our experimental conditions)

### III.3. Toxicity study

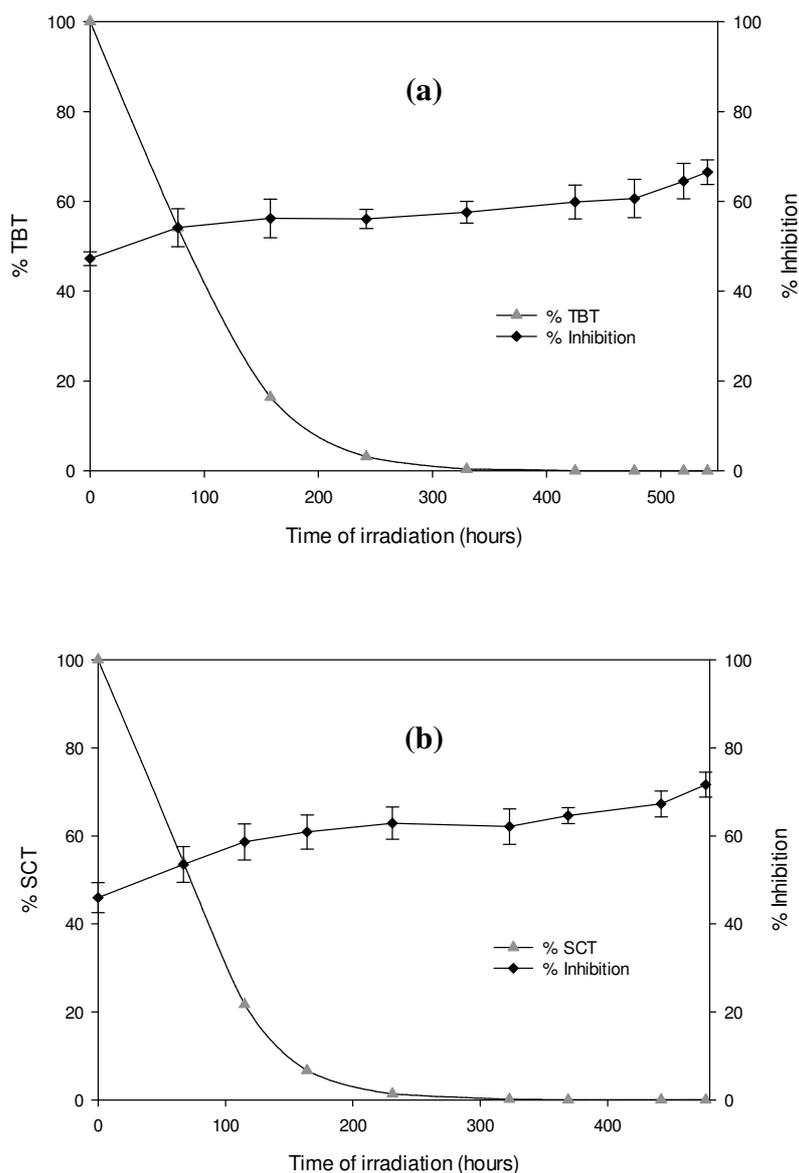
The initial EC<sub>50</sub> values obtained in this study were 9.4 and 4.5 mg.L<sup>-1</sup> respectively for TBT and SCT (Annexe III). The value obtained for SCT is much lower than 374 mg.L<sup>-1</sup> obtained by Ter Halle *et al.* (2006) and 194.6 mg.L<sup>-1</sup> by Bonnet *et al.* (2008) for SCT. This difference could be explained by the use of phosphate salts for pH adjustment in these latter works. Actually, preliminary toxicity tests showed that no luminescence inhibition was noted for a SCT concentration of 4.5 mg.L<sup>-1</sup> in the presence of phosphate. Different concentrations of phosphate could also explain the different values obtained by Ter Halle *et al.* (2006) and Bonnet *et al.* (2008). Accordingly, photolysis degradation experiments were performed with

initial concentration of pesticides of 18 mg.L<sup>-1</sup> for TBT and 9 mg.L<sup>-1</sup> for SCT without using phosphate salts to assess the toxicity pattern of photoproducts.

Under these conditions, a gradual increase in toxicity up to 60 % or 70 % luminescence inhibition respectively for TBT or SCT was shown during irradiation, while a complete degradation of both studied pesticides was observed after 250 hours (Figure 9-a and 9-b). The LC analyses showed that the major photoproducts (P1 and P2) progressively disappeared after complete degradation of TBT and SCT (Fig 3-a and 3-b). Therefore, these two major transformation products could not account for the observed increase of toxicity.

CHD and glutaric acid were both quantified by LC-MS during SCT and TBT photolysis. For TBT, after 570 hours of photodegradation, the concentrations found for CHD and glutaric acid were respectively 0.246 µM and 0.003 µM. The concentrations of degradation products were more important for SCT with 1.41 µM for CHD and 0.017 µM for glutaric acid. The determination of EC<sub>50</sub> values for both cyclohexanedione and glutaric acid was performed at pH 7 and the EC<sub>50</sub> values obtained were respectively 54.33 mg.L<sup>-1</sup> and 28.25 mg.L<sup>-1</sup>. These values are more important than the concentrations observed during photolysis. Accordingly, CHD and glutaric acid could not account for the observed toxicity during photolysis.

Other photoproducts would be responsible of the observed luminescence inhibition. These results are in agreement with Wiszniewski *et al.* (2011) which also showed an increase of the toxicity of the reaction mixture during the photo-degradation of sulcotrione. They concluded that toxicity was due to some minor not identified transformation products and that synergistic effect may explain the increase of toxicity.



**Figure 9:** Toxicity pattern for photolysis of (a) TBT and (b) SCT

### III.4. Biodegradability of photo-products

Close Bottle Tests (OECD 301D) were performed to evaluate the biodegradability of initial and irradiated solutions of TBT or SCT. The biodegradation expressed in removal percentage of dissolved organic carbon or in biodegradation rate are shown in Table 3.

After 28 days of incubation, biodegradation of the initial TBT solution was 43 %. The biodegradation increased to 53 % and 65 % after 50 % and 100 % elimination of TBT by photolysis, respectively. The maximum of biodegradation was observed for 100 % elimination of TBT by photolysis. For more than 100 % of photolysis the biodegradability

decreased to 55 %. Similar results were obtained for SCT with about 45 % of biodegradation for the initial solution of SCT after 28<sup>th</sup> day of incubation. The biodegradation rose to 61 % for 100 % disappearance of SCT after 350 h of photolysis and, as TBT, decreased for higher photolysis irradiation time of 450 h.

The initial biodegradation rates were calculated between the 1<sup>st</sup> to the 7<sup>th</sup> days and the final biodegradation rate between the 7<sup>th</sup> to the 28<sup>th</sup> day of incubation. For SCT and TBT, the results in Table 3 show that the initial biodegradation rates increased when irradiation time increased from 0 % to 100 % elimination of the molecule and then decreased for the highest irradiation time. The same observations could be drawn from the final biodegradation rates but with lower values as expected from biodegradation kinetics.

According to the OECD guidelines (301D , 1992), ready biodegradable compounds show more than 70 % DOC removal after 28 day incubation. Thus, the pesticides and their photolysis products would be classified as moderate to semi-persistent in the aquatic environment.

**Table 3:** Percentages and rate of biodegradation of tembotrione and sulcotrione solutions at different photolysis rates

Irradiation time in % of photodegradation	Percentage of Biodegradation (%)	Biodegradation Rate ( $\mu\text{g L}^{-1} \text{d}^{-1}$ )	
		j0-j7	j8-j28
TBT 0h (0 %)	43 ± 1	209 ± 7	50 ± 5
TBT 83h (50 %)	53 ± 2	250 ± 8	53 ± 4
TBT 350h (100 %)	65 ± 2	460 ± 8	45 ± 5
TBT 525h (100 %)	55 ± 2	377 ± 10	39 ± 3
SCT 0h (0 %)	45 ± 2	236 ± 8	56 ± 4
SCT 73h (50 %)	55 ± 2	307 ± 8	40 ± 4
SCT 300h (100 %)	61 ± 2	317 ± 9	50 ± 5
SCT 450h (100 %)	50 ± 2	308 ± 9	23 ± 4

The behavior of irradiated solutions highlights that photolysis increased the biodegradability of the tested pesticides. However, refractory compounds would be produced for higher irradiation time. The similar results obtained for TBT and SCT also suggest that the trifluoro-ethoxymethyl group does not impact the biodegradability of TBT.

The decrease of biodegradation for the highest irradiation time cannot be explained by an increase of the toxicity, since control experiments did not show a significant toxicity against the inoculum (results not shown). This decrease of the biodegradability may be due rather to the formation of less biodegradable photo-products with an increase of the photolysis time.

## IV. Conclusions

- The study confirmed that photo-degradation of the two  $\beta$ -triketones, tembotrione and sulcotrione under solar simulated irradiation was more effective at acidic pH.
- At pH 7 and in pure aqueous solution, half-lives of 35 hours and 30 hours were determined for respectively tembotrione and sulcotrione corresponding to quantum yields of  $1.20 \times 10^{-5}$  for TBT and  $1.48 \times 10^{-5}$  for SCT.
- The reaction rates of TBT and SCT with OH radical were determined in presence of nitrate. Values of  $3.34 \pm 0.21 \times 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  and  $4.43 \pm 0.11 \times 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  were obtained at 20 °C for TBT and SCT, respectively. Estimated half-lives values were calculated for contaminated waters by nitrate but further studies are needed to evaluate the impact of the concentration and nature of DOM for trace levels of triketones.
- A reaction pathway for the photolysis of tembotrione and sulcotrione has been proposed for high irradiation time with the formation of 8 identified by-products for each pesticide. Photoproducts such as 2,2,2-trifluoroethoxy acetic acid and chloro-benzoic acid molecule were identified as end photo-products of TBT.
- Median inhibition concentration of  $9.4 \text{ mg.L}^{-1}$  and  $4.5 \text{ mg.L}^{-1}$  were determined for TBT and SCT by using the *Vibrio fischeri* luminescence bioassay. These values were much lower than previously published values and differences were explained by the absence of phosphate in our study.
- A continuous increase of bioluminescence inhibition was observed under solar simulated irradiation for irradiation time up to 600 hours but the toxicity could not be assigned to specific identified photoproducts.

- Biodegradation experiments with the OECD Closed Bottle Test showed that both SCT and TBT were not easily biodegradable. Biodegradation increased upon irradiation until complete elimination of parent compounds but refractory photoproducts would explain the biodegradation decay observed for the highest irradiation time. For all irradiation conditions, the pesticide solution could not be classified as readily biodegradable.

---

**CHAPITRE IV**

**OXYDATION PAR LE CHLORE : ÉTUDE CINÉTIQUE**

**ET MECANISTIQUE : IDENTIFICATION DES**

**PRODUITS DE TRANSFORMATION ET TOXICITÉ**

---

# Chapter IV: Chlorination of the $\beta$ -triketones herbicides, tembotrione and sulcotrione: Kinetic and mechanistic study, transformation product identification and toxicity

---

Abstract.....	95
I. Introduction .....	96
II. Material and methods .....	97
II.1. Reagents.....	97
II.2. Chlorination experiments.....	98
II.3. Analytical methods .....	99
II.4. Toxicity tests.....	100
III. Results and discussion.....	100
III.1. Chlorination kinetics.....	100
III.2. Identification of chlorination by-products .....	105
III.3. Formation of chloroform .....	110
III.4. Proposed reaction mechanism .....	110
III.5. Toxicity evaluation .....	111
IV. Conclusion.....	113

## **Chlorination of the $\beta$ -triketones herbicides, tembotrione and sulcotrione: Kinetic and mechanistic study, transformation product identification and toxicity**

### **Abstract**

The fate of tembotrione (TBT) and sulcotrione (SCT) during chlorination was investigated in this work. Chlorination kinetics of TBT and SCT were studied in a pH range of 2-12 with an excess of total chlorine. The kinetic experiments were conducted in a continuous-flow reactor. Second-order reaction was observed and rate constants of  $9.69 (\pm 0.15) \times 10^3 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  for TBT and  $9.48 (\pm 0.62) \times 10^3 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  for SCT were obtained at pH 7. Intrinsic rate constants for the elementary reactions of chlorine species with neutral and deprotonated forms of TBT and SCT were also calculated, leading to the conclusion that the reaction between hypochlorous acid and the deprotonated form of the pesticide is predominant at neutral pH.

Several degradation products during chlorination of TBT and SCT were identified by LC-MS/MS and a reaction pathway was proposed. Chlorine initially reacts on the  $\alpha$ -carbon of the three carbonyl functional groups. This reaction initiates the well-known haloform reaction and produces chloroform as end-product. Molar yields of 0.99 mol  $\text{CHCl}_3$ /mol and 0.91 mol  $\text{CHCl}_3$ /mol were obtained for TBT and SCT, respectively at pH 7. Moreover, a toxicity evaluation using *Vibrio fischeri* was carried out to study the toxicity pattern during tembotrione and sulcotrione chlorination. An increase in toxicity was observed suggesting that the transformation products were more toxic than their respective parent compounds.

**Keywords:**  $\beta$ -triketones, tembotrione, sulcotrione, chlorination, kinetic, by-products, toxicity, chloroform

## I. Introduction

Because of their extensive use in agriculture, pesticides represent the majority of organic pollutants found in natural waters. They constitute a risk for water quality in agricultural areas since they can contaminate surface waters and groundwaters (Comoretto *et al.*, 2007; Knauer and Hommen, 2013; Kreuger, 1998; Tanabe and Kawata, 2009).

Atrazine, a triazine herbicide, was used for maize crops until 2003 and then was banned in many European countries. Therefore, new selective systemic herbicides have been developed. Among them, tembotrione (TBT) and sulcotrione (SCT), two  $\beta$ -triketone herbicides now used as substitutes of atrazine for foliar application on corn (Tarara *et al.*, 2009). They have been reported in surface waters (Freitas *et al.*, 2008, 2004; Moschet *et al.*, 2014) as a consequence of their application on soils and their relative resistance to biodegradation and phototransformation.

Pesticides, such as  $\beta$ -triketone herbicides can then be present in water resources used for drinking water production. Among treatments used for this production, ozone and/or chlorine used for disinfection can react with pesticides and generate by-products that could be more harmful than the parent compounds. Even though chlorine reacts with organic natural matter and produces different toxic disinfection by-products (DBPs) like trihalomethanes (THM), chlorine is used worldwide for disinfection of drinking water because it shows a high reactivity against many pathogens like bacterias and viruses and is sufficiently remanent to protect microbiological quality of water in the drinking water network.

In recent years, the concern about the fate of organic micropollutants during water chlorination has been growing (Deborde and von Gunten, 2008; Sedlak and von Gunten, 2011). The conclusion has emerged that there is a need to determine the rate constants of micropollutants with chlorine in order to evaluate their transformation in drinking water treatment plant (Chiron *et al.*, 2000; Li and Zhang, 2012).

To date, there have been no reported studies in the literature on chlorination of tembotrione and sulcotrione. Only few studies are available on the use of advanced oxidation processes on  $\beta$ -triketone compounds such as sulcotrione and mesotrione (Jović *et al.*, 2013; Murati *et al.*, 2012). However, similar compounds like  $\beta$ -diketones showed high reactivity with chlorine. Tachikawa *et al.* (2002) determined rate constants of  $7.60 \pm 0.67 \times 10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  for the cyclic diketone 2-chloro-5,5-dimethylcyclohexane-1,3-dione. In  $\beta$ -diketones, the enol

form is strongly stabilized by conjugation with the second carbonyl and intramolecular hydrogen bonds reinforce this stabilization. These characteristics explain the high reactivity of  $\beta$ -diketones towards chlorine. Furthermore,  $\beta$ -dicarbonyl compounds were found to be important trihalomethane and haloacetic acid (HAAs) precursors (De Laat *et al.*, 1982; Dickenson *et al.*, 2008). Molar yields at pH 8 and after 24h contact time were between 71 and 91 % mol/mol for THMs and between 5 and 68 % for HAAs depending on the nature of the  $\beta$ -dicarbonyl compounds (Dickenson *et al.*, 2008). Both THMs and HAAs accounted for 80 to 100 % of the adsorbable organic halide (AOX). However, other reactions, such as halogen oxidation, were significant during chlorination of aliphatic  $\beta$ -dicarbonyl compounds as only 40 to 50 % of the consumed chlorine were incorporated into the AOX at pH 8. Thus, the chlorination of tembotrione and sulcotrione could be expected to be fast and to produce both halogenated and oxidation transformation products.

The objectives of the present study were (i) the determination of the rate constants for the reaction of chlorine with tembotrione and sulcotrione, (ii) to identify transformation products and (iii) to assess the toxicity of the parent compounds and transformation products. The reaction rate constants were determined at different pH to calculate the intrinsic rate constants of the different pesticide forms. The reaction kinetics were studied by using a continuous flow set up. Major chlorination transformation products were identified by LC-MS/MS analyses. Volatile transformation products such as chloroform were quantified by GC-MS. The bacterial toxicity of tembotrione or sulcotrione solutions was followed during chlorination by using the *Vibrio fischeri* test for different pesticide/chlorine ratios. The results will allow to assess the behavior of these two pesticides during disinfection of drinking water. The results will also be of interest when pesticide solutions are prepared with drinking water before field applications.

## II. Material and methods

### II.1. Reagents

Tembotrione and sulcotrione were delivered by Sigma Aldrich (>99 % purity). Sodium hypochlorite solution NaOCl (13 %) was purchased from Acros Organics. Phosphate salts, sodium thiosulfate and reagents used for colorimetric determination of chlorine were of analytical grade and were supplied by Fisher Scientific and Prolabo. Acetonitrile (LC grade) was supplied by VWR Chemicals.

All solutions were prepared in purified water (Milli-Q, Millipore) with a resistivity of 18.2 M $\Omega$ .cm and dissolved organic carbon concentration < 0.1 mg.L<sup>-1</sup>. After mixing for 24 hours, stock solutions of tembotrione and sulcotrione prepared in water were filtered on 0.45  $\mu$ m membrane and the exact concentrations were determined by liquid chromatography with standards prepared in methanol. Sodium hypochlorite solution (NaOCl, 13 %, Acros Organics) was controlled daily.

## II.2. Chlorination experiments

All kinetic experiments were conducted at room temperature (20  $\pm$  2 °C) in a continuous-flow reactor with a large excess of the initial concentration of chlorine [HOCl]<sub>T,0</sub> compared to the initial concentration of pesticides P [P]<sub>T,0</sub>, where P refers to tembotrione or sulcotrione. The initial pesticide concentration was 4  $\mu$ M and the initial chlorine concentration was  $\geq$  40  $\mu$ M. The pH of the chlorine and pesticides solutions was maintained using 10 mM phosphate for pH range 2– 12. The continuous-flow reactor consisted of a dual-channel syringe pump model KDSscientific used to deliver the chlorine and pesticide solutions at the same flow rate. Two 50-mL syringes containing the chlorine solution or the pesticide solution were connected with Peek tube to a 1/16" mixing tee. The mixing tee was then connected to a 100 cm reaction tube (0.88 mm-ID Peek tube) where the reaction took place. The other extremity of the reaction tube was immersed into an HPLC vial (2 mL) containing 100  $\mu$ L of 100 g.L<sup>-1</sup> Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> solution to quench the residual concentration of chlorine. Total flow rates in the reactor varied between 1 and 100 mL min<sup>-1</sup> corresponding to reaction times between 0.3 and 32 s. Under these conditions, the pH variation was less than 0.2. Chlorine variations were less than 10 % during all the experiments. The concentrations of TBT or SCT were monitored by HPLC and UV detection for different flow rates i.e. for different reaction times.

For the identification of transformation products and toxicity evaluation, the chlorination was conducted in 50 mL glass bottle. TBT and SCT chlorination experiments were performed with concentrations of 19 mg.L<sup>-1</sup> (i.e. 43.18  $\mu$ M) and 9 mg.L<sup>-1</sup> (i.e. 27.44  $\mu$ M) respectively, at pH 7. These initial concentrations were twice the EC<sub>50</sub> values obtained by preliminary toxicity tests. The experiments were conducted in duplicate with different molar Cl<sub>2</sub>/P ratios from 0 to 2. After a 24 h contact time, chlorine was totally consumed and aliquot fractions were analyzed by LC-MS/MS. Additional samples were collected for toxicity tests.

For chloroform formation, experiments were conducted in headspace-free bottles with 1  $\mu\text{M}$   $\beta$ -triketone solution buffered with 10 mM phosphate at pH 7 and concentrations of chlorine ranging between 0.5  $\mu\text{M}$  and 5  $\mu\text{M}$ . After chlorine addition, the solutions were analyzed for THM after a reaction time of 24h.

### II.3. Analytical methods

NaOCl stock solutions were standardized by iodometry (Rodier *et al.*, 2009). Diluted solutions of chlorine were analyzed by the DPD (N,N-diethyl-p-phenylenediamine) colorimetric method (Rodier *et al.*, 2009).

During kinetic experiments, the concentrations of TBT or SCT were determined by high performance liquid chromatography using an Alliance-Waters 2695 module and a Waters 2487 UV detector. A Kromasil C<sub>18</sub> column (250 mm  $\times$  4.6 mm, 5 $\mu\text{m}$ ) was used for the separation. The mobile phase was a 0.1 % HCOOH acidified water (v/v) / acetonitrile mixture (40/60 for TBT, 60/40 for SCT,). The flow rate was 1mL.min<sup>-1</sup>. For all samples, the injected volume was 100  $\mu\text{L}$ . The UV detection was performed at 250 nm for TBT and 230 nm for SCT.

Chlorination transformation products of tembotrione and sulcotrione were analyzed and quantified by LC-MS/MS. A Thermo Scientific Q Exactive Quadrupole-Orbitrap mass spectrometer equipped with a high resolution accurate-mass Orbitrap<sup>TM</sup> detector was used. The injection volume was 20  $\mu\text{L}$  and a Kinetex C18 column (100  $\times$  3 mm, 2.6  $\mu\text{m}$ ) was used in gradient mode with a flow rate of 300  $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ . The gradient started at 5 % acetonitrile / 95 % acidified water (0.1 % v/v acetic acid) for 1 min, and then linearly increased to reach 100 % acetonitrile at 18 min. A 100 % acetonitrile mobile phase was maintained for 2 min before initial conditions were applied for a new injection. Ionization was performed in electrospray negative mode. The flow rates of auxiliary and sheath gas were 15 au and 45 au, respectively. A spray voltage of 3kV and S-less TF level of 50 was applied. The temperature of the ion transfer capillary was 350 °C and the heater temperature was 250 °C. The resolution of MS analyses was 70 000, the AGC target  $3 \times 10^6$  and the maximum time of injection was 200 ms. For all samples, a 50 to 700 amu mass range was used. For MS/MS analyses, the resolution was set at 17 500 with an isolation window of 4 amu. The collision energy was normalized between 20 to 40 % and the AGC target was  $2 \times 10^5$ .

THM concentrations were analyzed by headspace gas chromatography and mass spectrometry detection using an Agilent 7890A chromatograph equipped with a CTC CombiPal injection module and coupled to an Agilent 5975C mass spectrometer. Headspace vials (20 mL) containing 10 mL of samples were heated for 15 min at 50 °C. The volume of injection was 2.5 mL and the column was a HP-5MS (30 m × 0.25 mm; 1 µm).

## II.4. Toxicity tests

The toxicity tests towards *Vibrio fischeri* were carried out according to the standard method AFNOR NF EN ISO 11348-3 (1999). The test is based on the luminescence inhibition of *Vibrio fischeri* (NRRL B-11177). Lyophilized *Vibrio fischeri* reagent LCK 491 was purchased from Hach Lange and was stored at -20 °C. The bacteria were reactivated in a 2 % NaCl solution before tests. Luminescence measurements were carried out by using a LumisTox<sup>®</sup> 300 equipped with a bath maintained at 15 °C. Bacteria luminescence of blank control and sample solutions adjusted to 2 % NaCl was measured after 30 min of incubation. Under these conditions, the toxicity is given as the percentage inhibition. The EC<sub>50</sub> values of TBT and SCT were determined by using the same method in preliminary experiments: EC<sub>50</sub> = 9.4 mg.L<sup>-1</sup> for TBT and 4.5 mg.L<sup>-1</sup> for SCT (Annexe III).

## III. Results and discussion

### III.1. Chlorination kinetics

The initial reaction of chlorine with most of organic compounds at a given pH has been shown to be a second-order reaction, first order with respect to each reactant (Deborde and von Gunten, 2008). The assumed rate law of chlorination of the two pesticides P can then be written according to the equation 1.

$$\frac{d [P]}{dt} = -k_{app} \cdot [HOCl]_T \cdot [P]_T, \quad (1)$$

where  $k_{app}$  is the apparent second-order rate constant,  $[HOCl]_T$  is the total concentration of chlorine and  $[P]_T$  the total concentration of TBT or SCT.

The kinetics of initial chlorination of TBT and SCT were studied between pH 2 and 12 with a continuous-flow set up under experimental conditions developed for pseudo-first-order

kinetics i.e.  $[P]_{T,0} < 10 [HOCl]_{T,0}$  and  $[HOCl]_T \cong [HOCl]_{T,0}$ . Figure 1 shows, as an example, the representation of  $\ln ([P]_{T,t}/[P]_{T,0})$  versus time at three different pH for both TBT and SCT. The results demonstrate that the rate of TBT or SCT chlorination could be well linearized using a pseudo-first-order kinetic law with  $R^2 \geq 0.99$  for more than 90 % reaction time. The order of the reaction was 1 with respect to TBT or SCT and the observed first-order rate constants  $k_{obs}$  were given as the slope of the curve according to equation 3:

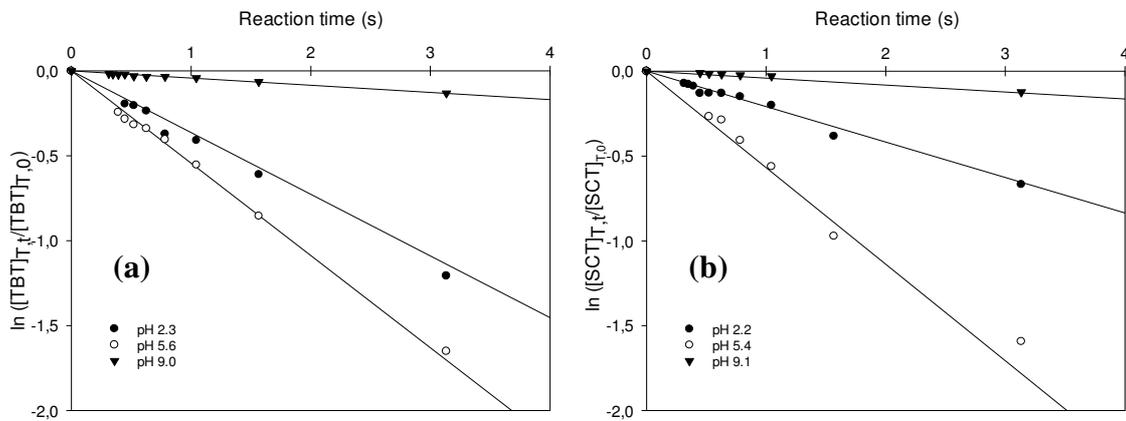
$$\frac{d[P]}{dt} = -k_{obs} \cdot [P]_T \quad (2)$$

or after integration between  $t = 0$  and  $t$

$$\ln \frac{[P]_{T,t}}{[P]_{T,0}} = -k_{obs}t \quad (3)$$

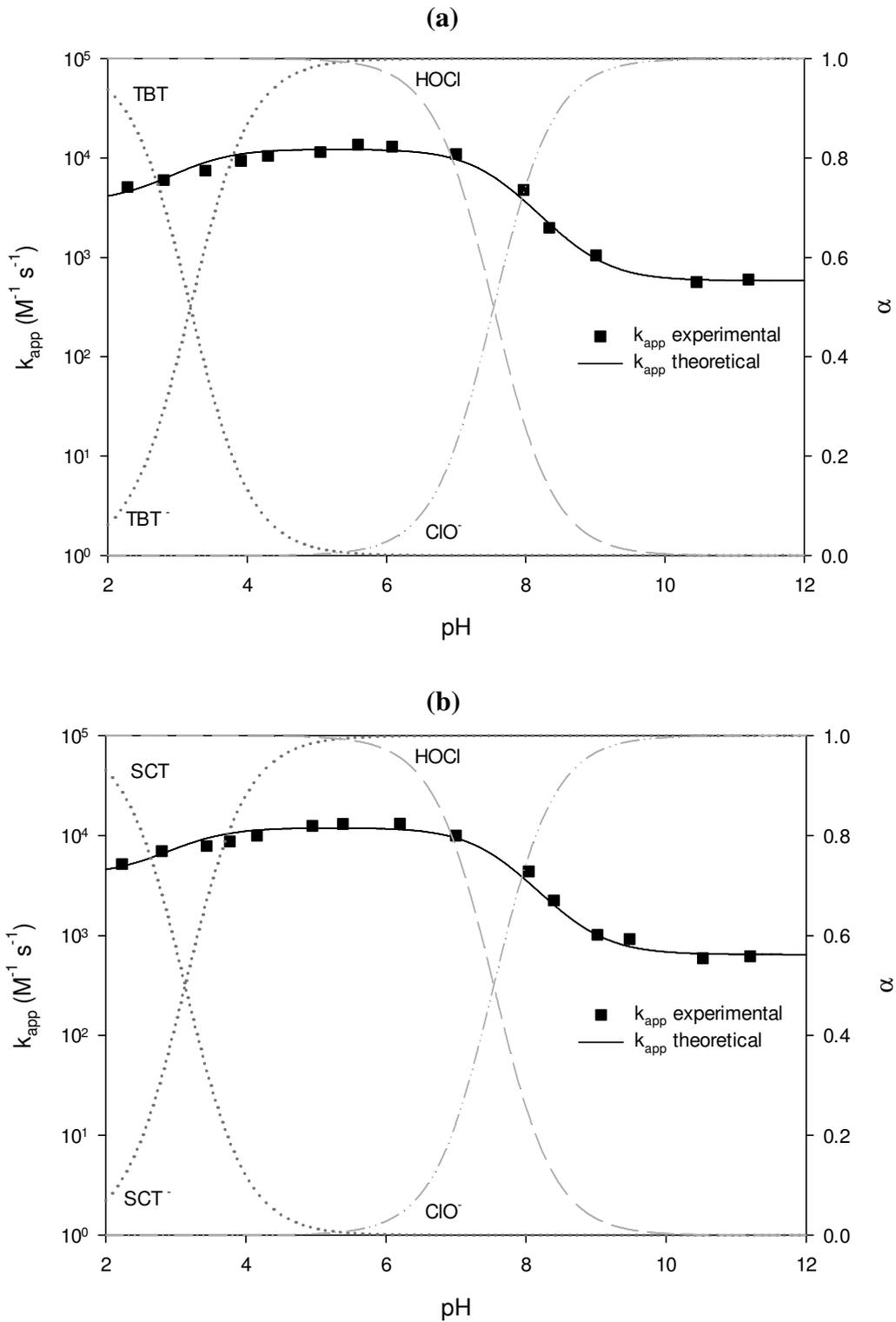
The second order rate constants  $k_{app}$  were determined for all pH values according to equation 4.

$$k_{app} = \frac{k_{obs}}{[HOCl]_{T,0}} \quad (4)$$



**Figure 1:** Pseudo-first-order kinetic plots of chlorination of (a) TBT and (b) SCT at three different pH (20 °C,  $[HOCl]_{T,0} = 40\mu M$ )

The influence of pH was investigated in the pH range 2-12 for experiments conducted with 4  $\mu M$  pesticides and 40  $\mu M$  chlorine solutions. Figure 2 shows the pH dependence of the apparent second-order rate constant  $k_{app}$ . Values are mean values from experiments conducted in duplicate or triplicate. Standard deviation was always below 5 %. The pH profiles were similar for both TBT and SCT.

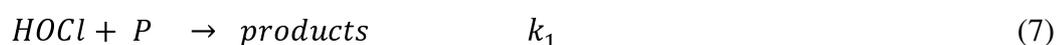
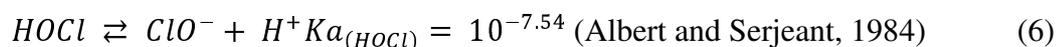
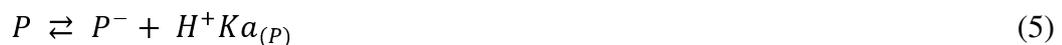


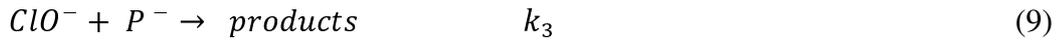
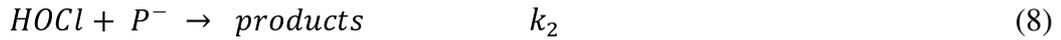
**Figure 2:** Experimental and theoretical pH-dependence profiles of the apparent second-order rate constant for the reaction of chlorine with (a) TBT and (b) SCT (Speciation of pesticides and free chlorine is also given for comparison)

The results confirmed that the initial reaction of chlorine with  $\beta$ -triketone pesticides is fast with rate constants of about  $10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$  between pH 5 and 7. The results show that  $k_{\text{app}}$  slightly increased between pH 2.5 to 4 then remained nearly constant from 4 to 7 and decreased between 7 to 10 to finally be constant for pH >10. The lowest rate constants were obtained for pH > 10 and the highest between pH 5 and 7.

The evolution of  $k_{\text{app}}$  could be explained by the speciation of pesticides and chlorine that is also presented in Figure 2. The sodium hypochlorite solution was controlled to be equimolar in both chlorine and chloride ion. Under our experimental conditions, based on the equilibrium constant values for the hydrolysis of  $\text{Cl}_2$  (Wang and Margerum, 1994), the maximum of  $\text{Cl}_2$  concentration was calculated to be very low at pH 2 (i.e  $3 \times 10^{-8} \text{ M}$ ). Thus, the reactivity of  $\text{Cl}_2$  could be considered negligible. The increase of  $k_{\text{app}}$  between pH 2 and 4 was then associated to the acid dissociation constant of the triketone pesticides with pKa of 3.18 and 3.13 for TBT and SCT, respectively (reaction 5, EFSA, 2008; Van Almsick *et al.*, 2009). The deprotonated form  $\text{P}^-$  would be more reactive than the protonated form P in agreement with the electrophilic character of HOCl. The decay of  $k_{\text{app}}$  when pH increased from 7 to 10 was explained by the lower reactivity of hypochlorite ion  $\text{ClO}^-$  compared to its conjugate acid HOCl (reaction 6). The reaction of  $\text{ClO}^-$  with organic compounds was usually found negligible (Deborde and von Gunten, 2008). However, the constant  $k_{\text{app}}$  values of  $6.08 \times 10^2 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$  and  $6.20 \times 10^2 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$  for pH >10 for TBT and SCT, respectively, suggest that the reaction of  $\text{ClO}^-$  with the deprotonated forms of the  $\beta$ -triketone pesticides was not negligible.

Finally, a kinetic model was used that considered the two acid-base equilibria of triketones (reaction 5) and chlorine (reaction 6), the reactions of HOCl with the protonated (reaction 7) and deprotonated (reaction 8)  $\beta$ -triketones and the reaction of  $\text{ClO}^-$  with the deprotonated form (reaction 9). The reactions between  $\text{ClO}^-$  and the protonated forms of ketones were not considered in first assumption because the presence of significant concentrations of both species at a same pH is not possible due to the difference between pKa of ketones and pKa of HOCl/ $\text{ClO}^-$ .





According to the above kinetic model, the initial rate of chlorination of TBT and SCT was given by the following equation:

$$-\frac{d[\text{P}]_T}{dt} = k_1[\text{HOCl}][\text{P}] + k_2[\text{HOCl}][\text{P}^-] + k_3[\text{ClO}^-][\text{P}^-] \quad (10)$$

$$\text{Or, } -\frac{d[\text{P}]_T}{dt} = [\text{HOCl}]_T[\text{P}]_T(\alpha_{\text{HOCl}}\alpha_{\text{P}}k_1 + \alpha_{\text{HOCl}}(1 - \alpha_{\text{P}})k_2 + \alpha_{\text{ClO}^-}(1 - \alpha_{\text{P}})k_3) \quad (11)$$

with  $\alpha_{\text{P}}$  is the fraction of neutral form of P,  $\alpha_{\text{HOCl}}$  and  $\alpha_{\text{ClO}^-}$  the fraction of HOCl and  $\text{ClO}^-$ , respectively.

By introducing the expressions of  $\alpha$  values as function of the acid dissociation constants and  $[\text{H}^+]$  in equation 11 and by analogy with equation 1, the expression of  $k_{\text{app}}$  as a function of pH can be written by the equation 12:

$$k_{\text{app}} = \frac{k_1[\text{H}^+]^2 + k_2K_{\text{a(P)}}[\text{H}^+] + k_3K_{\text{a(HOCl)}}K_{\text{a(P)}}}{([\text{H}^+] + K_{\text{a(P)}})([\text{H}^+] + K_{\text{a(HOCl)}})} \quad (12)$$

The values of the rate constants  $k_1$ ,  $k_2$  and  $k_3$  of the elementary reactions were determined by a non-linear least-square regression of the experimental pH profile of  $k_{\text{app}}$  values. The add-in Solver of Microsoft Excel was used in order to minimize the quadratic deviation defined as  $\sum \left( \frac{(k_{\text{app}}(\text{exp}) - (k_{\text{app}}(\text{theo}))^2}{(k_{\text{app}}(\text{exp}))^2} \right)$  where  $k_{\text{app}}(\text{exp})$  and  $k_{\text{app}}(\text{theo})$  represent the experimental and theoretical apparent second-order constant  $k_{\text{app}}$ .

The values of  $k_1$ ,  $k_2$  and  $k_3$  are given in Table 1. The rate constants of HOCl with the neutral species was about 4 times higher than the rate constants of HOCl with the deprotonated species, which is in agreement with the electrophilic character of HOCl. Similar HOCl rate constants were obtained for TBT and SCT. Thus, the trifluoroethoxy chain of TBT did not impact the chlorination reaction. For comparison, the rate constants between HOCl and deprotonated  $\beta$ -triketone species were on the same order of the rate constants of HOCl with phenolate ion (Gallard and von Gunten, 2002). However, the aromatic ring in  $\beta$ -triketone pesticide is strongly deactivated by the presence of  $-\text{Cl}$  and  $-\text{SO}_2\text{CH}_3$  substituents that are both electron-withdrawing groups (Lee *et al.*, 1998). Thus, kinetic rate constants were more in agreement with reaction on the  $\alpha$ -carbon of the triketone rather than reaction on the

aromatic ring. Indeed, the carbon in  $\alpha$ -position to the carbonyl functional group is linked to highly acidic hydrogen which could cause an instantaneous action of chlorine as observed for the two pesticides. However, the rate constants obtained in this work were two orders of magnitude lower than the rate constants determined for cyclic  $\beta$ -diketone (2-chloro-5,5-dimethylcyclohexane-1,3 dione) (Tachikawa *et al.*, 2002). By considering the Taft's constant (Perrin *et al.*, 1981), this difference in reactivity could be explained by the higher electron-withdrawing effect of the Cl substituent of 2-chloro-5,5-dimethylcyclohexane-1,3 dione compared to the carbonyl functional group of TBT and SCT. Finally, the rate constants of  $\text{ClO}^-$  are about 20 times lower than the rate constants of HOCl as expected from its lower electrophilic character.

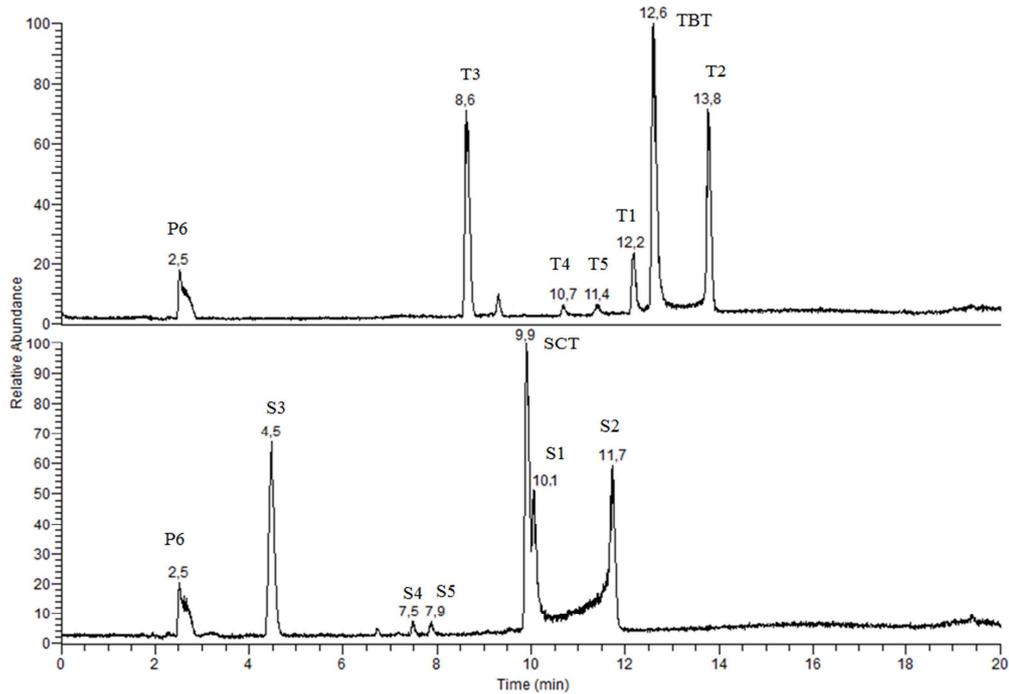
**Table 1:** Rate constants calculated for elementary reactions of TBT and SCT with HOCl and  $\text{ClO}^-$  at  $20 \pm 2$  °C

	Second order rate constants ( $\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$ )	
	Tembotrione	Sulcotrione
$k_1$	$3.62 \times 10^3$	$4.04 \times 10^3$
$k_2$	$1.23 \times 10^4$	$1.20 \times 10^4$
$k_3$	584	646

The kinetic study confirmed that the reactions between active chlorine and  $\beta$ -triketone pesticides are fast and occur within seconds. At pH 7, half-life times of tembotrione and sulcotrione will be only 2.54 s and 2.60 s, respectively for a concentration of chlorine of  $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ .

### III.2. Identification of chlorination by-products

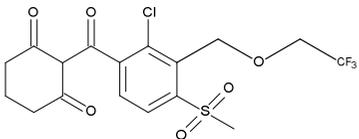
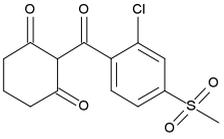
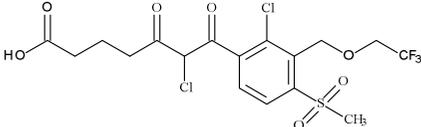
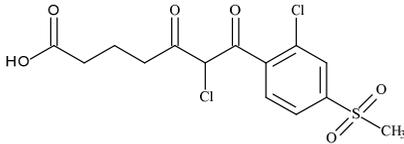
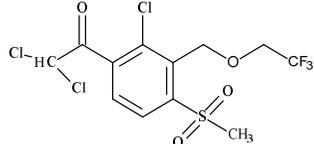
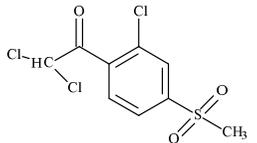
LC-MS chromatograms obtained in negative mode for chlorinated solutions of TBT and SCT at pH 7 are shown in Figure 3. Six main chlorination transformation products were observed under these conditions for both TBT and SCT. Other minor products were noted but no chemical structure was proposed for these compounds due to the low signal obtained in mass spectrometry. No transformation product was observed in positive mode.

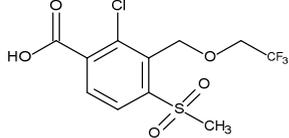
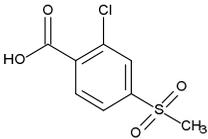
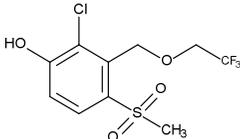
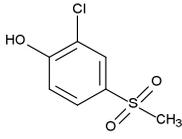
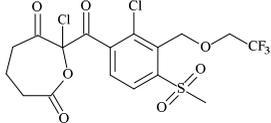
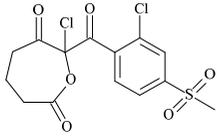
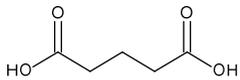


**Figure 3:** LC-MS chromatograms obtained in negative mode for TBT and SCT chlorinated solutions

The specific transformation products of tembotrione were marked by the T letter and the specific transformation products of sulcotrione by the S letter whereas the transformation products that are common for both pesticides were marked by the P letter. The MS and MS/MS characteristics together with the theoretical and experimental  $m/z$  values and the proposed molecular formula of the transformation products are presented in Table 2. More information about product identification is available in supplementary information (Annexe IV).

**Table 2 :** Mass spectrum characteristics of tembotrione (T) and sulcotrione (S) and their transformation products.

	Molecular Formula	Theoretical m/z [M - H] <sup>-</sup>	Experimental m/z [M - H] <sup>-</sup>	ppm	MS (relative abundance)	MS2 (relative abundance)	Proposed chemical structures
<b>TBT</b>	C <sub>17</sub> H <sub>16</sub> O <sub>6</sub> ClF <sub>3</sub> S	439.02245	439.02372	-2.89	<b>439</b> (100) ; 441 (32) ; 403 (45)	403 (100)	
<b>SCT</b>	C <sub>14</sub> H <sub>13</sub> O <sub>5</sub> ClS	327.01013	327.00885	3.91	<b>327</b> (100) ; 329 (30) ; 291 (42)	291 (100)	
<b>T1</b>	C <sub>17</sub> H <sub>17</sub> O <sub>7</sub> Cl <sub>2</sub> F <sub>3</sub> S	490.99404	490.99517	-2.30	<b>491</b> (100) ; 493 (61) ; 495 (12)	491 (22) ; 419 (100) ; 375 (59) ; 455 (18) ; 211 (11)	
<b>S1</b>	C <sub>14</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub> Cl <sub>2</sub> S	378.98044	378.9816	-3.06	<b>379</b> (100) ; 381 (63) ; 383 (15)	379 (10) ; 307 (77) ; 263 (100) ; 262 (70)	
<b>T2</b>	C <sub>12</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub> Cl <sub>3</sub> F <sub>3</sub> S	410.92337	410.92441	-2.53	<b>411</b> (100) ; 413 (99) ; 415 (33)	411 (80) ; 375 (55) ; 339 (70) ; 211 (100)	
<b>S2</b>	C <sub>9</sub> H <sub>7</sub> O <sub>3</sub> Cl <sub>3</sub> S	298.90977	298.9109	-3.78	<b>299</b> (100) ; 301 (99) ; 303 (35)	301 (100) ; 299 (66) ; 263 (65) ; 200 (42)	

	<b>Molecular Formula</b>	<b>Theoretical m/z [M - H]<sup>-</sup></b>	<b>Experimental m/z [M - H]<sup>-</sup></b>	<b>ppm</b>	<b>MS (relative abundance)</b>	<b>MS2 (relative abundance)</b>	<b>Proposed chemical structures</b>
<b>T3</b>	$C_{11}H_{10}O_5ClF_3S$	344.98058	344.98163	-3.04	<b>345</b> (100) ; 347 (30) ; 301 (25) ; 281 (15) ; 217 (23)	281 (10) ; 217 (82) ; 203 (100) ; 189 (42)	
<b>S3</b>	$C_8H_7O_4ClS$	232.96698	232.96765	-2.88	<b>233</b> (100) ; 235 (27) ; 189 (80)	189 (100)	
<b>T4</b>	$C_{10}H_{10}O_4ClF_3S$	316.98567	316.98669	-3.22	<b>317</b> (100) ; 319 (32)	317 (25) ; 281 (62) ; 155 (100)	
<b>S4</b>	$C_7H_7O_3ClS$	204.97207	204.9725	-2.10	<b>205</b> (100) ; 207 (33)	205 (100) ; 190 (10) ; 169 (45) ; 142 (20)	
<b>T5</b>	$C_{17}H_{15}O_7Cl_2F_3S$	488.97839	488.9794	-2.07	<b>489</b> (100) ; 491 (60) ; 492.98 (10) ; 453.00 (15)	453 (100) ; 417 (37) ; 373 (50)	
<b>S5</b>	$C_{14}H_{12}O_6Cl_2S$	376.96585	376.96479	2.81	<b>377</b> (100) ; 379 (68) ; 381 (13)	341 (41) ; 305 (57) ; 261 (100)	
<b>P6</b>	$C_5H_8O_4$	131.03389	131.03374	1.14	<b>131</b> (100)	131 (20) ; 113 (7) ; 87 (100)	

The MS spectra of products T1 and S1 showed a deprotonated molecular ion at  $m/z$  491 (T1) and 379 (S1). Therefore, the nominal masses were 492 Da for T1 and 380 Da for S1. For these two products, an isotopic distribution typical of the presence of two chlorine atoms was observed. In the MS/MS fragmentation, two main fragments at  $m/z$  419 (-72) and 375 (-72+44) for T1 or at  $m/z$  307 (-72) and 363 (-72+44) for S1, corresponding to 2 Cl and CO<sub>2</sub> loss were observed. Thus, structures of products T1 and S1 would be chlorinated pesticides at the  $\alpha$ -carbon of  $\beta$ -diketone which also results in the ring opening of the cyclohexadione.

The nominal masses of products T2 and S2 were 412 Da and 300 Da, respectively according to the deprotonated molecular ion observed. The isotopic distribution of the molecular ions indicates the presence of three chlorine atoms. Moreover, one or two Cl loss was noted during MS/MS analyses. Consequently, the structures of products T2 and S2 would be produced from an additional chlorine substitution on  $\alpha$ -carbon of  $\beta$ -diketone of T1 and S1 with the subsequent loss of glutaric acid.

The respective MS spectra of products T3, S3 and T4, and S4 showed nominal masses of 346 Da for T3, 233 Da for S3, 318 Da for T4 and 206 Da for S4. For all these by-products, an isotopic distribution of the molecular ion typical of the presence of one chlorine atom was observed. A mass loss of 94 was observed for products T3 and S3 compared to the mass of their respective parents TBT and SCT. Moreover, fragment ions at  $m/z$  301 (-44) and  $m/z$  199 (-44) for T3 and S3 respectively, are observed in MS or MS/MS analyses which confirmed the presence of a carboxylic acid function. Accordingly, chemical structures presented in Table 2 were proposed for these compounds. In the case of T4 and S4, a -28 mass difference was noted between the molecular ions of these products and T3 or S3. Moreover, no carboxylic acid function loss is observed in MS/MS analyses. Thus, it can be suggested that carboxylic group in T3 and S3 were replaced by hydroxyl group in T4 and S4.

Two molecular ion peaks at  $m/z$  489 and 377 were observed for T5 and S5, respectively. Considering the isotopic ratio for the molecular ions, the presence of two chlorine atoms is expected. For these compounds, the MS/MS fragmentation showed a mass loss of -36, -72, and -(72 + 44) which could correspond to successive Cl and CO<sub>2</sub> loss. According to the theoretical chemical structure found with a quite good absolute mass accuracy the chemical structure shown in table 2 was thus suggested.

The product P6 was the same for both tembotrione and sulcotrione. The MS spectrum showed a molecular ion at  $m/z$  131.0 with a loss of -44 or -18 corresponding to  $\text{CO}_2$  or  $\text{H}_2\text{O}$  loss. The injection of a pure standard solution confirmed the glutaric acid structure for P6.

### III.3. Formation of chloroform

Formation of chloroform from chlorination of 1  $\mu\text{M}$  tembotrione or sulcotrione solutions at pH 7 was confirmed by headspace-GC/MS analysis. For 5  $\mu\text{M}$  chlorine dose, 0.99  $\mu\text{M}$  and 0.91  $\mu\text{M}$  of  $\text{CHCl}_3$  were formed for tembotrione and sulcotrione chlorination, respectively. Thus, molar yields for chloroform formation were close to 1 for both tembotrione and sulcotrione. These molar yields are similar to molar yield of 0.95 obtained for resorcinol, a  $\beta$ -diketone like compound (Gallard and von Gunten, 2002) and molar yields  $> 0.83$  obtained for aliphatic  $\beta$ -dicarbonyl compounds like 4,6-dioxoheptanoic acid, 5,7-dioxooctanoic acid and 3-oxohexanedioic acid (Dickenson *et al.*, 2008).

### III.4. Proposed reaction mechanism

Figure 4 shows the proposed reaction mechanism for the chlorination of both pesticides. Fast rate constant of initial chlorination of  $\beta$ -triketone pesticides and proposed structures are in agreement with first chlorine substitution on  $\alpha$  position to the carbonyl functional group leading to T1 or S1 followed almost simultaneously by cyclohexanedione ring cleavage. The second and third chlorine substitution on the same carbon produces successively the Intermediate I, T2 or S2 products with release of glutaric acid, the Intermediate II and then chloroform after hydrolysis. The hydrolysis results in chloroform formation and benzoic acid derivatives: T3 i.e. 2-(2-chloro-4-mesyl-3-(2,2,2-trifluoroethoxy)methyl)benzoic acid in the case of tembotrione and S3 i.e. 2-chloro-4-mesyl benzoic acid in the case of sulcotrione. The proposed mechanism is similar to the halogenation of the  $\alpha$ -methyl ketones and known as the haloform reaction (Morris, 1978). Products T4 or S4 would be produce from oxidation reaction with chlorine leading to an oxidative decarboxylation of T3 or S3. Finally, in the case of products T5 or S5 formation, an intramolecular cyclization could be proposed.

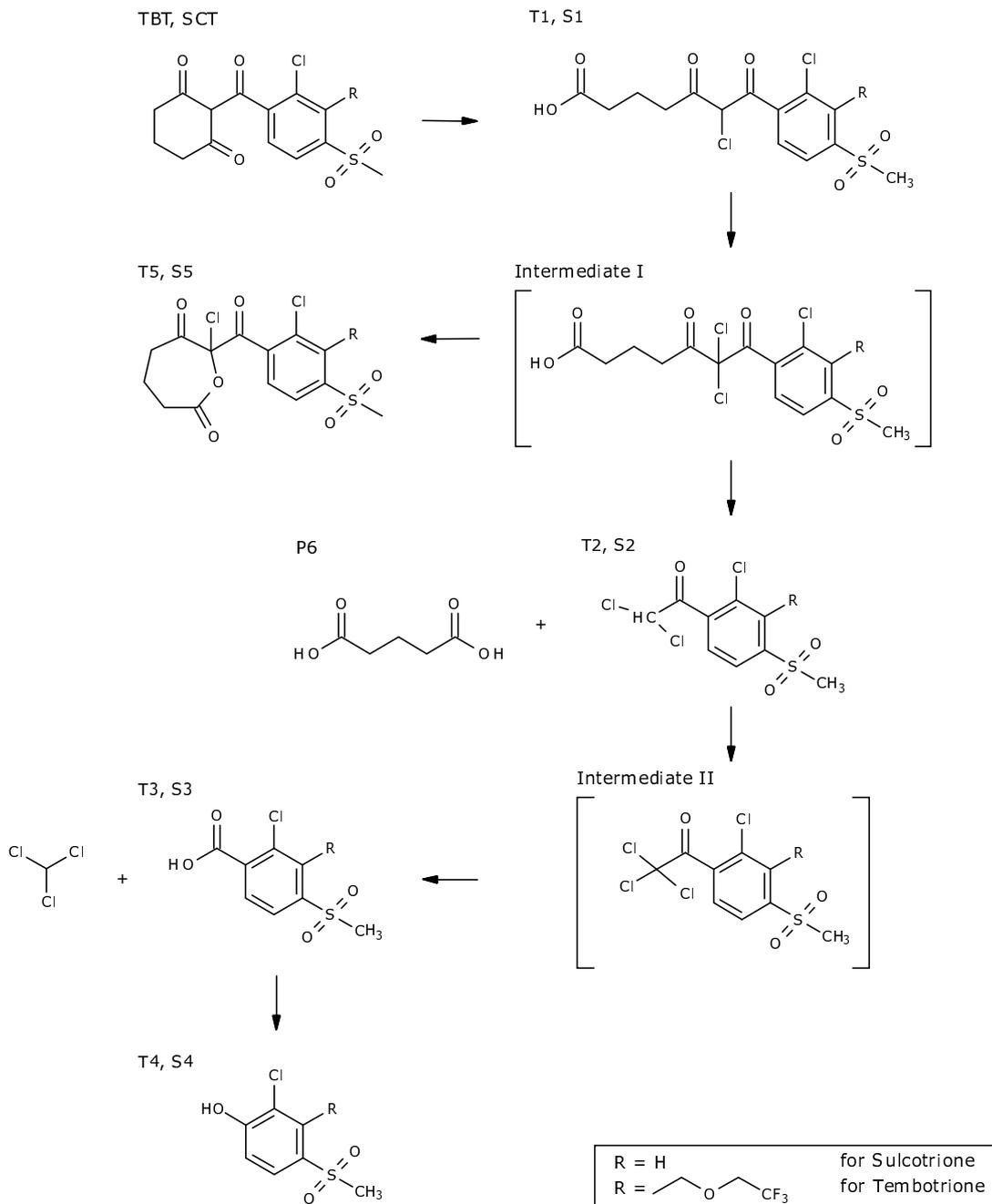


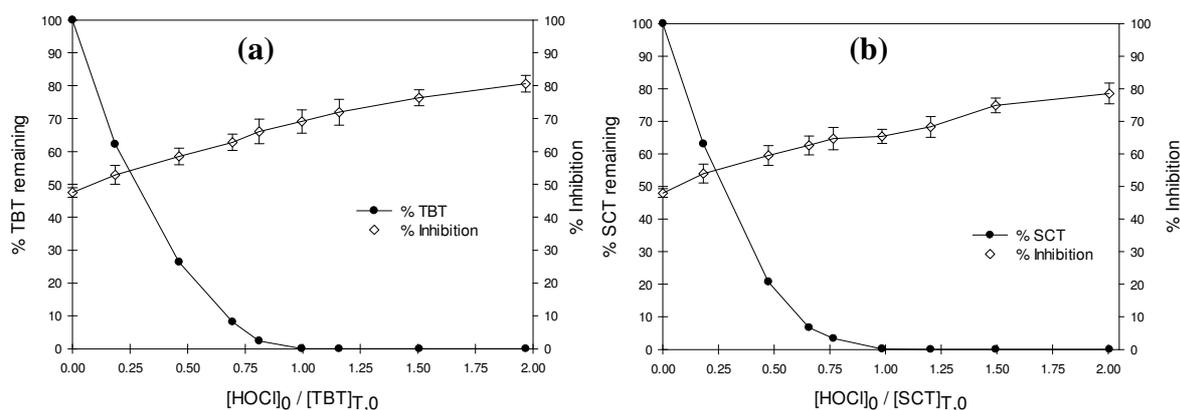
Figure 4 : Proposed mechanism for the chlorination of TBT and SCT with chlorine

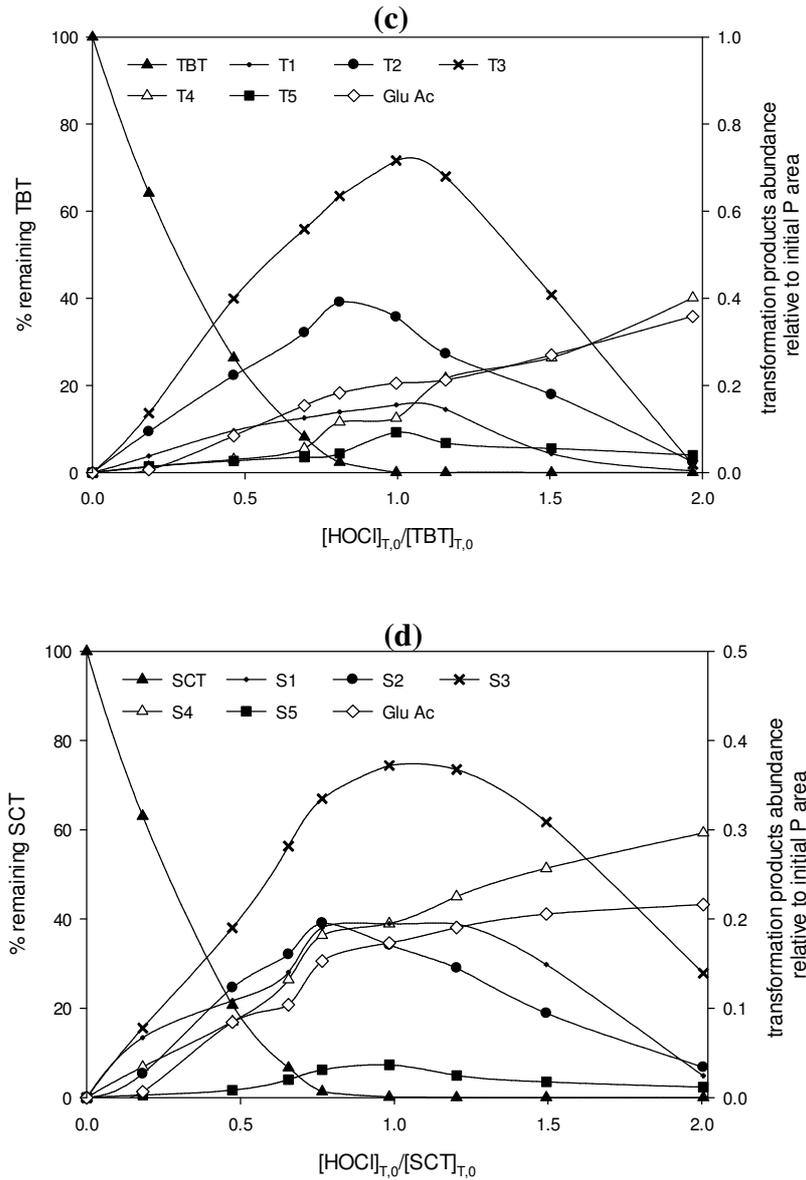
### III.5. Toxicity evaluation

The evaluation of toxicity was conducted for different chlorine doses at pH 7 and in absence of phosphate salts because they were found to interfere on the *Vibrio fischeri* tests.

Figure 5 shows the percentage inhibition of pesticide solutions for tembotrione (Fig. 5-a) and sulcotrione (Fig. 5-b) for chlorine doses from 0 to 2 mol/mol. For comparison and discussion of toxicity pattern, the evolution of the transformation products determined by LC-MS/MS analysis and expressed by their relative abundance to the parent compound area was given in figure 5-c for tembotrione and 5-d for sulcotrione. For both pesticides, the results show that the percentage inhibition increased gradually with chlorine doses from 50 % for the initial solution to 80 % for a molar ratio of 2 whereas the parent compounds completely disappeared for a molar ratio of 1.

Figure 5-c and 5-d shows that, for the same molar ratios, products T1, T2, T3, T5 and S1, S2, S3, S5 were produced for molar ratios < 1 and fully degraded for molar ratios between 1 and 2. Thus, the haloform reaction readily proceeded to completion even for molar ratios < 2 because of the acidifying effect of the chlorine substituents. Results also showed that these products would not be responsible of the observed evolution of toxicity. Only T4 or S4, glutaric acid (P6) and chloroform (results not shown) had profiles similar to toxicity evolution and would explain the observed results. However, the maximum concentrations observed for glutaric acid (P6) and chloroform were  $0.298 \text{ mg.L}^{-1}$  and  $0.205 \text{ mg.L}^{-1}$ , respectively for molar ratio = 2. The concentrations are significantly lower than the  $EC_{50}$  values obtained for glutaric acid ( $28.25 \text{ mg.L}^{-1}$ ; this work) or for chloroform (i.e  $971 \text{ mg.L}^{-1}$ ; Kaiser and Palabrica, 1991). Therefore, only the formation of T4 or S4 or other minorproducts not quantified and identified might also explain the increase of luminescence inhibition.





**Figure 5:** Products and toxicity patterns during (a;c) TBT and (b;d) SCT chlorination with different doses of chlorine (pH 7)

## IV. Conclusion

The chlorination of tembotrione and sulcotrione was studied in pure water in the 2 – 12 pH range at 20 °C. Under these conditions, a second order reaction was observed, first-order relative to P concentration (TBT or SCT) and first-order relative to free chlorine concentration. Apparent rate constants were determined and were pH dependent. A different reactivity with chlorine was observed whether the tembotrione and sulcotrione are in their neutral or deprotonated form. Elementary reactions were proposed and the intrinsic constants

of each reaction were calculated. They were shown to be more important for the deprotonated form of P with HOCl ( $1.23 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  for tembotrione and  $1.20 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  for sulcotrione). At pH 7, rate constants around  $9.69 (\pm 0.15) \times 10^3 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  for TBT and  $9.48 (\pm 0.62) \times 10^3 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  for SCT can be expected. From these kinetic results, the behavior of tembotrione and sulcotrione during chlorination can be estimated if all interferences due to the water matrix are neglected. For residual chlorine of  $1 \text{ mg.L}^{-1}$  half-life times of 2.11 s for tembotrione and 2.47 s for sulcotrione are expected. Both tembotrione and sulcotrione can be described as THM precursors because of their high yields of chloroform. Transformation products formation during chlorination was investigated and 6 major transformation products were identified for both TBT and SCT. Finally, an increase in toxicity was observed during chlorination probably due to the formation of one major product identified and/or some minor transformation products (more toxic than TBT and SCT) not quantified.

---

**CHAPITRE V**

**OXYDATION PAR L'OZONE : ÉTUDE CINÉTIQUE,  
PRODUITS DE TRANSFORMATION, TOXICITÉ ET  
BIODÉGRADABILITÉ**

---

# Chapre V: Ozonation of two pesticides, tembotrione and sulcotrione: Kinetic study, transformation products, toxicity and biodegradability

---

Abstract.....	115
I. Introduction.....	116
II. Materials and Methods.....	117
II.1. Chemicals .....	117
II.2. Ozonation experiments.....	118
II.2.1. Kinetic Study.....	118
II.2.2. Transformation products identification, toxicity studies.....	119
II.2.3. Biodegradability tests.....	119
II.3. Analytical methods.....	119
II.4. Toxicity tests .....	120
II.5. Biodegradability .....	121
III. Results and discussion .....	121
III.1. Kinetic study.....	121
III.1.1. Apparent rate constant for the reaction of ozone with TBT and SCT .....	121
III.1.2. pH dependence profile and rate constants of elementary reactions .....	122
III.1.3. Modeling ozonation of TBT and SCT in natural waters.....	125
III.2. Ozonation products identification .....	127
III.3. Toxicity evaluation.....	132
III.4. Biodegradability .....	134
IV. Conclusion .....	136

## **Ozonation of two pesticides, tembotrione and sulcotrione: Kinetic study, transformation products, toxicity and biodegradability**

### **Abstract**

The main objective of this work was to study the degradation by ozone of two triketone herbicides, tembotrione (TBT) and sulcotrione (SCT). The second-order-rate constants for the direct molecular ozone reactions with TBT and SCT were determined using the competitive kinetic method and the influence of pH was investigated for a range of 2 - 12. Under these conditions, the rate constants were  $2.38 \pm (0.13) \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  and  $1.67 \pm (0.11) \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ , at pH 7 and 20 °C for tembotrione and sulcotrione respectively. These constants were used to assess ozonation potential for the oxidation of TBT and SCT. According to these results it can be assumed that both tembotrione and sulcotrione are completely degraded by molecular ozone during ozonation of water and hydroxyl radicals had no significant impact under real water conditions. In addition, the major ozonation transformation products were identified by LC-MS/MS analyses and toxicity evaluation against *Vibrio fischeri* was performed using a LumisTox<sup>®</sup> device. The results showed a low decrease in toxicity during ozonation for both compounds, with a residual activity even after degradation of the major by-products observed. The formation of other transformation products, not identified in this work, could be responsible for the observed residual toxicity. Finally, the Closed Bottle Test (OECD 301D) was applied to assess the biodegradability pattern during ozonation. It was shown that the biodegradation increased with the ozone doses applied for both TBT and SCT mixtures. The ozonation transformation products seem to be more biodegradable than their parent molecules.

**Keywords:** tembotrione, sulcotrione, ozonation, kinetic, by-product, toxicity, biodegradability

## I. Introduction

In recent years, the concern about water quality has been growing, and pollutant removal in water has become a priority. Concerning pesticides, the major sources contributing to this pollution includes surface run-off from agricultural land, domestic usage and industrial waste (Bedding *et al.*, 1982).

The widespread occurrence of pesticides in surface waters may pose a problem to water utilities since surface water is widely used for drinking water production. Chemical oxidation technologies can be used during water treatment (Chiron *et al.*, 2000). Several oxidative systems are currently used as chlorine, ozone, Fenton, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> etc... Among these oxidants, ozone is a highly efficient agent for the purification of surface and drinking water (Huber *et al.*, 2003). Ozone is very reactive toward most organic pollutants and can induce several transformation products. Some of them are assimilable for bacteria (i.e AOC: Assimilable Organic Carbon) and increase bacterial regrowth in water distribution systems (Huang *et al.*, 2005; Richardson *et al.*, 1999). Thus, ozonation process usually increases the biodegradability of organic pollutants (Takanashi *et al.*, 2002; Treguer *et al.*, 2010; Tripathi *et al.*, 2011).

Tembotrione (TBT) and sulcotrione (SCT) are two systemic  $\beta$ -triketone herbicides used for post emergence application on corn (Tarara *et al.*, 2009).  $\beta$ -triketones belong to a recent herbicide family used for foliar application on weeds. They have been developed in replacement of atrazine that has been banned in several European countries since 2003. TBT and SCT are inhibitors of the 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase (HPPD) (Dayan *et al.*, 2007; Soltani *et al.*, 2011; Sutton *et al.*, 2002).

After application on plant, these herbicides can reach surface water and have been detected with concentrations up to 50 ng L<sup>-1</sup> for tembotrione and 91 ng L<sup>-1</sup> for sulcotrione in several Swiss lakes (Freitas *et al.*, 2004; Knauer and Hommen, 2013; Moschet *et al.*, 2014). Photolysis mechanisms of tembotrione and sulcotrione in water has been recently reported in the literature (Calvayrac *et al.*, 2013; Chaabane *et al.*, 2008, 2007; Ter Halle *et al.*, 2009; Wiszniowski *et al.*, 2009). The potential toxicity of sulcotrione and its photoproducts toward *Vibrio fischeri* and *Tetrahymena pyriformis* has been assessed by several authors (Bonnet *et al.*, 2008; Ter Halle *et al.*, 2009; Wiszniowski *et al.*, 2009).

Similarly, in 2012, Murati *et al.* studied the kinetic of degradation of two triketone herbicides, mesotrione and sulcotrione, by the electro-Fenton process. In this work, the

authors identified similar major transformation products to those observed during photodegradation. Later, Jović *et al.* (2013) also investigated the fate of these two herbicides under several advanced oxidation processes: ozonation, photocatalysis, Fenton reagent and dielectric barrier discharge (DBD). Similarities between degradation mechanism of ozonation and DBD were thus noted. Several transformation products were identified and no major differences between mesotrione and sulcotrione degradation products were found. Toxicity tests after degradation processes showed no toxicity toward *A. salina*.

The aim of this study was to assess the ozone potential for the oxidation of two pesticides belonging to the  $\beta$ -triketone family, tembotrione and sulcotrione. The competitive kinetic method was applied for rate constant determination and different pH were investigated. Moreover, the main transformation products were identified by LC-MS/MS analyses. Finally, the toxicity evaluation toward a marine bacteria *Vibrio fischeri* was conducted for different ozone concentrations at pH 7 with a LumisTox<sup>®</sup> device. Furthermore, a biodegradability test (the Closed Bottle Test, OECD - 301D, 1992) was performed in order to investigate the ability of ozonation steps to increase the biodegradability.

## II. Materials and Methods

### II.1. Chemicals

Tembotrione and sulcotrione, with purity higher than 99 % were supplied by Sigma Aldrich. The reagents such as H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, KI, HCl, NaOH and phosphate salts were of analytical grade and used without any further purification. Acetonitrile was purchased from VWR chemicals and was LC grade. All solutions were prepared in purified water. The water is purified with a MilliQ Millipore system, and has a resistivity of 28.2 M $\Omega$ .cm, with less than 0.1 mg.L<sup>-1</sup> of dissolved organic carbon. Tembotrione and sulcotrione stock solutions were prepared in purified water after 24 hours of stirring.

A Trailigaz generator was used for the production of ozone from oxygen, with a power of 75 W. Ozone stock solutions used for the kinetic ozonation experiments were prepared by bubbling ozone in unbuffered purified water in a semi-continuous reactor (1.5 L). The dissolved O<sub>3</sub> concentrations obtained under these conditions were about 11 - 15 mg O<sub>3</sub>.L<sup>-1</sup>.

## II.2. Ozonation experiments

### II.2.1. Kinetic Study

Due to the high ozone reactivity with TBT and SCT, the competitive kinetic method was used for the rate constant determination. Carbamazepine (CBZ) was chosen as a competitor since similar rate constants with ozone were observed ( $k_{O_3/CBZ} = 7.81 (\pm 1.31) \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$  for a pH range of 2-12, Andreozzi *et al.*, (2002)). Experiments were carried out in batch reactors containing 50 mL of equimolar (5  $\mu\text{M}$ ) target compound (TBT or SCT) and competitor (CBZ) solution adjusted to the desired pH using phosphate salts, HCl or NaOH. Tert-butanol was used as  $\text{HO}^\bullet$  radical scavenger. The concentration of ter-butanol used was 2.5 mM, and was calculated in agreement with the following equation:

$$k_{\text{HO}^\bullet/\text{terb}} \times [\text{terb}] > 50 \times (k_{\text{HO}^\bullet/\text{CBZ}} \times [\text{CBZ}] + k_{\text{HO}^\bullet/\text{P}} \times [\text{P}]) \quad (1)$$

where P refers to tembotrione or sulcotrione.

At  $t = 0$ , 5 mL of a solution containing different proportions of the dissolved ozone stock solution and purified water were added to all reactors so that the initial ozone concentrations were ranging from 0 to 10  $\mu\text{M}$ . After complete ozone consumption (24 h), residual concentrations of P (i.e TBT or SCT) and CBZ were determined by Liquid Chromatography.

Under these conditions, if the reaction of ozone with P and CBZ follows second-order kinetics, first-order to ozone and first-order to organic compound (Hoigné and Bader, 1983a; von Gunten, 2003), the degradation kinetics for P and CBZ can be formulated as:

$$v = -\frac{d[\text{P}]_T}{dt} = k_{O_3/P}[\text{P}]_T[\text{O}_3] \quad (2)$$

$$v = -\frac{d[\text{CBZ}]}{dt} = k_{O_3/\text{CBZ}}[\text{CBZ}][\text{O}_3] \quad (3)$$

with  $k_{O_3/P}$  and  $k_{O_3/\text{CBZ}}$  the second-order rate constants for the reaction of ozone with P and CBZ respectively and  $[\text{P}]_T$  the total concentration of SCT or TBT (i.e.  $[\text{P}]_T = [\text{P}'] + [\text{P}]$ ).

The kinetic for simultaneous reaction of P and CBZ can thus be expressed as follows when eq 2 is divided by eq 3:

$$\frac{d[\text{P}]_T}{P} = \frac{k_{O_3/P}}{k_{O_3/C}} \frac{d[\text{CBZ}]}{[\text{CBZ}]} \quad (4)$$

Or after integration of eq 4:

$$\ln \frac{[P]_{T,0}}{[P]_{T,n}} = \frac{k_{O_3/P}}{k_{O_3/C}} \ln \frac{[CBZ]_0}{[CBZ]_n} \quad (5)$$

where n represents the different doses of ozone applied. The ratio  $k_{O_3/P} / k_{O_3/CBZ}$  can be determined from the slope of the straight line obtained by the representation of  $\ln [P]_{T,0}/[P]_{T,n}$  versus  $\ln [CBZ]_0/[CBZ]_n$ . The rate  $k_{O_3/P}$  can thus be calculated from the known value of  $k_{O_3/CBZ}$  in the literature (Andreozzi *et al.*, 2002).

### **II.2.2. Transformation products identification, toxicity studies**

For transformation products identification and toxicity assessment, ozonation experiments were conducted at pH 7. Initial concentrations of TBT and SCT were 19 mg.L<sup>-1</sup> and 9 mg.L<sup>-1</sup>, respectively. These concentrations were chosen according to EC<sub>50</sub> determined in this study after preliminary toxicity tests (EC<sub>50</sub> = 9.4 mg.L<sup>-1</sup> for TBT and 4.5 mg.L<sup>-1</sup> for SCT). Ozonation experiments were conducted in 100 mL batch reactor containing TBT or SCT solutions without adding OH radical scavenger. Different doses of ozone ranging from 0 to 85 μM for TBT experiments and from 0 to 55 μM for SCT experiments were added in each reactor. After total ozone consumption (i.e. 24 hours of contact), samples were collected for LC-UV and mass spectrometry analyses. Moreover, additional samples were withdrawn for toxicity evaluation.

### **II.2.3. Biodegradability tests**

Ozonation experiments for biodegradation monitoring were conducted with initial concentration of 10 mg.L<sup>-1</sup> for both tembotrione and sulcotrione. However, dilutions were made after ozonation to adjust the dissolved organic carbon concentration to 5 mg C/L. Ozone concentrations were ranging from 0 to 0.12 mM for ratios of  $0 \leq [O_3]/[P] \leq 2$ .

## **II.3. Analytical methods**

An Alliance-Waters 2695 high performance chromatography module and a Waters 2487 UV detector were used to monitor the residual TBT, SCT and CBZ concentrations during ozonation. For each sample, the system was equipped with a Kromasil C<sub>18</sub> column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) and the mobile phase was a mixture of acidified water (0.1 % HCOOH, v/v) and acetonitrile (40/60 for TBT, 60/40 for SCT and 50/50 for CBZ). The injected volume was 100 μL, and UV detection at 250, 230 and 295 nm was used for TBT, SCT and CBZ, respectively.

The dissolved ozone concentration was determined by the Indigo method (Bader and Hoigné, 1981).

LC-MS/MS analyses were performed in order to identify transformation products of TBT and SCT. A Thermo Scientific system equipped with a hybrid quadrupole-Orbitrap mass spectrometer Q Exactive, an Accela Open AutoSampler and an Accela 1250 Pump was used. For all samples, the injection volume was 20  $\mu\text{L}$ . A Kinetex C18 column (100  $\times$  3 mm, 2.6  $\mu\text{m}$ ) with a linear gradient from 5 % acetonitrile/95 % acidified water (0.1 % v/v acetic acid) to 100 % acetonitrile (in 27 min) were used for separation. A flow-rate of 300  $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$  was applied. Mass spectrometry was performed with electrospray ionization in positive and negative modes. For each analysis, sheath gas and auxiliary gas flows were respectively 45 au and 15 au, and the following parameters were applied: ion transfer capillary temperature 350  $^{\circ}\text{C}$ , heater temperature 250  $^{\circ}\text{C}$ , S-less TF level 50 and spray voltage was 3 kV. The MS analyses were run with a resolution of 70 000, an AGC target of  $3 \times 10^6$  and an injection maximum time of 200 ms. The mass range investigated was between 50 and 700 amu. The MS/MS experiments were carried with normalized collision energy between 20 and 40 %. a resolution of 17 500 and an AGC target of  $2 \times 10^5$ . The isolation window was 2 m/z.

#### II.4. Toxicity tests

A standardized biotest (AFNOR NF EN ISO 11348-3, 1999) using *Vibrio fischeri* bacteria luminescence (NRRL B-11177) was conducted for toxicity assays. This method is based on the decrease of the luminescence emitted by *V. fischeri* when stressed by toxic compounds. According to the standard procedure, the toxicity can thus be expressed as the inhibition percentage of the luminescence after 30 min of exposure. A luminometer (LumisTox<sup>®</sup>) maintained at a constant temperature (15  $^{\circ}\text{C}$ ) was used for the measurements of the luminescence.

Lyophilized bacteria (LCK 491) were supplied by HachLange and were stored at -20  $^{\circ}\text{C}$ . The reagent was reactivated in a 2 % NaCl solution prior to testing. The  $\text{EC}_{50}$  values for TBT and SCT were determined using the AFNOR standardization (1999). For each ozonation experiment, the salt concentration was adjusted to 2 % by adding NaCl in the sample after oxidation. Bacteria luminescence was measured before sample addition and after 30 min incubation.

## II.5. Biodegradability

Samples were collected before or after ozonation (with ratio of  $[O_3]_0/[P]_0$  of 0.5, 1 and 2) to determine their biodegradability. Biodegradation tests were carried out according to an adapted version of the Closed Bottle Test (OECD 301 D, 1992) procedure.

After 24 hours of contact and complete consumption of ozone, samples were adjusted to a concentration of dissolved organic carbon of  $5 \text{ mg.L}^{-1}$  to ensure comparability of all samples. Then, 1 mL of a nutrient mix was added and the pH was adjusted to 7.4 with a phosphate buffer. 500  $\mu\text{L}$  of bacteria (from activated sludge sample  $\sim 10^9$  colonies forming units on Plate Count Agar/mL) were inoculated in every test bottles (50 mL). Biodegradability was followed during 28 days at  $25 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$  in the dark. During the tests, samples in duplicate were analyzed on the 0, 1<sup>st</sup>, 7<sup>th</sup>, 14<sup>th</sup>, 21<sup>th</sup> and 28<sup>th</sup> day. The evolution of biodegradability was estimated by the decrease of DOC concentration and then confirmed by the consumption of dissolved oxygen. The oxygen was measured with an oxygen electrode Cellox 325. The Dissolved Organic Carbon was analyzed with a Shimadzu TOC-VCSH analyzer.

In addition to tested samples, controls containing only inorganic medium or inoculum are followed to consider the endogenous activity of the inoculum. Other controls containing only the tested pesticides are monitored to assess the toxicity toward the bacterial inoculum. Quality control vessels with readily biodegradable sodium acetate as the unique organic carbon source were also followed. The amount of dissolved organic carbon of the inoculum is made negligible over the DOC of the tested solutions. The different quality controls tests performed during the experiments confirm that the tests were valid (Annexe V).

## III. Results and discussion

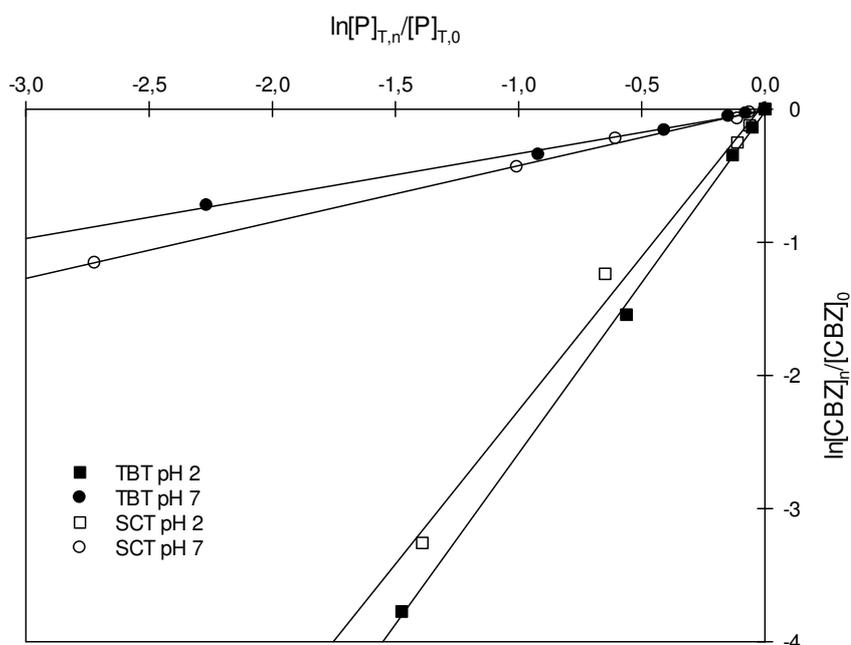
### III.1. Kinetic study

#### *III.1.1. Apparent rate constant for the reaction of ozone with TBT and SCT*

The rate constants of ozone with tembotrione and sulcotrione were determined using the competitive kinetic method previously described in experimental section. The experiments were done by varying the pH at  $20 \text{ }^\circ\text{C}$  with the objective of determining the apparent rate constant for direct reaction between ozone and both selected  $\beta$ -triketones. As mentioned

before, these experiments were conducted in the presence of tert-butanol as HO<sup>•</sup> scavenger (Staehelin and Hoigne, 1985).

Figure 1 represents  $\ln [P]_{T,n}/\ln [P]_{T,0}$  versus  $\ln [CBZ]_n/\ln [CBZ]_0$  obtained for the simultaneous ozonation of tembotrione or sulcotrione (P) and CBZ at pH 2 and 7 and 20 °C. The results show linear plots with high correlation coefficients ( $R^2 > 0.99$ ). Similar results were obtained for other studied pH (2-12). For each experiment, the second order rate constant was thus calculated from the slopes  $k_{O_3/P}/k_{O_3/CBZ}$  and considering the  $k_{O_3/CBZ} = 7.81 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  given in the literature (Andreozzi *et al.*, 2002). The values of second rate constants obtained under these conditions are  $3.32 \pm (0.16) \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  and  $2.38 \pm (0.13) \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  at pH 2 and 7, respectively for TBT, and  $3.45 \pm (0.17) \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  and  $1.67 \pm (0.11) \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  at pH 2 and pH 7 respectively for SCT.

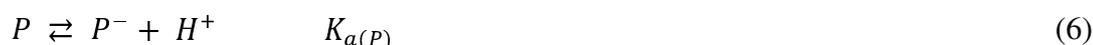


**Figure 1:** Determination of  $k_{O_3/P}/k_{O_3/CBZ}$  ratio from the simultaneous reaction of ozone with both carbamazepine (CBZ) and tembotrione or sulcotrione (P) at different pH and 20 °C.

### III.1.2. pH dependence profile and rate constants of elementary reactions

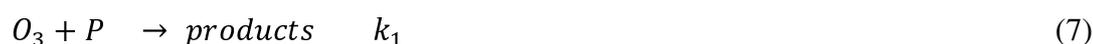
Figure 2 presents the pH profile of the apparent second-order rate constants for TBT and SCT. These results show a pH dependence of the rate constants, with minima for low pH values ( $\text{pH} < 4$ ) no matter the compound considered.

Ozone rate constants are usually depending on compound speciation. Two forms of P (i.e. TBT and SCT) are present in aqueous solution under our experimental pH range (2 - 12) conditions (Eq. 6):



with  $K_{a(TBT)} = 10^{-3.18}$  and  $K_{a(SCT)} = 10^{-3.13}$

Therefore, the apparent rate constants obtained for a given pH could be affected by the elementary reactions of ozone with neutral and ionic species of P.



where  $k_1$  and  $k_2$  represent the rate constant of each elementary reaction and are constant irrespective of the pH.

Considering the global reaction of ozone with TBT and SCT involves reactions 7 and 8, the kinetic of P oxidation can be written as indicated in the equation 9:

$$-\frac{d[P]_T}{dt} = k_1[O_3][P] + k_2[O_3][P^-] = [O_3][P_T](\alpha_P k_1 + \alpha_{P^-} k_2) \quad (9)$$

With  $\alpha_P$  and  $\alpha_{P^-}$  the neutral and ionized fractions of total P.

Accordingly, and considering equation 2,  $k_{O_3/P}$  can be expressed as follow:

$$k_{O_3/P} = \frac{[H^+] k_1 + k_a k_2}{[H^+] + k_a} \quad (10)$$

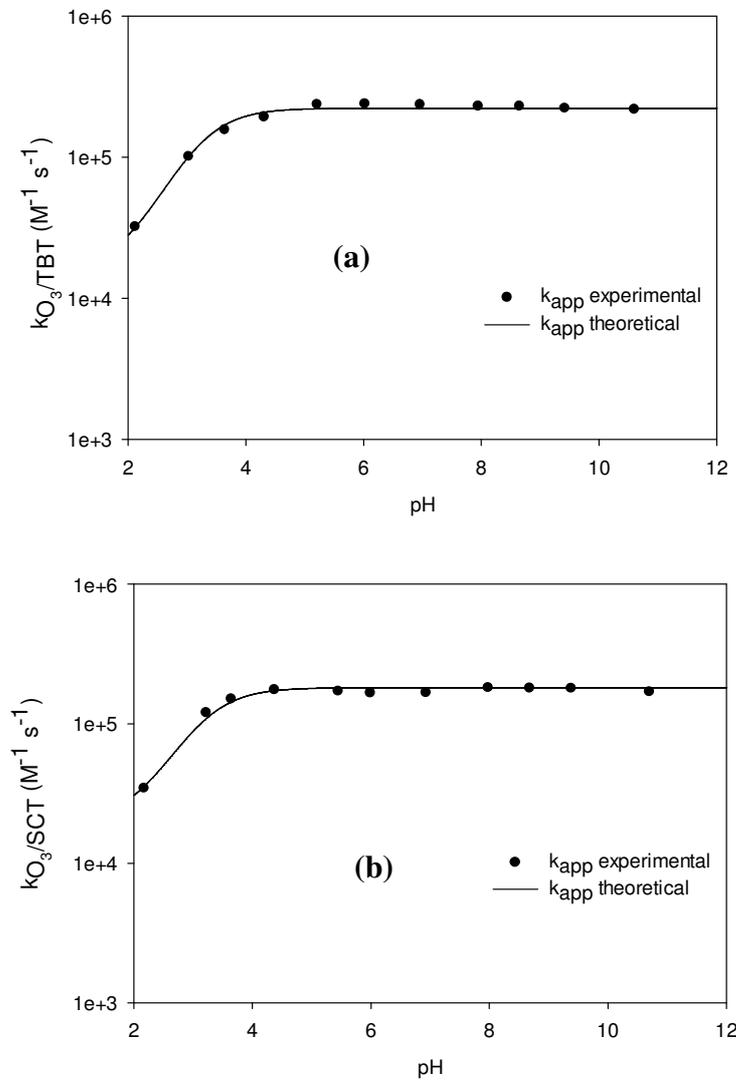
The intrinsic constants  $k_1$  and  $k_2$  were calculated by nonlinear multiple regression of the experimental values of  $k_{O_3/P}$ . These regressions were performed by using the Solver function in Microsoft Excel and in order to minimize the quadratic deviation  $\sum \left( \frac{(k_{O_3/P}(e) - k_{O_3/P}(t))(k_{O_3/P}(e) - k_{O_3/P}(t))}{(k_{O_3/P}(e))^2} \right)$  where  $k_{O_3/P}(e)$  and  $k_{O_3/P}(t)$  are the experimental and theoretical apparent second-order constants.

The intrinsic rate constants  $k_1$  and  $k_2$  determined from these calculations are summarized in Table 1. Comparable rate constants were obtained for both molecules with  $k_2$  values about 10 order of magnitude higher than  $k_1$ .

**Table 1:** Second-order constants of the elementary reactions of oxidation by ozone of tembotrione and sulcotrione.

Compound	$k_1$ ( $M^{-1} s^{-1}$ )	$k_2$ ( $M^{-1} s^{-1}$ )
Tembotrione	$1.51 \times 10^4$	$2.25 \times 10^5$
Sulcotrione	$1.96 \times 10^4$	$1.78 \times 10^5$

The pH profiles of the experimental apparent second order rate constant and the model obtained from these constants and equation 10 are shown in Figure 2 for both tembotrione and sulcotrione. A good fit of the experimental pH profile and the proposed model is observed for both pesticides.



**Figure 2:** pH dependence of the apparent rate constants for ozonation of (a) TBT and (b) SCT at  $20 \pm 2$  °C

Hence, the proposed elementary reactions are consistent with the data and the pH profile can be explained by the difference of ozone reactivity with neutral and ionized forms. At pH > 4, the ionized form of P is the predominant TBT and SCT species. The constant reactivity of TBT or SCT with ozone could thus be explained by the reaction of ozone with the ionized form of P. At pH < 4, the ionized fraction of P decreases with decreasing pH values while the neutral form increases. The reaction of ozone with the neutral form of P becomes gradually the most important and the apparent rate constants decrease because this species is less reactive with ozone than the ionized form of P.

### III.1.3. Modeling ozonation of TBT and SCT in natural waters

Hydroxyl radical can be generated during ozonation as a consequence of O<sub>3</sub> decay. During ozonation steps, pesticides can thus be degraded either by direct molecular ozone reaction and/or by indirect hydroxyl radical reaction (Hoigné and Bader, 1976).

Accordingly, the kinetic of P (TBT or SCT) ozonation can be written as follows:

$$-\frac{d[P]}{dt} = k_{HO^{\bullet}/P} [HO^{\bullet}][P]_T + k_{O_3/P} [O_3][P]_T \quad (11)$$

where  $k_{HO^{\bullet}/P}$  and  $k_{O_3/P}$  are apparent second-order rate constants of HO<sup>•</sup> and O<sub>3</sub> reaction with P.

Ozone rate constants were determined in this work for both TBT and SCT. Moreover, the rate constants for the reaction of HO<sup>•</sup> and P were previously determined at pH 7 (cf Chapter III). Values of about  $3.34 (\pm 0.21) \times 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  and  $4.43 (\pm 0.11) \times 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  were observed for TBT and SCT, respectively.

As shown in the equation (11), the concentrations of HO<sup>•</sup> and O<sub>3</sub> are thus needed to predict the degradation of P during ozonation. HO<sup>•</sup> concentrations vary according to the real water considered. Therefore, the Rct concept proposed by Elovitz and von Gunten (1999) was used to predict the evolution of the target compound P. This Rct concept has been successfully applied for removal estimation of several compounds as pharmaceuticals (Hamdi El Najjar *et al.*, 2013; Huber *et al.*, 2003), or pesticides (Acero *et al.*, 2003, 2000; Benitez *et al.*, 2007) during ozonation.

In this approach, the Rct is defined by the ratio of hydroxyl radical exposure to the molecular ozone exposure ( $Rct = \frac{\int [HO^\bullet] dt}{\int [O_3] dt}$ ). According to Elovitz and von Gunten (1999) Rct is constant during ozonation after an initial phase. Therefore, it can also be assumed that Rct represents the ratio of hydroxyl radical concentrations to molecular ozone concentration.

Hence, considering  $Rct = [HO^\bullet]/[O_3]$  equation (11) gives equations (12) and (13) :

$$-\frac{d[P]}{dt} = k_{HO^\bullet/P} \cdot Rct [O_3] [P]_T + k_{O_3/P} [O_3] [P]_T \quad (12)$$

$$\ln \frac{[P]_{T,t}}{[P]_{T,0}} = -(k_{HO^\bullet/P} \cdot Rct + k_{O_3/P}) \int [O_3] \cdot dt \quad (13)$$

The Rct values usually reported in literatures for natural waters are ranging between  $10^{-9}$  and  $10^{-7}$  (von Gunten, 2003). The degradation of TBT and SCT can be estimated in natural water by considering these two Rct values as presented in Figure 3-a and 3-b. Under these conditions, no significant impact of Rct on the kinetics of degradation for both TBT and SCT are shown. This implies that  $HO^\bullet$  concentrations usually observed in real waters have no influence on the kinetics of degradation of TBT and SCT during ozonation step. Under water treatment conditions, rapid SCT and TBT removals can be expected from these results. For both compounds, an  $O_3$  exposure of only  $\sim 1.5 \times 10^{-2} \text{ mg}\cdot\text{min}\cdot\text{L}^{-1}$  is necessary to achieve  $\geq 95 \%$  removal efficiency. For an ozone concentration of  $0.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , half-life times of 0.70 s and 0.99 s are estimated for TBT and SCT, respectively.

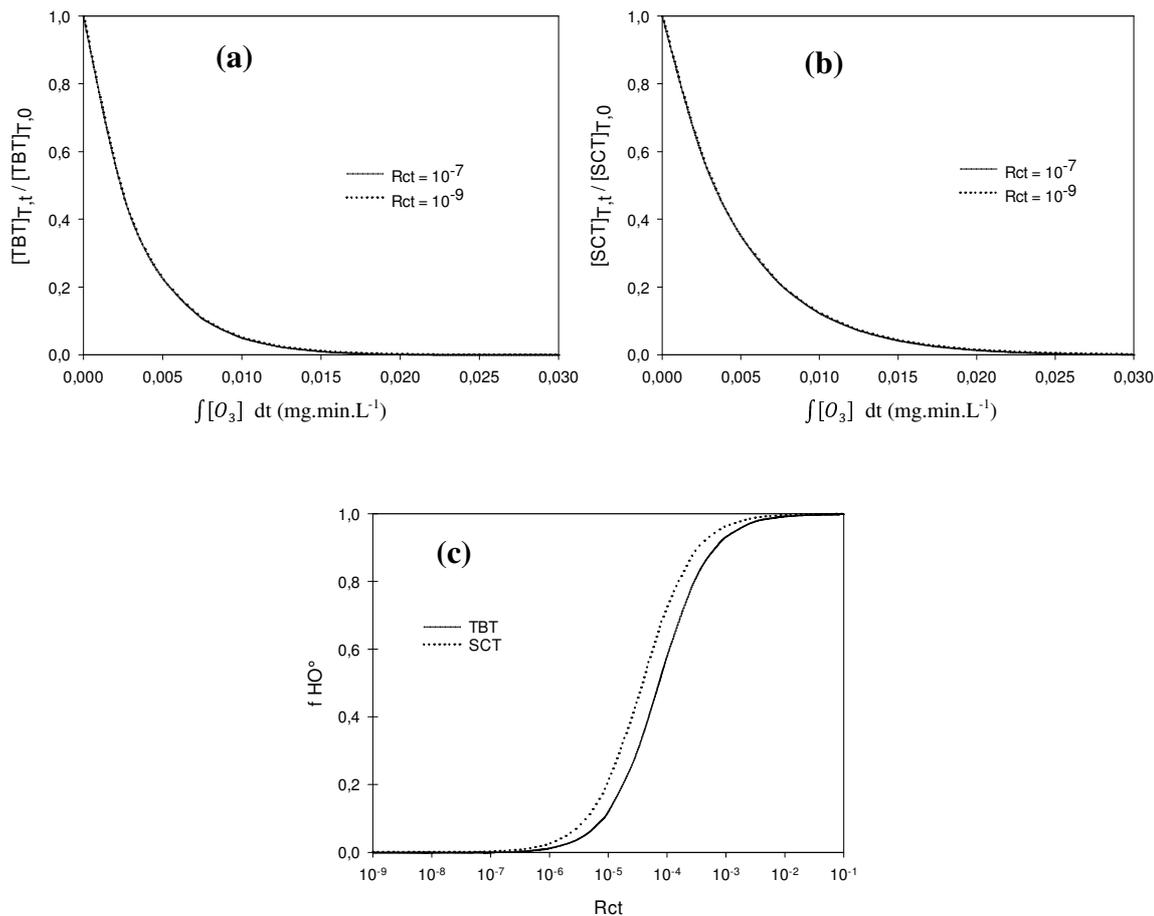
Similarly, the fraction of P reacting with  $HO^\bullet$  ( $f_{HO^\bullet}$ ) can be determined for different waters by considering this concept. Under these conditions,

$$f_{HO^\bullet} = \frac{k_{HO^\bullet/P} [P]_T [HO^\bullet]}{k_{HO^\bullet/P} [P]_T [HO^\bullet] + k_{O_3/P} [P]_T [O_3]} \quad (14)$$

Or, by replacing Rct:

$$f_{HO^\bullet} = \frac{k_{HO^\bullet/P} \cdot Rct}{k_{HO^\bullet/P} \cdot Rct + k_{O_3/P}} \quad (15)$$

Figure 3-c represents the fraction of P reacting with hydroxyl radicals for different Rct values. This figure confirms that the contribution of  $HO^\bullet$  radicals in TBT and SCT removal during ozonation process in real waters ( $Rct = 10^{-7}$ - $10^{-9}$ ) can be neglected (Figure 3).



**Figure 3:** Contribution of  $HO^\bullet$  to the ozonation of TBT and SCT in real waters at pH 7.

(a) Tembotrione (b) Sulcotrione (c)  $f_{HO^\bullet} = f(R_{ct})$

### III.2. Ozonation products identification

Experiments investigating the transformation products of tembotrione and sulcotrione were conducted at pH 7 with different concentrations of ozone. These experiments were performed without the scavenger tert-butanol since it was previously shown that the role of  $HO^\bullet$  in the oxidation of TBT and SCT during ozonation was negligible. Under these conditions, 7 major transformation products were observed. Some minor products were also noted but their signal in mass spectrometry was too low to allow their identification. Only the ESI negative mode results are shown in this section since no response in positive mode was observed for both TBT and SCT. The overall MS and MS/MS characteristics together with theoretical mass and proposed molecular formulas corresponding to TBT, SCT and the observed ozonation products are presented in Table 1. Chosen names were given for products in order to facilitate reading. Hence, P corresponds to common transformation products, T and

S are used for tembotrione and sulcotrione transformation products respectively and the chosen names with similar number (e.g: T1 and S1, T2 and S2, ...) are equivalent products for the two parent molecules.

T1 and S1 are the major transformation products observed during TBT and SCT ozonation. According to literature data, these products would result from an initial ozone attack on the carbonyl functional group of TBT or SCT. During ozonation, they could be transformed into, either (i) T2 and S2 by a oxidative decarboxylation and a hydroxylation or (ii) P5 by chlorine substitution with a hydroxyl group, then dehydroxylation and oxidative opening of the benzene ring (Jovic *et al.*, 2013). In addition to S1 or T1, 1,3-cyclohexanedione (P6) could also result from the initial ozone attack on the carbonyl functional group. This latter compound would give in turn glutaric acid (P7) under our experimental conditions (Tarara *et al.*, 2009). This product was also observed during photo-degradation and chlorination of TBT and SCT after 1,3-cyclohexanedione formation (Chapters III, IV).

In parallel to this mechanism, the hydroxylation of TBT and SCT leading to T3 and S3 formation was observed in this work during ozonation. This hydroxylation would occur either (i) on the aromatic ring or (ii) on the  $\alpha$ -carbon to the carbonyl functional group of TBT or SCT. However, the electron-withdrawing effect of the aromatic substituents does not favour the ozone attack. Therefore, the hydroxylation on the  $\alpha$ -carbon to the carbonyl functional group of TBT or SCT could be suggested for these compounds. Under these conditions, these compounds could then lead to the formation of T1 or S1 and glutaric acid (P7).

Similarly, T4 and S4 formation was noted. A theoretical chemical structure was found with a quite good absolute mass accuracy ( $C_{16}H_{17}O_7ClF_3S$  for T4 and  $C_{13}H_{15}O_6ClS$  for S4). However, no chemical structure could be proposed for these latter compounds.

Similar compounds 1, 2, 3, 5, 6 and 7 were previously noted during triketone herbicides (i.e. SCT and mesotrione) oxidation using different advanced oxidation processes as ozonation, dielectric barrier discharge, photocatalysis and fenton reagent (Jovic *et al.*, 2013). However, the formation of products 3 and 5 was only described using photocatalysis or Fenton reagent. Moreover no equivalent product to product 4 was previously observed during triketone ozonation.

**Table 2:** Mass spectrum characteristics of tembotrione (T) and sulcotrione (S) and their ozonation by-products.

	Molecular Formula	Theoretical m/z [M - H] <sup>-</sup>	Experimental m/z [M - H] <sup>-</sup>	ppm	MS (relative abundance)	MS2 (relative abundance)	Proposed chemical structures
<b>TBT</b>	C <sub>17</sub> H <sub>16</sub> O <sub>6</sub> ClF <sub>3</sub> S	439.02245	439.02368	-2.80	<b>439</b> (100) ; 441 (36) ; 403 (47)	403 (100)	
<b>SCT</b>	C <sub>14</sub> H <sub>13</sub> O <sub>5</sub> ClS	327.00885	327.01004	-3.64	<b>327</b> (100) ; 329 (36) ; 291 (50)	291 (100)	
<b>T1</b>	C <sub>11</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub> ClF <sub>3</sub> S	344.98058	344.98175	-3.39	<b>345</b> (100) ; 347 (35) ; 301 217 (22) ; 281 (12)	217 (100) ; 301 (15) ; 281 (10)	
<b>S1</b>	C <sub>8</sub> H <sub>7</sub> O <sub>4</sub> ClS	232.96782	232.96698	3.61	<b>233</b> (100) ; 235 (37) ; 189 (84) ; 191 (29)	189 (100) ; 191 (5)	
<b>T2</b>	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub> ClF <sub>3</sub> S	316.98567	316.98682	-3.63	<b>317</b> (100) ; 319 (36) ; 289 (47)	316.98 (40) ; 299 (70) ; 281 (100) ; 254 (17)	
<b>S2</b>	C <sub>7</sub> H <sub>7</sub> O <sub>3</sub> ClS	204.97207	204.97247	-1.95	<b>205</b> (100) ; 207 (31)	187 (100) ; 169 (64) ; 142 (40)	

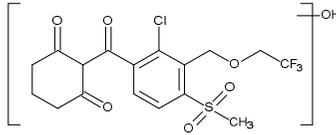
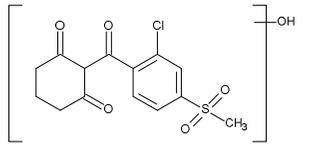
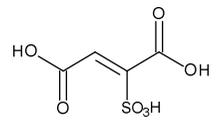
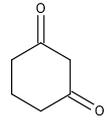
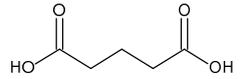
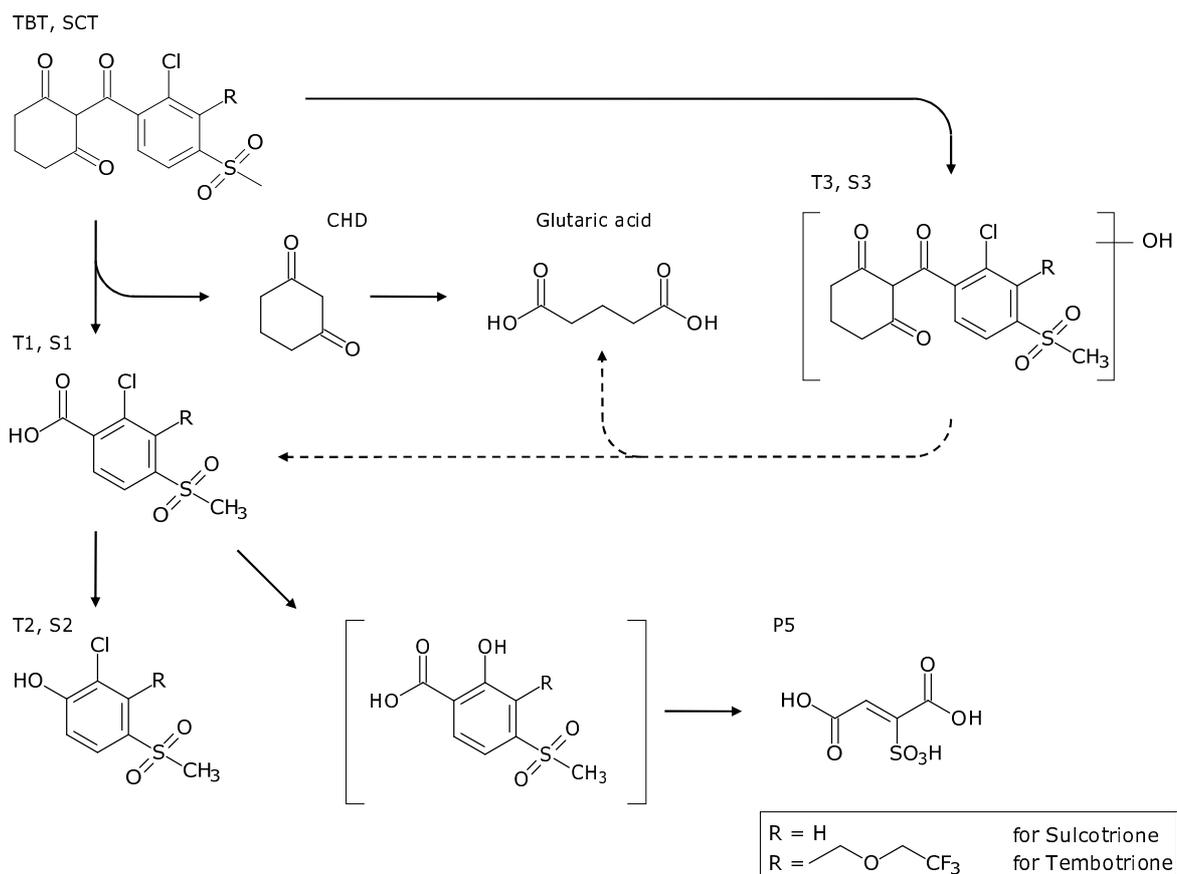
	Molecular Formula	Theoretical m/z [M - H] <sup>-</sup>	Experimental m/z [M - H] <sup>-</sup>	ppm	MS (relative abundance)	MS2 (relative abundance)	Proposed chemical structures
<b>T3</b>	C <sub>17</sub> H <sub>16</sub> O <sub>7</sub> ClF <sub>3</sub> S	455.01736	455.01852	-2.55	<b>455</b> (100) ; 457 (35) ; 345 (12)	455 (40) ; 419 (100) ; 391 (60) ; 375 (40)	
<b>S3</b>	C <sub>14</sub> H <sub>13</sub> O <sub>6</sub> ClS	343.00376	343.00473	-2.83	<b>343</b> (100) ; 345 (32)	343 (9) ; 279 (63) ; 253 (57) ; 235 (100)	
<b>T4</b>	C <sub>16</sub> H <sub>17</sub> O <sub>7</sub> ClF <sub>3</sub> S	445.03301	445.03384	-1.87	<b>445</b> (100) ; 447 (32) ; 409 (5)	445 (34) ; 409 (23) ; 365 (25) ; 265 (100)	-
<b>S4</b>	C <sub>13</sub> H <sub>15</sub> O <sub>6</sub> ClS	333.01941	333.02054	-3.39	<b>333</b> (100) ; 335 (35)	333 (57) ; 297 (80) ; 253 (56) ; 219 (100) ; 218 (50)	-
<b>P5</b>	C <sub>4</sub> H <sub>4</sub> O <sub>7</sub> S	194.94470	194.94570	-5.13	<b>195</b> (100) ; 174 (40)	195 (7) ; 174 (100) ; 160 (26)	
<b>P6</b>	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	111.04406	111.04369	3.33	<b>111</b> (100) ; 112 (10)	111 (100) ; 93 (65)	
<b>P7</b>	C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	131.03389	131.03360	2.21	<b>131</b> (100)	131 (63) ; 87 (100)	

Figure 4 shows the reaction pathway proposed for the ozonation of TBT and SCT. Transformation product patterns for different ozone doses are also presented in Figures 6-a and 6-b. In these latter figures, the increase followed by a progressive decrease in P1 formation is in agreement with the reaction pathway suggesting transformation of T1 (or S1 for SCT) in T2 (or S2 for SCT). Similarly, high ozone doses seem to be necessary for the formation of glutaric acid (P7) and P5, which would result from several ozonation steps. Finally, a decrease in the formation of T2 and T3 (S2 and S3 for SCT) is observed for  $[O_3]/[P]_{T,0} \geq 1$ . Further transformations can thus be expected for these compounds. The transformation of T3 (or S3 for SCT) in T1 (or S1 for SCT) could be proposed if the OH group of T3 (or S3 for SCT) is on the  $\alpha$ -carbon to the carbonyl functional group. The increase of T3 (or S3 for SCT) followed by a progressive increase of T1 (or S1 for SCT) is in agreement with this reaction pathway suggesting T3 (or S3 for SCT) gives T1 (or S1). Otherwise, this transformation could correspond to an ozone attack on the carbonyl functional group of T3 (or S3 for SCT) leading to 1,3-cyclohexanedione (P6) formation if the OH group of T3 (or S3 for SCT) is in the aromatic ring. Actually, no decrease in P6 formation was observed while this compound gives glutaric acid under our experimental conditions. Other sources of 1,3-cyclohexanedione than those presented in figure 4 can then be expected during TBT or SCT ozonation.



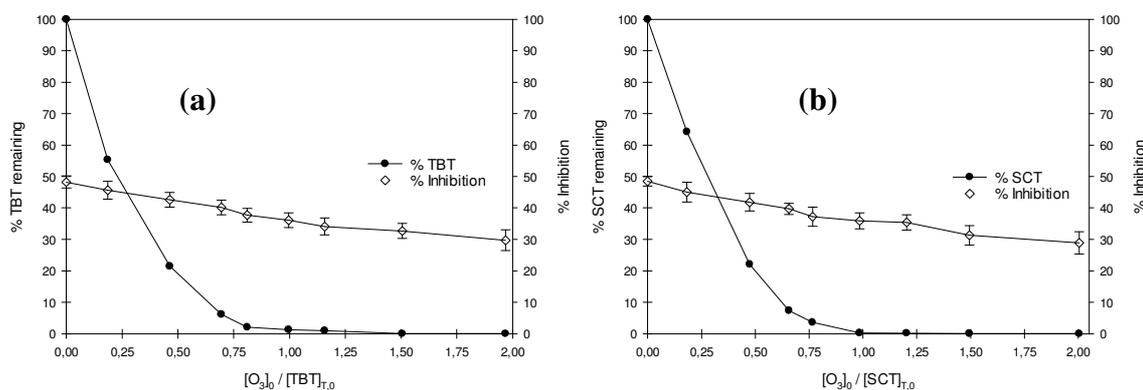
**Figure 4:** Proposed pathways for reaction of tembotrione and sulcotrione with ozone.  
(structure in brackets was not observed under our experimental conditions)

### III.3. Toxicity evaluation

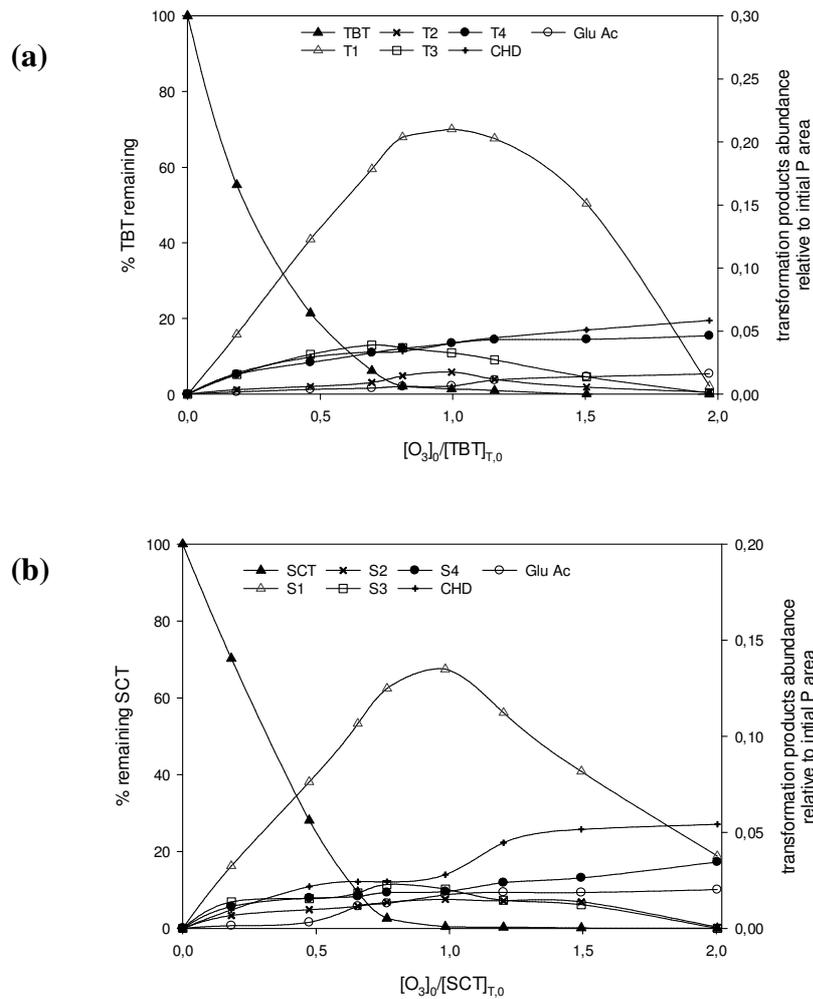
In this study, the toxicity pattern of ozonated TBT and SCT aqueous solutions was assessed. Ozonation experiments were performed with initial concentration of pesticides in agreement with the values of  $EC_{50}$  found in preliminary tests i.e. 9.4 and 4.5 mg/L for TBT and SCT respectively (Annexe III). Doses of ozone from 0 to 85  $\mu\text{M}$  were used to obtain ratio of  $[\text{O}_3]_0/[\text{P}]_{\text{T},0}$  between 0 and 2. After 24h reaction time, the consumption of ozone was total so that no residual of ozone was measured before toxicity tests, and no  $\text{O}_3$  interference during the tests was noted. Toxicity patterns obtained under these conditions during TBT and SCT ozonation are presented Figure 5 (a and b). The results show a gradual decrease in toxicity of the mixtures with the ozone dose applied for both tembotrione and sulcotrione solutions. For both studied herbicides, the toxicity of the ozonated mixture decreased from 50 % inhibition ( $[\text{O}_3]_0/[\text{P}]_{\text{T},0} = 0$ ) up to 30 % inhibition for applied ozone dose  $[\text{O}_3]_0/[\text{P}]_{\text{T},0} = 2$ .

The simultaneous decrease in toxicity and TBT or SCT removal indicates that the ozonation process generated a mixture of less toxic products than the parent compounds. However, a residual of toxicity is noted while TBT or SCT was completely removed for ratio  $[O_3]_0/[P]_{T,0} \approx 1$ . The formation of one or several toxic transformation products towards *V. fisheri* is thus expected.

The LC analyses (Figure 6 a and b) showed that after complete degradation of P, products T1, T2 and T3 (or S1, S2, S3 for sulcotrione) gradually disappeared while products T4 (S4), P5, P6 and P7 gradually increased up to a constant value. Therefore, the products T1, T2 and T3 (or S1, S2, S3 for sulcotrione) would not be the only products responsible for the observed residual of toxicity. Similarly, maximal concentrations of about 0.3 and 0.15  $\mu\text{M}$  were noted for glutaric acid (P7) and 1,3 cyclohexanedione under our experimental conditions while  $EC_{50}$  values of about 21  $\mu\text{M}$  (28.25  $\text{mg.L}^{-1}$ ) and 48  $\mu\text{M}$  (54.3  $\text{mg.L}^{-1}$ ) were obtained in this work (Annexe III). The observed residual toxicity can thus not be assigned to the formation of 1,3-cyclohexanedione (P6) and glutaric acid (P7). Product P4 or other minor transformation products not identified in this study could thus explain the residual toxicity.



**Figure 5:** Toxicity evolution during ozonation of (a) Temboatrione and (b) Sulcotrione.



**Figure 6:** By-products formation during ozonation of (a) Tembotrione and (b) Sulcotrione

### III.4. Biodegradability

Biodegradability of ozonated solutions of TBT and SCT was evaluated with the 301D Closed Bottle Test. Results are expressed in percentage of degraded dissolved organic carbon and in biodegradation rates (Table 3).

After 28 days, 45 % of biodegradation was observed for a non ozonated solution of tembotrione. The percentage of biodegradation was higher for the ozonated solution of TBT. It was observed that the biodegradation increases with the dose of ozone applied, from 55 % for a ratio of  $[O_3]_0/[P]_0 = 0.5$  up to 70 % biodegradation for  $[O_3]_0/[P]_0 = 2$ . The increase in biodegradability is not due to a decrease in toxicity, since no toxicity toward the inoculum was observed in the quality control samples (Annexe V).

In case of sulcotrione, a similar behavior is observed. The initial percentage of biodegradation is 51 % after 28 days of incubation. This percentage increases as well with the dose of ozone applied from 53 to 70 % with a more significant rise for ratios  $[O_3]_0/[P]_0 \geq 1$ .

The biodegradation rates were calculated for time intervals between the 1<sup>st</sup> and the 7<sup>th</sup> day and between the 7<sup>th</sup> and the 28<sup>th</sup> day of incubation. The results show that the biodegradation rates are substantially the same for TBT and SCT. Between the 1<sup>st</sup> and the 7<sup>th</sup> day, the rates of biodegradation are higher for the ozonated solutions than for the non ozonated solutions. It is observed that the rate increased with ozone degradation by a factor of approximately 1.35 for ozone to pesticide ratios from 0.5 to 2. Furthermore the degradation rates between the 7<sup>th</sup> and the 28<sup>th</sup> days are significantly lower than for the seven first days. This finding was observed for the pesticide and the ozonated solutions.

According to the OECD line (301 D), the removal of dissolved organic carbon of a compound or a mixture has to be more than 70 % after 28 days of incubation to be classified as easily biodegradable. Under this limit the compound or the mixture is classified as “not readily biodegradable”. The results obtained for non ozonated solutions of pesticides (TBT and SCT) suggest that these two compounds can be classified as not readily biodegradable. However, the solutions become “easily biodegradable” for  $[O_3]_0/[P]_0 \geq 1.5$  when SCT and TBT molecules are completely degraded by ozone. Therefore, the pesticides or the ozonated solutions seem to be not easily biodegradable unless the ozone is excess  $[O_3]_0/[P]_0 \geq 1.5$ .

These biodegradation results highlight that the by-products formed by ozonation are more biodegradable than the parent pesticides. The close behavior of the two studied molecules also suggests that the trifluoro-ethoxymethyl chain only present for TBT does not impact the biodegradation of the pesticide. In fact, upon ozonation, the formation of readily biodegradable and hydrolysable matter increases and the biodegradation becomes more efficient (Cecen and Aktas, 2011). Carlson and Amy, (1997) observed that a dose of 0.5 mg O<sub>3</sub>/mg DOC increased the biodegradable dissolved organic carbon (BDOC) from 1.15 mg.L<sup>-1</sup> to 2.31 mg.L<sup>-1</sup>. In a water treatment plant, BDOC increased by 49 % after introduction of ozone (Escobar and Randall, 2001).

Ozone can be effective in partly oxidizing organic compounds to biodegradable compounds. Ozonation transforms the compounds into lower molecular weight, more easily biodegradable. This increase in BDOC fraction occurs for moderate doses of ozone that are typically encountered in disinfection. Ozonation also introduces large amounts of oxygen to

water, creating a better environment for biological growth (Escobar and Randall, 2001; Hammes *et al.*, 2006).

**Table 3:** Percentages and rate of biodegradation of tembotrione and sulcotrione solutions at different ozonation rates

Compound - [O <sub>3</sub> ] <sub>0</sub> /[P] <sub>0</sub> ratio	Biodegradation (%)	Biodegradation Rate (µg L <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> )	
		j0-j7	j0-j7
TBT - 0	45 ± 3	204 ± 4	38 ± 4
TBT - 0.5	55 ± 2	242 ± 6	48 ± 4
TBT - 1	62 ± 3	286 ± 5	52 ± 4
TBT - 2	70 ± 3	325 ± 6	58 ± 5
SCT - 0	47 ± 2	209 ± 4	54 ± 3
SCT - 0.5	53 ± 3	237 ± 5	46 ± 4
SCT - 1	63 ± 3	281 ± 5	56 ± 3
SCT - 1.5	70 ± 2	335 ± 4	55 ± 4

#### IV. Conclusion

In this work, the kinetics of tembotrione and sulcotrione oxidation by ozone in ultra-pure water was studied. At pH 7, rate constant values of  $2.38 \pm (0.13) \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  and  $1.67 \pm (0.11) \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  were obtained for TBT and SCT, respectively. The behavior of both pesticides in a real water treatment ozonation process was modeled using the Rct concept. Under these conditions, for an ozone concentration of  $0.2 \text{ mg.L}^{-1}$ , half-lives of 0.70 s for TBT and 0.99 s for SCT was estimated. Several transformation products during ozonation were identified. The major product T1 or S1 is formed by the attack of ozone on the carbonyl functional group. This product leads to the formation of T2 (or S2) after oxidative

decarboxylation. The oxidative opening of the benzene ring is observed and forms a minor transformation product (P5). The toxicity clearly decreases during ozonation according to the inhibition of luminescence of *Vibrio fischeri*. However, toxicity residual is observed while TBT or SCT are completely removed. The biodegradation increases from about 45 % to 70 % during ozonation for both TBT and SCT. The oxidation of tembotrione and sulcotrione by ozone leads to the formation of transformation product mixture more biodegradable and less toxic than the parent compounds.

---

## **SYNTHÈSE ET CONCLUSIONS GÉNÉRALES**

---

## Synthèse et conclusions générales

---

Les pesticides sont des contaminants persistants avérés des écosystèmes aquatiques en raison de leur introduction répétée dans l'environnement (agriculture, entretien des voiries, usage des particuliers). Dans les conditions des milieux naturels, les pesticides subissent différents processus de transformation comme l'hydrolyse, la photolyse ou encore la biodégradation. D'autres transformations comme l'oxydation chimique (chlore, ozone, ...), un processus largement appliqué pour la production d'eau potable, peuvent également intervenir lorsque des ressources en eau sont contaminées. Afin de pouvoir évaluer le risque lié aux pesticides pour la qualité des eaux, il est indispensable de connaître leur devenir lors de processus de transformation en milieu naturel et dans la filière de traitements des eaux.

L'objectif général de ce travail a été de contribuer à une meilleure connaissance du devenir potentiel d'herbicides dans l'environnement aquatique naturel (par photolyse, biodégradation) et au cours de différents traitements oxydants fréquemment utilisés au cours de la filière de traitement des eaux (chlore, ozone). Pour cela, deux composés de la famille des  $\beta$ -tricétones ont été choisis : la tembotrione et la sulcotrione.

Cette étude a été menée en deux parties : la première partie a été consacrée aux réactions de photolyse sous lumière polychromatique pouvant contribuer au devenir des pesticides sélectionnés dans les ressources aquatiques naturelles. La deuxième partie a été consacrée au devenir de ces pesticides au cours des procédés fréquemment utilisés lors du traitement des eaux (chloration et ozonation).

### ***Réactivité sous oxydations chimique et photochimique***

L'étude de la photolyse a été réalisée sous lumière polychromatique avec des longueurs d'ondes centrées à 312 nm ou supérieures à 290 nm (irradiation solaire simulée). Une étude cinétique en photolyse directe a tout d'abord été réalisée à différents pH entre 2 et 9. Les résultats ont confirmé les données de la littérature indiquant que la photodégradation de ces composés est fortement dépendante du pH. Sous irradiation solaire simulée, des temps de demi-vie de 2,5 heures et 2,4 heures ont été obtenus pour la tembotrione et la sulcotrione, respectivement, à pH 2. Pour un pH de 9, les temps de demi-vie obtenus sont beaucoup plus longs, 112 heures pour la tembotrione et 105 heures pour la sulcotrione. Des suivis temporels de la photolyse indirecte en présence d'un compétiteur ainsi que de différentes concentrations

en nitrates ont été menés pour calculer les constantes d'action du radical hydroxyle sur les deux pesticides. Dans ces conditions, des constantes cinétiques de  $3,34 (\pm 0,21) \times 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  pour la tembotrione et de  $4,43 (\pm 0,11) \times 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  pour la sulcotrione ont été obtenues. A partir de ces constantes, des temps de demi-vie dans l'environnement naturel ont pu être estimés pour différentes concentrations en nitrates sous rayonnement solaire à midi. Des temps de demi-vie allant de 288 heures à 17 heures ont été obtenus pour des concentrations en nitrates allant de 0,08 mM à 0,96 mM.

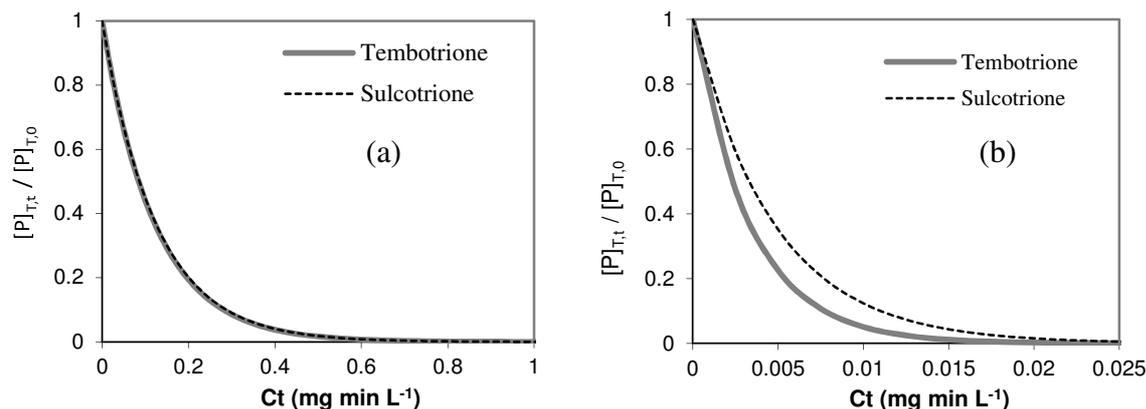
Les études cinétiques de chloration et d'ozonation ont été menées pour des gammes de pH allant de 2 à 12 à 20 °C. Dans ces conditions, des constantes cinétiques de second ordre (ordre un par rapport au pesticide et ordre un par rapport à l'oxydant) de l'ordre de  $9 \times 10^3 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  pour la chloration et supérieures à  $10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  pour l'ozonation ont été obtenues à pH 7. Le Tableau 1 résume les résultats issus de l'étude cinétique de l'oxydation radicalaire, de la chloration et de l'ozonation.

**Tableau 1 :** Bilan des constantes cinétiques obtenues à pH 7 (*P* représente le pesticide étudié)

	$k_{\text{HOCl/P}} (\text{M}^{-1}\text{s}^{-1})$	$k_{\text{O}_3/\text{P}} (\text{M}^{-1}\text{s}^{-1})$	$k_{\text{HO}\cdot/\text{P}} (\text{M}^{-1}\text{s}^{-1})$
<b>Tembotrione</b>	$9,69 (\pm 0,15) \times 10^3$	$2,38 (\pm 0,13) \times 10^5$	$3,34 (\pm 0,21) \times 10^9$
<b>Sulcotrione</b>	$9,48 (\pm 0,62) \times 10^3$	$1,67 (\pm 0,11) \times 10^5$	$4,43 (\pm 0,11) \times 10^9$

Les constantes cinétiques ont permis de mettre en évidence que la tembotrione et la sulcotrione ont une réactivité similaire quel que soit le mode d'oxydation considéré (photochimique ou chimique). Ces deux composés montrent une réactivité plus forte vis-à-vis de l'ozone par rapport au chlore. Ainsi pour une même concentration en oxydant, la dégradation de la tembotrione et de la sulcotrione est dix fois plus rapide par ozonation que lors de la chloration. Cette différence d'efficacité s'explique par le fait que l'ozone est un oxydant plus puissant et moins sélectif que le chlore. Ainsi, lors de la chloration à pH 7 et pour une concentration résiduelle en chlore de  $0,2 \text{ mg.L}^{-1}$ , des temps de demi-vie d'une dizaine de secondes sont attendus pour les deux pesticides. Lors de l'oxydation par l'ozone, une dégradation plus rapide est attendue pour une même concentration en oxydant ( $0,2 \text{ mg.L}^{-1}$ ). A pH 7, des temps de demi-vie inférieurs à 1 seconde sont estimés.

La figure 1 montre une estimation de la dégradation des deux herbicides au cours de la chloration et de l'ozonation pour différentes valeurs de C.t à pH 7. Dans les conditions usuelles employées pour la potabilisation des eaux, les valeurs de C.t utilisées sont généralement inférieures à 50 mg.min.L<sup>-1</sup> pour le chlore et à 10 mg.min.L<sup>-1</sup> pour l'ozone. Dans ces conditions, les résultats montrent que plus de 99 % de la tembotrione ou de la sulcotrione serait dégradée.



**Figure 1 :** Modèles de dégradations de la tembotrione et de la sulcotrione en fonction de l'exposition (a) au chlore et (b) à l'ozone

Néanmoins, il est à noter que les modèles de dégradation employés dans la figure 1 ne prennent pas compte l'impact potentiel de la matrice de l'eau sur la dégradation des composés au cours de la chloration et de l'ozonation. La présence de composés organiques et d'espèces minérales pourrait avoir un effet compétiteur, catalyseur ou encore pièges à radicaux.

En conséquence, une estimation de la dégradation par les radicaux hydroxyle des composés étudiés a été réalisée pour les concentrations généralement retrouvées dans les eaux. Les résultats ont montré que le radical HO<sup>•</sup> n'a aucun effet sur la cinétique de dégradation des composés lors de l'ozonation dans les eaux naturelles.

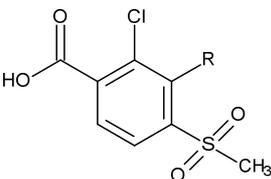
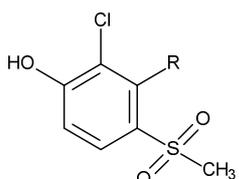
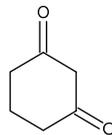
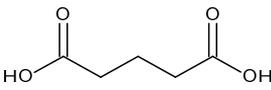
### ***Produits de transformation***

Une étude des sous-produits de photolyse, de chloration et d'ozonation a également été réalisée dans des conditions proches de celles des études cinétiques à pH 7. Des sous-produits ont été identifiés et ont permis de proposer des chemins réactionnels pour les différents pesticides.

Plusieurs sous-produits communs ont été identifiés lors des différents modes d'oxydation (Tableau 2). Pour la photolyse, la chloration et l'ozonation, un sous-produit

majoritaire commun a été observé (A). Ce sous-produit peut également se former suite à l'hydrolyse lente des composés. Il provient d'une rupture au niveau de la fonction carbonyle. Que ce soit en chloration ou en ozonation, l'attaque principale de l'oxydant a eu lieu sur le carbone en position  $\alpha$  de la  $\beta$ -tricétone. En effet, en raison des groupements carbonyles fortement électroattracteurs, le carbone en position  $\alpha$  est lié à un atome d'hydrogène fortement acide qui favorise l'attaque instantanée des oxydants. Un autre sous-produit commun (B) en chloration et ozonation provient d'une décarboxylation oxydative du composé (A). Le 1,3-cyclohexanedione (C) provient également de la coupure au niveau de la fonction carbonyle dans le cas de la photolyse et de l'ozonation. Ce dernier, peu stable dans nos conditions expérimentales, se transforme en acide glutarique (D). Dans le cas de la chloration, la 1,3-cyclohexanedione n'est pas observée car l'attaque du chlore sur la fonction carbonyle s'accompagne d'une ouverture de cycle.

**Tableau 2** : Sous-produits communs obtenus dans cette étude

Sous-produits		m/z		Photolyse	Chloration	Ozonation
Structure	TBT	SCT				
A		344.98	232.96	Oui T2, S2	Oui T3, S3	Oui T1, S1
B		316.98	204.97	-	Oui T4, S4	Oui T2, S2
C	 Cyclohexanedione	111.04		Oui	-	Oui
D	 Acide glutarique	131.03		Oui	Oui	Oui

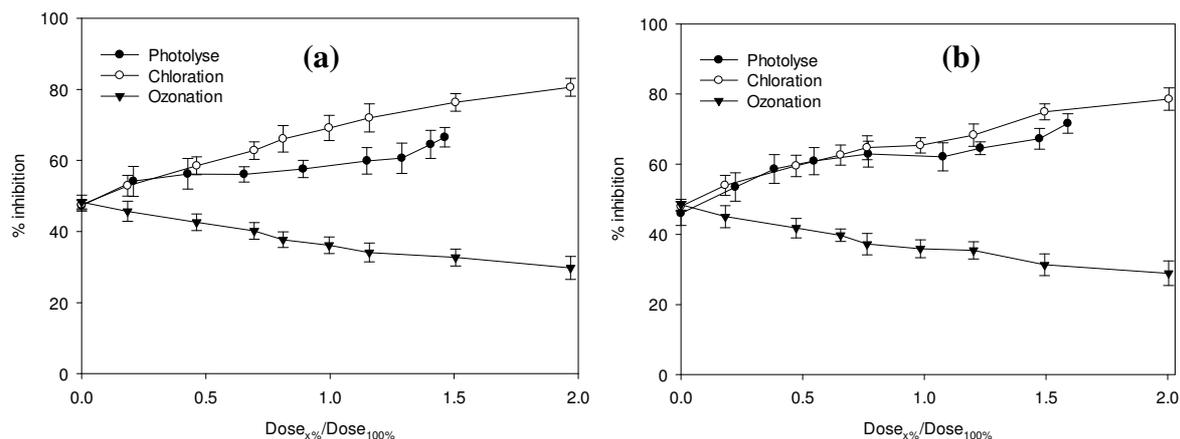
Il est important de noter qu'aucune différence n'a été observée entre les mécanismes de dégradation pour les deux  $\beta$ -tricétones lors de la chloration et de l'ozonation. Uniquement lors de la photolyse, une scission supplémentaire de la chaîne trifluoroéthoxyméthyl est observée dans le cas de TBT. Cette coupure formerait en présence de l'acide glutarique dans le milieu l'acide 2,2,2-trifluoroéthoxy acétique.

### ***Evolution de la toxicité***

Pour les deux composés étudiés, l'évolution des sous-produits formés a été comparée avec le suivi de la toxicité au cours de la photolyse, de la chloration et de l'ozonation.

Les valeurs initiales d' $EC_{50}$  correspondant à la concentration en molécule pour 50 % d'inhibition de la luminescence de *Vibrio fischeri* ont été de 4,5 mg.L<sup>-1</sup> pour SCT et 9 mg/L pour TBT. Ces valeurs sont très inférieures à celles obtenues dans la littérature en présence de tampon phosphate. Les essais réalisés au laboratoire ont montré que la présence de tampon phosphate interférait fortement sur l'inhibition de la bioluminescence conduisant à une minimisation de la toxicité des tricétones.

La figure 2 représente l'évolution de la toxicité des solutions de pesticides en fonction de la dose d'oxydant ou d'irradiation lumineuse appliquée. Lors de la photolyse, une augmentation de la toxicité a été observée pour les deux  $\beta$ -tricétones (la tembotrione et la sulcotrione). Notamment l'inhibition de luminescence de *Vibrio fischeri* a augmenté de 50 % à 70% après disparition totale de la molécule initiale. Dans le cas de la chloration, une augmentation plus forte de la toxicité a été également notée et semble perdurer lorsque la majorité des sous-produits identifiés a été dégradée c'est-à-dire pour  $[HOCl]_{T,0}/[P]_{T,0} > 1,5$ . Les valeurs d'inhibition ont augmenté de 50 % à 80 % en présence d'un excès de chlore. Dans les deux cas, l'augmentation de la toxicité n'a pas pu être expliquée par la formation des sous-produits identifiés. Dans le cas de l'ozonation, une diminution de la toxicité a été observée tout au long de l'ozonation. Dans des conditions d'oxydation plus poussées ( $[O_3]_0/[P]_{T,0} > 1,5$ ), une diminution de la toxicité est observée en même temps qu'une dégradation de la majorité des sous-produits. Ce résultat suggère que les sous-produits formés se dégradent en composés moins toxiques au cours de l'ozonation. Dans tous les cas, une toxicité résiduelle est néanmoins observée après dégradation totale des composés. D'un point de vue toxicité, la tembotrione et la sulcotrione ont eu des comportements similaires. Le groupement (trifluoroéthoxy)méthyl de la tembotrione n'a pas eu d'impact sur le profil de toxicité.



**Figure 2 :** Evolution de la toxicité pour les différentes transformations (a) TBT et (b) SCT. La dose<sub>100%</sub> représente la dose d'oxydant ou d'irradiation lumineuse nécessaire pour atteindre un abattement de 100 % de la molécule initiale.

### Impact sur la biodégradabilité

La biodégradabilité des solutions a été suivie pour la photolyse et l'ozonation. Dans les deux cas, une augmentation de la biodégradabilité a été observée au cours des procédés de transformation. Comme pour la toxicité, la biodégradation des deux molécules est similaire, ce qui indique que la chaîne (trifluoroethoxy)methyl présente uniquement pour la tembotrione n'a aucun effet sur la biodégradabilité de la molécule.

Il est à noter que la toxicité perçue par le test avec *Vibrio fischeri* n'a pas été ressentie au niveau des mesures de biodégradabilité par une biomasse épuratoire microbienne.

En France, le traitement des pesticides par ozonation n'est pas autorisé sauf si il est couplé à un autre procédé, tel que la biodégradation par exemple. Dans le cas de la tembotrione et de la sulcotrione, le traitement par ozonation a favorisé leur biodégradation et donc l'efficacité de ce traitement.

### Conclusions

Cette étude a permis d'apporter des éléments de connaissances (constantes cinétiques, voies réactionnelles, toxicité, biodégradabilité) sur deux herbicides, la tembotrione et la sulcotrione dont l'utilisation croissante en France nécessite une meilleure identification du risque environnemental.

Les mécanismes de la littérature ont été complétés par la présence de nouveaux sous-produits observés en particulier grâce à des temps d'irradiation plus longs. Même si la toxicité

mesurée par le test *Vibrio fischeri* augmente tout au long de la photodégradation, la biodégradabilité des solutions, qui représente un aspect de leur persistance dans l'environnement aquatique naturel, augmente. Les produits de transformation obtenus par irradiation solaire sont donc globalement plus facilement biodégradables que les molécules initiales.

L'ensemble des études cinétiques ont montré une bonne élimination des composés  $\beta$ -tricétoniques par le chlore et l'ozone mais également par photolyse solaire si on considère que les temps de réaction sont plus longs dans le milieu naturel. Une forte réactivité de la tembotrione et de la sulcotrione vis-à-vis du chlore et de l'ozone a été observée. Si le chlore augmente la toxicité de ces pesticides, l'ozone quant à lui génère des produits de transformation moins toxiques. Pour compléter ce travail, une étude plus approfondie de l'impact de la matrice organique et inorganique de l'eau devrait être menée, en particulier pour les réactions de photolyse. De plus, des études pilotes réalisées sur des effluents pourraient être envisagées afin d'évaluer l'élimination de ces polluants au sein des filières de traitement des eaux et en particulier lorsque l'ozone est couplée à une filtration biologique. Une étude plus poussée de la toxicité en utilisant d'autres tests (i.e sur algues, poissons, crustacés, ...) en eau pure et en milieu naturel pourraient être envisagée.

Enfin, le renouveau de la chimie de synthèse conduit à l'émergence de nouveaux groupements fonctionnels qui seront probablement testés sur le synthon des  $\beta$ -tricétones. Ces groupements peuvent être très divers comme par exemple  $\text{SCF}_3$  ou  $\text{OCF}_3$ , et pourraient changer le comportement et la toxicité de ces molécules.

---

## **RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

---

## Références bibliographiques

---

- Acero, J.L., Benitez, F.J., Real, F.J., Maya, C., 2003. Oxidation of Acetamide Herbicides in Natural Waters by Ozone and by the Combination of Ozone/Hydrogen Peroxide: Kinetic Study and Process Modeling. *Ind. Eng. Chem. Res.* 42, 5762–5769.
- Acero, J.L., Piriou, P., von Gunten, U., 2005. Kinetics and mechanisms of formation of bromophenols during drinking water chlorination: assessment of taste and odor development. *Water Res.* 39, 2979–2993.
- Acero, J.L., Stemmler, K., von Gunten, U., 2000. Degradation Kinetics of Atrazine and Its Degradation Products with Ozone and OH Radicals: A Predictive Tool for Drinking Water Treatment. *Environ. Sci. Technol.* 34, 591 – 597.
- ACTA, 2011. Index phytosanitaire 47e édition - Association de coordination des Techniques Agricole.
- AFNOR NF EN ISO 11348-3, 1999. Determination of the Inhibitory Effect of Water Samples on the Light Emission of *Vibrio fischeri* (Luminescent Bacteria Test) - Part 3: Method Using Freezedried Bacteria. French Association for Standardization, 14 p.
- Agences de l'eau, 2013. Contamination des cours d'eau par les pesticides en 2011 - Service de l'Observation et des Statistiques. *Commis. Général Au Dév. Durable*.
- Agritox, 2013. Base de données sur les substances actives phytopharmaceutiques - La sulcotrione.
- Agritox, 2014. Base de données sur les substances actives phytopharmaceutiques - La tembotrione.
- Aieta, E.M., Berg, D.J., 1986. A review of chlorine dioxide in drinking water treatment. *Am Water Works Assoc* 78 (6), 62 – 72.
- Albert, A., Serjeant, E.P., 1984. The determination of ionization constants: a laboratory manual. Chapman and Hall.
- Andreozzi, R., Marotta, R., Pinto, G., Pollio, A., 2002. Carbamazepine in water: persistence in the environment, ozonation treatment and preliminary assessment on algal toxicity. *Water Res.* 36, 2869 – 2877.
- APHA, 1995. ALPHA, AWWA, WPCF Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 19th edition.
- Armesto, X.L., Canle, L. M., Fernández, M.I., García, M.V., Santaballa, J.A., 2000. First Steps in the Oxidation of Sulfur-Containing Amino Acids by Hypohalogenation: Very Fast Generation of Intermediate Sulfenyl Halides and Halosulfonium Cations. *Tetrahedron* 56, 1103–1109.
- Arotsky, J., Symons, M.C.R., 1962. Halogen cations. *Q. Rev. Chem. Soc.* 16, 282–297.
- Bader, H., Hoigné, J., 1981. Determination of ozone in water by the indigo method. *Water Res.* 15, 449–456.

- Bader, H., Hoigne, J., 1982. Determination of ozone – Mechanisms in aqueous media, in: *Ozone in Water and Wastewater Treatment*. pp. 29–59.
- Baer, U., Calvet, R., 1999. Fate of Soil Applied Herbicides: Experimental Data and Prediction of Dissipation Kinetics. *J. Environ. Qual.* 28, 1765.
- Baig, S., Mouchet, P., 2010. Oxydation et réduction appliquées au traitement de l'eau ; Ozone – autres oxydants – Oxydation avancée – Réducteurs. *Techniques de l'ingénieur*.
- Bailey, P., 1972. Organic grouping reactive toward ozone-mechanisms in aqueous media, in: *Ozone in Water and Wastewater Treatment*. Science Publishers Inc, pp. 29–59.
- Bailey, P.S., Carter, T.P., Southwick, L.M., 1972. Ozonation of amines. VI. Primary amines. *J. Org. Chem.* 37, 2997–3004.
- Barchanska, H., Kowalska, A., Poloczek, B., 2014. Extraction procedures for the study of phytotoxicity and degradation processes of selected triketones in a water ecosystem. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 21, 4751–4758.
- Barta, I.C., Böger, P., 1996. Purification and Characterization of 4-Hydroxyphenylpyruvate Dioxygenase from Maize. *Pestic. Sci.* 48, 109–116.
- Batissou, I., Crouzet, O., Besse-Hoggan, P., Sancelme, M., Mangot, J.-F., Mallet, C., Bohatier, J., 2009. Isolation and characterization of mesotrione-degrading *Bacillus* sp. from soil. *Environ. Pollut.* 157, 1195–1201.
- Battersby, N.S., 1990. A review of biodegradation kinetics in the aquatic environment. *Chemosphere* 1243–1284.
- Beaudegnies, R., Edmunds, A.J.F., Fraser, T.E.M., Hall, R.G., Hawkes, T.R., Mitchell, G., Schaezter, J., Wendeborn, S., Wibley, J., 2009. Herbicidal 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase inhibitors - A review of the triketone chemistry story from a Syngenta perspective. *Bioorg. Med. Chem.* 17, 4134–4152.
- Bedding, N.D., McIntyre, A.E., Perry, R., Lester, J.N., 1982. Organic contaminants in the aquatic environment I. Sources and occurrence. *Sci. Total Environ.* 25, 143–167.
- Bedding, N.D., McIntyre, A.E., Perry, R., Lester, J.N., 1983. Organic contaminants in the aquatic environment II. Behaviour and fate in the hydrological cycle. *Sci. Total Environ.* 26, 255–312.
- Bending, G.D., Lincoln, S.D., Edmondson, R.N., 2006. Spatial variation in the degradation rate of the pesticides isoproturon, azoxystrobin and diflufenican in soil and its relationship with chemical and microbial properties. *Environ. Pollut. Barking Essex* 1987. 139, 279–287.
- Benitez, F.J., Real, F.J., Acero, J.L., Garcia, C., 2007. Kinetics of the transformation of phenyl-urea herbicides during ozonation of natural waters: rate constants and model predictions. *Water Res.* 41, 4073–4084.
- Beraud, J.M., Claument, J., Montury, A., 1991. ICIA0051, a new herbicide for the control of annual weeds in maize. *Proc. Brighton Crop Prot. Conf. Weeds U. K.*
- Block, J.C., Haudidier, K., Paquin, J.L., Miazga, J., Levi, Y., 1993. Biofilm accumulation in drinking water distribution systems. *Biofouling* 6, 333–343.

- Böger, P., 1996. Mode of action of herbicides affecting carotenogenesis. *Nippon Noyaku Gakkaishi* 21, 473–478.
- Bois, F.Y., Fahmy, T., Block, J.-C., Gatel, D., 1997. Dynamic modeling of bacteria in a pilot drinking-water distribution system. *Water Res.* 31, 3146–3156.
- Bonnet, J.L., Bonnemoy, F., Dusser, M., Bohatier, J., 2008. Toxicity assessment of the herbicides sulcotrione and mesotrione toward two reference environmental microorganisms: *Tetrahymena pyriformis* and *Vibrio fischeri*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 55, 576–583.
- Bourgine, F., Chapman, J., Martin, S., 1997. Traitement des pesticides par photolyse UV : Les aspects scientifiques du traitement de l'eau en vue de sa potabilisation. *TSM Tech. Sci. Méthodes Génie Urbain Génie Rural* 23–29.
- Boyce, S.D., Hornig, J.F., 1983. Reaction pathways of trihalomethane formation from the halogenation of dihydroxyaromatic model compounds for humic acid. *Environ. Sci. Technol.* 17, 202–211.
- Boyd, R.A., 2000. Herbicides and herbicide degradates in shallow groundwater and the Cedar River near a municipal well field, Cedar Rapids, Iowa. *Sci. Total Environ.* 248, 241–253.
- Braun, A.M., Maurette, M.T., Oliveros, E., 1986. *Technologie Photochimique*. Presses Polytechniques Romandes, Lausanne.
- Brownlee, J.M., Johnson-Winters, K., Harrison, D.H.T., Moran, G.R., 2004. Structure of the ferrous form of (4-hydroxyphenyl)pyruvate dioxygenase from *Streptomyces avermitilis* in complex with the therapeutic herbicide, NTBC. *Biochemistry (Mosc.)* 43, 6370–6377.
- Burrows, H.D., Canle, L.M., Santaballa, J.A., Steenken, S., 2002. Reaction pathways and mechanisms of photodegradation of pesticides. *J. Photochem. Photobiol. B* 67, 71–108.
- Burttschell, R., Rosen, A.A., Middleton, F.M., Ettinger, M., 1959. Chlorine derivatives of phenol causing tastes and odors. *J.A.W.W.A* 51, 205–214.
- Buxton, G.V., Greenstock, C.L., Helman, P.W., Ross, A.B., 1988. Critical Review of Rate Constants for Reactions of Hydrated Electrons, Hydrogen Atoms and Hydroxyl Radicals ( $^{\circ}\text{OH}/^{\circ}\text{O}$ -) in Aqueous Solution. *J. Phys. Chem. Ref. Data* 513–886.
- Calvayrac, C., Bontemps, N., Nouga-Bissoué, A., Romdhane, S., Coste, C.-M., Cooper, J.-F., 2013. Photolysis of tembotrione and its main by-products under extreme artificial conditions: Comparison with another  $\beta$ -triketone herbicide. *Sci. Total Environ.* 452–453, 227–232.
- Calvayrac, C., Martin-Laurent, F., Faveaux, A., Picault, N., Panaud, O., Coste, C.-M., Chaabane, H., Cooper, J.-F., 2012. Isolation and characterisation of a bacterial strain degrading the herbicide sulcotrione from an agricultural soil. *Pest Manag. Sci.* 68, 340–347.
- Calvayrac, C., Romdhane, S., Barthelmebs, L., Rocaboy, E., Cooper, J.-F., Bertrand, C., 2014. Growth abilities and phenotype stability of a sulcotrione-degrading *Pseudomonas* sp. isolated from soil. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 91, 104–110.

- Calvet, R., Barriuso, E., Bedos, C., Benoit, P., Charnay, M.-P., Coquet, Y., 2005. Les pesticides dans le sol: conséquences agronomiques et environnementales. France Agricole Editions.
- Carlson, K., Amy, G., 1997. The Formation of Filter-Removable Biodegradable Organic Matter During Ozonation. *Ozone Sci. Eng.* 19, 179–199.
- Carson, R., Lear, L., Wilson, E.O., 2002. *Silent Spring*, Anniversary ed. Houghton Mifflin Company, Boston.
- Cecen, F., Aktas, Ö., 2011. *Activated Carbon for Water and Wastewater Treatment: Integration of Adsorption and Biological Treatment*. John Wiley & Sons.
- Chaabane, H., Cooper, J.-F., Azouzi, L., Coste, C.-M., 2005. Influence of soil properties on the adsorption-desorption of sulcotrione and its hydrolysis metabolites on various soils. *J. Agric. Food Chem.* 53, 4091–4095.
- Chaabane, H., Vulliet, E., Calvayrac, C., Coste, C.-M., Cooper, J.-F., 2008. Behaviour of sulcotrione and mesotrione in two soils. *Pest Manag. Sci.* 64, 86–93.
- Chaabane, H., Vulliet, E., Joux, F., Lantoine, F., Conan, P., Cooper, J.-F., Coste, C.-M., 2007. Photodegradation of sulcotrione in various aquatic environments and toxicity of its photoproducts for some marine micro-organisms. *Water Res.* 41, 1781–1789.
- Cherney, D.P., Duirk, S.E., Tarr, J.C., Collette, T.W., 2006. Monitoring the speciation of aqueous free chlorine from pH 1 to 12 with Raman spectroscopy to determine the identity of the potent low-pH oxidant. *Appl. Spectrosc.* 60, 764–772.
- Cherrier, R., Boivin, A., Perrin-Ganier, C., Schiavon, M., 2005. Comparison of the leaching behaviour of two maize herbicides: atrazine and sulcotrione. *Agron. Sustain. Dev.* 25, 293–299.
- Chiron, S., Fernandez-Alba, A., Rodriguez, A., Garcia-Calvo, E., 2000. Pesticide chemical oxidation: state-of-the-art. *Water Res.* 34, 366–377.
- Christoph, F., Kaulfers, P.M., Stahl-Biskup, E., 2000. A comparative study of the in vitro antimicrobial activity of tea tree oils with special reference to the activity of beta-triketones. *Planta Med.* 66, 556–560.
- Christoph, F., Kaulfers, P.M., Stahl-Biskup, E., 2001. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of -triketones admixed to Melaleuca oils. *E. Plant Med* 768–771.
- CLH, 2012. Proposal for harmonised classification and labelling for Tembotrione. Annex VI. Part 2.
- Comoretto, L., Arfib, B., Chiron, S., 2007. Pesticides in the Rhône river delta (France): Basic data for a field-based exposure assessment. *Sci. Total Environ.* 380, 124–132.
- Compagnon, J.M., Beraud, J.M., 1992. Journées Internationales sur la lutte contre les mauvaises herbes. Versailles, France, pp. 351–356.
- Cools, K., Bulcke, R., Debussche, B., Callens, D., 1999. Response of replacement crops to soil-applied sulcotrione. *Meded. - Fac. Landbouwk. En Toegepaste Biol. Wet. Univ. Gent Belg.*

- Cooper, W.J., Zika, R.G., 1983. Photochemical Formation of Hydrogen Peroxide in Surface and Ground Waters Exposed to Sunlight. *Science* 220, 711–712.
- David Yao, C.C., Haag, W.R., 1991. Rate constants for direct reactions of ozone with several drinking water contaminants. *Water Res.* 25, 761–773.
- Dayan, F.E., Duke, S.O., Sauldubois, A., Singh, N., McCurdy, C., Cantrell, C., 2007. p-Hydroxyphenylpyruvate dioxygenase is a herbicidal target site for  $\beta$ -triketones from *Leptospermum scoparium*. *Phytochemistry* 68, 2004–2014.
- Deborde, M., Rabouan, S., Gallard, H., Legube, B., 2004. Aqueous chlorination kinetics of some endocrine disruptors. *Environ. Sci. Technol.* 38, 5577–5583.
- Deborde, M., von Gunten, U., 2008. Reactions of chlorine with inorganic and organic compounds during water treatment—Kinetics and mechanisms: A critical review. *Water Res.* 42, 13–51.
- Decoret, C., Royer, J., Legube, B., Dore, M., 1984. Experimental and theoretical studies of the mechanism of the initial attack of ozone on some aromatics in aqueous medium. *Environ. Technol. Lett.* 5, 207–218.
- De Laat, J., Merlet, N., Dore, M., 1982. Chloration de composés organiques : Demande en chlore et reactivite vis-a-vis de la formation en trihalomethanes. *Water Res.* 16, 1437–1450.
- De la Mare, P.B.D., 1974. Pathways in electrophilic aromatic substitutions. Cyclohexadienes and related compounds as intermediates in halogenation. *Acc. Chem. Res.* 7, 361–368.
- Dickenson, E.R.V., Summers, R.S., Croué, J.-P., Gallard, H., 2008. Haloacetic acid and trihalomethane formation from the chlorination and bromination of aliphatic beta-dicarbonyl acid model compounds. *Environ. Sci. Technol.* 42, 3226–3233.
- Dodd, M.C., Huang, C.-H., 2007. Aqueous chlorination of the antibacterial agent trimethoprim: reaction kinetics and pathways. *Water Res.* 41, 647–655.
- Doré, M., 1989. *Chimie des oxydants et traitement des eaux*, Edition Technique et Documentation, Lavoisier. ed. Paris.
- Doré, M., Legube, B., 1983. Mécanisme d'action de l'ozone sur les composés aromatiques simples. *J. Fr. D'hydrologie* 14, 11–30.
- Doublet, J., Mamy, L., Barriuso, E., 2009. Delayed degradation in soil of foliar herbicides glyphosate and sulcotrione previously absorbed by plants: Consequences on herbicide fate and risk assessment. *Chemosphere* 77, 582–589.
- Draper, W.M., Crosby, D.G., 1983. The photochemical generation of hydrogen peroxide in natural waters. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 12, 121–126.
- Drozdź, R., Naskalski, J.W., Sznajd, J., 1988. Oxidation of amino acids and peptides in reaction with myeloperoxidase, chloride and hydrogen peroxide. *Biochim. Biophys. Acta* 957, 47–52.
- Dulin, D., Mill, T., 1982. Development and evaluation of sunlight actinometers. *Environ. Sci. Technol.* 16, 815–820.

- Durand, S., Amato, P., Sancelme, M., Delort, A.-M., Combourieu, B., Besse-Hoggan, P., 2006a. First isolation and characterization of a bacterial strain that biotransforms the herbicide mesotrione. *Lett. Appl. Microbiol.* 43, 222–228.
- Durand, S., Légeret, B., Martin, A.-S., Sancelme, M., Delort, A.-M., Besse-Hoggan, P., Combourieu, B., 2006b. Biotransformation of the triketone herbicide mesotrione by a *Bacillus* strain. Metabolite profiling using liquid chromatography/electrospray ionization quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* RCM 20, 2603–2613.
- Durand, S., Sancelme, M., Besse-Hoggan, P., Combourieu, B., 2010. Biodegradation pathway of mesotrione: Complementarities of NMR, LC–NMR and LC–MS for qualitative and quantitative metabolic profiling. *Chemosphere* 81, 372–380.
- Dyson, J.S., Beulke, S., Brown, C.D., Lane, M.C.G., 2002. Adsorption and degradation of the weak acid mesotrione in soil and environmental fate implications. *J. Environ. Qual.* 31, 613–618.
- ECHA, 2011. Opinion proposing harmonised classification and labelling at community level of sulcotrione.
- ECHA, 2013. Committee for Risk Assessment RAC. Annex 2: Response to comments document (RCOM) to the Opinion proposing harmonised classification and labelling at EU level of Tembotrione.
- EFSA, 2008. Conclusion regarding the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance sulcotrione. *EFSA Sci. Rep.* 150, 1–86.
- EFSA, 2013. Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance tembotrione. *EFSA J.* 11, 3131.
- Ellis, M.K., Whitfield, A.C., Gowans, L.A., Auton, T.R., Provan, W.M., Lock, E.A., Smith, L.L., 1995. Inhibition of 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase by 2-(2-nitro-4-trifluoromethylbenzoyl)-cyclohexane-1,3-dione and 2-(2-chloro-4-methanesulfonylbenzoyl)-cyclohexane-1,3-dione. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 133, 12–19.
- Elovitz, M.S., von Gunten, U., 1999. Hydroxyl Radical/Ozone Ratios During Ozonation Processes. I. The Rct Concept. *Ozone Sci. Eng.* 21, 239–260.
- Engel, C., Lheureux, F., Pietrantoni, B., Renard, V., 2007. O-10: a new broad spectrum herbicide (grass weeds and broad-leaved weeds) for the post-emergence weeding in maize and sweet maize. *Association Nationale pour la Protection des Plantes (ANPP)*, pp. 791–801.
- EPA, 2007. Tembotrione Fact Sheet - Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances. United States Environmental Protection Agency.
- Escobar, I.C., Randall, A.A., 2001. Assimilable organic carbon (AOC) and biodegradable dissolved organic carbon (BDOC): complementary measurements. *Water Res.* 35, 4444–4454.
- Faust, S., Hunter, J., 1971. *Organic compound in aquatic environments*. Marcel Dekker Inc., New York.

- Floesser-Mueller, H., Schwack, W., 2001. Photochemistry of Organophosphorus Insecticides, in: Ware, D.G.W. (Ed.), *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, Reviews of Environmental Contamination and Toxicology. Springer New York, pp. 129–228.
- Flyunt, R., Makogon, O., Schuchmann, M., Asmus, K.-D., von Sonntag, C., 2001. The OH radical induced oxidation of methanesulfinic acid. The reactions of the methylsulfonyl radical in the absence and presence of dioxygen. *J Chem Soc* 787–792.
- Folkes, L.K., Candeias, L.P., Wardman, P., 1995. Kinetics and Mechanisms of Hypochlorous Acid Reactions. *Arch. Biochem. Biophys.* 323, 120–126.
- Freitas, L.G., Götz, C.W., Ruff, M., Singer, H.P., Müller, S.R., 2004. Quantification of the new triketone herbicides, sulcotrione and mesotrione, and other important herbicides and metabolites, at the ng/l level in surface waters using liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1028, 277–286.
- Freitas, L.G., Singer, H., Müller, S.R., Schwarzenbach, R.P., Stamm, C., 2008. Source area effects on herbicide losses to surface waters—A case study in the Swiss Plateau. *Agric. Ecosyst. Environ.* 128, 177–184.
- Galal-Gorchev, H., 1996. Chlorine in water disinfection. *Pure Appl. Chem.* 68, 1731–1735.
- Gallard, H., Leclercq, A., Croué, J.-P., 2004. Chlorination of bisphenol A: kinetics and by-products formation. *Chemosphere* 56, 465–473.
- Gallard, H., von Gunten, U., 2002. Chlorination of natural organic matter: kinetics of chlorination and of THM formation. *Water Res.* 36, 65–74.
- Gallard, H., von Gunten, U., 2002. Chlorination of phenols: kinetics and formation of chloroform. *Environ. Sci. Technol.* 36, 884–890.
- Gatzweiler, E., Krähmer, H., Hacker, E., Hills, M., Trabold, K., Bofing-Picard, G., 2012. Weed spectrum and selectivity of tembotrione under varying environmental conditions. *Julius-Kühn-Arch.*
- Glaze, W.H., 1987. Drinking-water treatment with ozone. *Environ. Sci. Technol.* 21, 224–230.
- Gray, R., Tseng, C., Rusay, R., 1978. 1-hydroxy-z-(alkylketo)-4,4,6,6-etracyclohexen-3,5-diones. United States Patent , 19.
- Grossmann, K., Ehrhardt, T., 2007. On the mechanism of action and selectivity of the corn herbicide topramezone: a new inhibitor of 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase. *Pest Manag. Sci.* 63, 429–439.
- Haag, W.R., Hoigné, J., 1985. Photo-sensitized oxidation in natural water via OH radicals. *Chemosphere* 14, 1659–1671.
- Hamdi El Najjar, N., Touffet, A., Deborde, M., Journal, R., Leitner, N.K.V., 2013. Levofloxacin oxidation by ozone and hydroxyl radicals: Kinetic study, transformation products and toxicity. *Chemosphere* 93, 604–611.
- Hammes, F., Salhi, E., Köster, O., Kaiser, H.-P., Egli, T., von Gunten, U., 2006. Mechanistic and kinetic evaluation of organic disinfection by-product and assimilable organic

- carbon (AOC) formation during the ozonation of drinking water. *Water Res.* 40, 2275–2286.
- Harris, J., 1990. Rate of photolysis, in: *Handbook of Chemical Property Estimation Method*. American Chemical Society, 1–40.
- Hawkes, T.R., Edmunds, A.J.F., Van Amsick, A., 2007. *Herbicides with Bleaching Properties*. Weinheim, Germany, pp. 211–257.
- Hawkins, C.L., Pattison, D.I., Davies, M.J., 2003. Hypochlorite-induced oxidation of amino acids, peptides and proteins. *Amino Acids* 25, 259–274.
- Helbling, D.E., Hollender, J., Kohler, H.-P.E., Singer, H., Fenner, K., 2010. High-Throughput Identification of Microbial Transformation Products of Organic Micropollutants. *Environ. Sci. Technol.* 44, 6621–6627.
- Hellyer, R., 1968. The occurrence of  $\beta$ -triketones in the steam-volatile oils of some myrtaceous Australian plants. *Aust. J. Chem.* 21, 2825–2828.
- Hladik, M.L., Hsiao, J.J., Roberts, A.L., 2005. Are neutral chloroacetamide herbicide degradates of potential environmental concern? Analysis and occurrence in the upper Chesapeake Bay. *Environ. Sci. Technol.* 39, 6561–6574.
- Hoigné, J., Bader, H., 1976. The role of hydroxyl radical reactions in ozonation processes in aqueous solutions. *Water Res.* 10, 377–386.
- Hoigné, J., Bader, H., 1983a. Rate constants of reactions of ozone with organic and inorganic compounds in water—I: Non-dissociating organic compounds. *Water Res.* 17, 173–183.
- Hoigné, J., Bader, H., 1983b. Rate constants of reactions of ozone with organic and inorganic compounds in water—II: Dissociating organic compounds. *Water Res.* 17, 185–194.
- Hoigné, J., Bader, H., Haag, W.R., Staehelin, J., 1985. Rate constants of reactions of ozone with organic and inorganic compounds in water—III. Inorganic compounds and radicals. *Water Res.* 19, 993–1004.
- Horsak, R.D., Bedient, P.B., Hamilton, M.C., Thomas, F.B., 2005. 8 - Pesticides, in: Murphy, R.D.M.L. (Ed.), *Environmental Forensics*. Academic Press, Burlington, p. 143–165.
- Huang, W.-J., Fang, G.-C., Wang, C.-C., 2005. The determination and fate of disinfection by-products from ozonation of polluted raw water. *Sci. Total Environ.* 345, 261–272.
- Huber, M.M., Canonica, S., Park, G.-Y., von Gunten, U., 2003. Oxidation of Pharmaceuticals during Ozonation and Advanced Oxidation Processes. *Environ. Sci. Technol.* 37, 1016–1024.
- INERIS, 2014. Normes de qualité environnementale - Sulcotrione.
- Isaksson, E., Hermanson, M., Hicks, S., Igarashi, M., Kamiyama, K., Moore, J., Motoyama, H., Muir, D., Pohjola, V., Vaikmäe, R., van de Wal, R.S.W., Watanabe, O., 2003. Ice cores from Svalbard—useful archives of past climate and pollution history. *Phys. Chem. Earth Parts, The changing physical environment of Ny-Alesund Svalbard* 28, 1217–1228.

- ISO 7827-1984, n.d. Qualité de l'eau -- Évaluation en milieu aqueux de la biodégradabilité aérobie "ultime" des composés organiques -- Méthode par analyse du carbone organique dissous (COD).
- Jović, M., Manojlović, D., Stanković, D., Dojčinović, B., Obradović, B., Gašić, U., Roglić, G., 2013. Degradation of triketone herbicides, mesotrione and sulcotrione, using advanced oxidation processes. *J. Hazard. Mater.* 260, 1092–1099.
- Kaiser, K.L., Palabrica, V., 1991. Photobacterium phosphoreum Toxicity Data Index. *Water Poll Res J Can.* 26, 361–431.
- Karpel Vel Leitner, N., Fu, H., 2005. pH effects on catalytic ozonation of carboxylic acids with metal on metal oxides catalysts. *Top. Catal.* 33, 249–256.
- Katsoyiannis, I.A., Canonica, S., von Gunten, U., 2011. Efficiency and energy requirements for the transformation of organic micropollutants by ozone, O<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *Water Res.* 45, 3811–3822.
- Kennedy, K., Devlin, M., Bentley, C., Lee-Chue, K., Paxman, C., Carter, S., Lewis, S.E., Brodie, J., Guy, E., Vardy, S., Martin, K.C., Jones, A., Packett, R., Mueller, J.F., 2012. The influence of a season of extreme wet weather events on exposure of the World Heritage Area Great Barrier Reef to pesticides. *Mar. Pollut. Bull.* 64, 1495–1507.
- Kim, J.S., Kim, T.J., Kwon, O.K., Cho, K.Y., 2001. Mechanism of action of sulcotrione in mature plant tissues. Presented at the The BCPC Conference: Weeds, 2001, Volume 1 and Volume 2. Proceedings of an international conference held at the Brighton Hilton Metropole Hotel, Brighton, UK. British Crop Protection Council, pp. 557–562.
- Klaning, U.K., Sehested, K., Holcman, J., 1985. Standard Gibbs energy of formation of the hydroxyl radical in aqueous solution. Rate constants for the reaction chlorite (ClO<sub>2</sub><sup>-</sup>) + ozone .dblarw. ozone(1-) + chlorine dioxide. *J. Phys. Chem.* 89, 760–763.
- Knauer, K., Hommen, U., 2013. Environmental quality standards for mixtures: a case study with a herbicide mixture tested in outdoor mesocosms. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 89, 196–203.
- Kreuger, J., 1998. Pesticides in stream water within an agricultural catchment in southern Sweden, 1990-1996. *Sci. Total Environ.* 216, 227–251.
- Kumar, K., Margerum, D.W., 1987. Kinetics and mechanism of general-acid-assisted oxidation of bromide by hypochlorite and hypochlorous acid. *Inorg. Chem.* 26, 2706–2711.
- Larochelle, J., Alvarez, F., Bussièrès, J.-F., Chevalier, I., Dallaire, L., Dubois, J., Faucher, F., Fenyves, D., Goodyer, P., Grenier, A., Holme, E., Laframboise, R., Lambert, M., Lindstedt, S., Maranda, B., Melançon, S., Merouani, A., Mitchell, J., Parizeault, G., Pelletier, L., Phan, V., Rinaldo, P., Scott, C.R., Scriver, C., Mitchell, G.A., 2012. Effect of nitisinone (NTBC) treatment on the clinical course of hepatorenal tyrosinemia in Québec. *Mol. Genet. Metab.* 107, 49–54.
- Larson, R.A., Weber, E.J., 1994. *Reaction Mechanisms in Environmental Organic Chemistry.* CRC Press.
- Leake, C., Diot, R., Glass, H., Newby, S., Semino, G., Tarara, G., Wegman, T., 2009. The human and environmental safety aspects of tembotrione. *Bayer Crop. J.* 53–62.

- LeChevallier, M.W., Cawthon, C.D., Lee, R.G., 1988. Factors promoting survival of bacteria in chlorinated water supplies. *Appl. Environ. Microbiol.* 54, 649–654.
- Lee, D.L., Knudsen, C.G., Michaely, W.J., Chin, H.-L., Nguyen, N.H., Carter, C.G., Cromartie, T.H., Lake, B.H., Shribbs, J.M., Fraser, T., 1998. The structure–activity relationships of the triketone class of HPPD herbicides. *Pestic. Sci.* 54, 377–384.
- Lee, G.F., Morris, J.C., 1962. Kinetics of chlorination of phenol – chlorophenolic tasted and odors. *Int. J. Air Water Pollut.* 6, 419–431.
- Legube, B., Guyon, S., Sugimitsu, H., Dore, M., 1983. Ozonation of Some Aromatic Compounds in Aqueous Solution: Styrene, Benzaldehyde, Naphthalene, Diethylphthalate, Ethyl and Chloro Benzenes. *Ozone Sci. Amp Eng.* 5, 151–170.
- Leifer, A., 1988. The kinetics of environmental aquatic photochemistry: theory and practice. American Chemical Society.
- Levanon, D., 1993. Roles of fungi and bacteria in the mineralization of the pesticides atrazine, alachlor, malathion and carbofuran in soil. *Soil Biol. Biochem.* 1097–1105.
- Li, B., Zhang, T., 2012. pH significantly affects removal of trace antibiotics in chlorination of municipal wastewater. *Water Res.* 46, 3703–3713.
- Lindstedt, S., Holme, E., Lock, E.A., Hjalmarson, O., Strandvik, B., 1992. Treatment of hereditary tyrosinaemia type I by inhibition of 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase. *Lancet* 340, 813–817.
- Lock, E.A., Gaskin, P., Ellis, M., Provan, W.M., Smith, L.L., 2006. Tyrosinemia produced by 2-(2-nitro-4-trifluoromethylbenzoyl)-cyclohexane-1,3-dione (NTBC) in experimental animals and its relationship to corneal injury. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 215, 9–16.
- Lopez, A., Mascolo, G., Tiravanti, G., Santori, M., Passino, R., 1994. Oxidation of sulfur-containing s-triazines during groundwater hypochlorination. *Water Sci Technol* 30, 53–59.
- Mamy, L., Barriuso, E., Gabrielle, B., 2005. Environmental fate of herbicides trifluralin, metazachlor, metamiltron and sulcotrione compared with that of glyphosate, a substitute broad spectrum herbicide for different glyphosate-resistant crops. *Pest Manag. Sci.* 61, 905–916.
- Mansour, M., Thaller, S., Korte, F., 1983. Action of sunlight on parathion. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 30, 358–364.
- Masschelein, W., Fransolet, G., 1977. Spectrophotometric Determination of Residual Ozone in Water With ACVK. *J. Am. Water Works Assoc.* 69, 461–462.
- Mayonado, D.J., Hatzios, K.K., Orcutt, D.M., Wilson, H.P., 1989. Evaluation of the mechanism of action of the bleaching herbicide SC-0051 by HPLC analysis. *Pestic. Biochem. Physiol.* 35, 138–145.
- Michaely, W.J., Kratz, G.W., 1986. Certain 2-(2-substituted benoyl)-1,3-cyclohexanedione. *Eur. Patent Appl.* 0135191.
- Mill, T., Hendry, D.G., Richardson, H., 1980. Free-radical oxidants in natural waters. *Science* 207, 886–887.

- Mitchell, G., Bartlett, D.W., Fraser, T.E., Hawkes, T.R., Holt, D.C., Townson, J.K., Wichert, R.A., 2001. Mesotrione: a new selective herbicide for use in maize. *Pest Manag. Sci.* 57, 120–128.
- Mizuno, T., Tsuno, H., 2010. Evaluation of Solubility and the Gas-Liquid Equilibrium Coefficient of High Concentration Gaseous Ozone to Water. *Ozone Sci. Eng.* 32, 3–15.
- Montiel, A.J., 1980. Les halométhanés dans l'eau : formation et élimination. CIFEC, Paris.
- Moran, G.R., 2005. 4-Hydroxyphenylpyruvate dioxygenase. *Arch. Biochem. Biophys.* 433, 117–128.
- Morris, J.C., 1978. The chemistry of aqueous chlorine in relation to water chlorination., in: *Water Chlorination: Environmental Impact and Health Effects*. Ann Arbor Science Publishers, Michigan.
- Morris, J.C., 1986. Aqueous chlorine in treatment of water supplies, in: *Organic Carcinogens in Drinking Water: Detection, Treatment and Risk Assessment*. Wiley, New York, pp. 33–54.
- Moschet, C., Wittmer, I., Simovic, J., Junghans, M., Piazzoli, A., Singer, H., Stamm, C., Leu, C., Hollender, J., 2014. How a Complete Pesticide Screening Changes the Assessment of Surface Water Quality. *Environ. Sci. Technol.* 48, 5423–5432.
- Muñoz, F., Mvula, E., Braslavsky, S.E., Sonntag, C. von, 2001. Singlet dioxygen formation in ozone reactions in aqueous solution. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* 1109–1116.
- Murati, M., Oturan, N., Aaron, J.-J., Dirany, A., Tassin, B., Zdravkovski, Z., Oturan, M.A., 2012. Degradation and mineralization of sulcotrione and mesotrione in aqueous medium by the electro-Fenton process: a kinetic study. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 19, 1563–1573.
- Nagy, J.C., Kumar, K., Margerum, D.W., 1988. Non-metal kinetics: Oxidation of iodide by hypochlorous acid and nitrogen trichloride measured by the pulsed accelerated flow method. *Inorg. Chem.* 2773–2780.
- Nicole, I., De Laat, J., Dore, M., Duguet, J.P., Bonnel, C., 1990. Utilisation du rayonnement ultraviolet dans le traitement des eaux: mesure du flux photonique par actinométrie chimique au peroxyde d'hydrogène. *Water Res.* 24, 157–168.
- OCDE, 2013. Essai n° 301: Biodégradabilité facile. Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris.
- OECD 301D, 1992. Guidelines for Testing of Chemicals. Closed Bottle Test. Organisation of Economic Cooperation and Development, Paris.
- Owens, D.K., Nanayakkara, N.P.D., Dayan, F.E., 2013. In planta mechanism of action of leptosperone: impact of its physico-chemical properties on uptake, translocation, and metabolism. *J. Chem. Ecol.* 39, 262–270.
- Pallett, K.E., Cramp, S.M., Little, J.P., Veerasekaran, P., Crudace, A.J., Slater, A.E., 2001. Isoxaflutole: the background to its discovery and the basis of its herbicidal properties. *Pest Manag. Sci.* 57, 133–142.

- Pattison, D.I., Davies, M.J., 2001. Absolute rate constants for the reaction of hypochlorous acid with protein side chains and peptide bonds. *Chem. Res. Toxicol.* 14, 1453–1464.
- Perrin, D., Dempsey, B., Serjeant, E., 1981. *pKa Prediction for Organic Acids and Bases*, Chapman & Hall. ed. New York.
- Pinkston, K.E., Sedlak, D.L., 2004. Transformation of Aromatic Ether- and Amine-Containing Pharmaceuticals during Chlorine Disinfection. *Environ. Sci. Technol.* 38, 4019–4025.
- Postle, J.K., Rheineck, B.D., Allen, P.E., Baldock, J.O., Cook, C.J., Zogbaum, R., VandenBrook, J.P., 2004. Chloroacetanilide Herbicide Metabolites in Wisconsin Groundwater: 2001 Survey Results. *Environ. Sci. Technol.* 38, 5339–5343.
- Prisbylla, M.P., Onisko, B.C., Shribbs, J.M., Adams, D.O., Liu, Y., Ellis, M.K., Hawkes, T.R., Mutter, L.C., 1993. The novel mechanism of action of the herbicidal triketones. *Proc. Brighton Crop Prot. Conf. Weeds U. K.*
- Pronicka, E., Rowinska, E., Bentkowski, Z., Zawadzki, J., Holme, E., Lindstedt, S., 1996. Treatment of two children with hereditary tyrosinaemia type I and long-standing renal disease with a 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase inhibitor (NTBC). *J. Inherit. Metab. Dis.* 19, 234–238.
- Prütz, W.A., 1998. Reactions of hypochlorous acid with biological substrates are activated catalytically by tertiary amines. *Arch. Biochem. Biophys.* 357, 265–273.
- Pryor, W.A., Giamalva, D.H., Church, D.F., 1984. Kinetics of ozonation. 2. Amino acids and model compounds in water and comparisons to rates in nonpolar solvents. *J. Am. Chem. Soc.* 106, 7094–7100.
- Rabasso, N., 2011. *Chimie organique: généralités, études des grandes fonctions et méthodes spectroscopiques*, 2e édition. ed. Edition de Bock, Bruxelles.
- Rebenne, L.M., Gonzalez, A.C., Olson, T.M., 1996. Aqueous Chlorination Kinetics and Mechanism of Substituted Dihydroxybenzenes. *Environ. Sci. Technol.* 30, 2235–2242.
- Reddy, K.N., Bhowmik, P.C., 1991. ICIA-0051 for Postemergence Weed Control in Conventional Corn (*Zea mays*). *Weed Technol.* 5, 509–512.
- Reichling, J., Koch, C., Stahl-Biskup, E., Sojka, C., Schnitzler, P., 2005. Virucidal activity of a -triketone-rich essential oil of *Leptospermum scoparium* (manuka oil) against HSV-1 and HSV-2 in cell culture. *Planta Med* 71, 1123–1127.
- Reinhard, M., Stumm, W., 1980. Kinetics of chlorination of p-xylene in aqueous solution. In: *Water Chlorination: Environmental Impact and Health Effects*, Ann Arbor Science Publishers. ed. Michigan.
- Richardson, S.D., Thruston, A.D., Caughran, T.V., Chen, P.H., Collette, T.W., Floyd, T.L., Schenck, K.M., Lykins, B.W., Sun, G., Majetich, G., 1999. Identification of New Ozone Disinfection Byproducts in Drinking Water. *Environ. Sci. Technol.* 33, 3368–3377.
- Roberts, J.D., Caserio, M.C., 1968. *Chimie Organique Moderne*. Ediscience, Paris.

- Rodier, J., Legube, B., Merlet, N., 2009. L'analyse de l'eau. Analysis of the water., Dunod. ed. Paris.
- Rodriguez-Concepcion, M., Stange, C., 2013. Biosynthesis of carotenoids in carrot: An underground story comes to light. *Arch. Biochem. Biophys.*, Carotenoids 539, 110–116.
- Rook, J.J., 1977. Chlorination reactions of fulvic acids in natural waters. *Environ. Sci. Technol.* 11, 478–482.
- Rosen, A.A., Middleton, F.M., 1959. Chlorinated Insecticides in Surface Waters. *Anal. Chem.* 31, 1729–1732.
- Rouchaud, J., Neus, O., Bulcke, R., Cools, K., Eelen, H., 1998a. Sulcotrione Soil Metabolism in Summer Corn Crops. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 61, 669–676.
- Rouchaud, J., Neus, O., Callens, D., Bulcke, R., 1998b. Sulcotrione soil persistence and mobility in summer maize and winter wheat crops. *Weed Res.* 38, 361–371.
- Rouchaud, J., Neus, O., Eelen, H., Bulcke, R., 2001. Mobility and adsorption of the triketone herbicide mesotrione in the soil of corn crops. *Toxicol. Environ. Chem.* 79, 211–222.
- Rouchaud, J., Thirion, A., Callens, D., Bulcke, R., 1996. Soil Dissipation of the Post-Emergence Herbicide Sulcotrione in Maize Crops Treated with Organic Fertilizers. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 57, 398–405.
- Sanches, S., Barreto Crespo, M.T., Pereira, V.J., 2010. Drinking water treatment of priority pesticides using low pressure UV photolysis and advanced oxidation processes. *Water Res.* 44, 1809–1818.
- Sanches, S., Leitão, C., Penetra, A., Cardoso, V.V., Ferreira, E., Benoliel, M.J., Crespo, M.T.B., Pereira, V.J., 2011. Direct photolysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in drinking water sources. *J. Hazard. Mater.* 192, 1458–1465.
- Sandman, G., Boger, P., Kumita, I., 1990. Atypical inhibition of phytoenedesaturase by 2-(4-chloro-2-nitrobenzoyl)-5,5-dimethylcyclohexane-1,3-dione. *Pestic. Sci.* 30, 353–355.
- Sankararamakrishnan, N., Kumar Sharma, A., Sanghi, R., 2005. Organochlorine and organophosphorous pesticide residues in ground water and surface waters of Kanpur, Uttar Pradesh, India. *Environ. Int.* 31, 113–120.
- Santel, H.-J., 2009. Laudis OD – a new herbicide for selective post-emergence weed control in corn (*Zea mays* L.). *Bayer Crop. J.* 62, 95–108.
- Santra, S., Baumann, U., 2008. Experience of nitisinone for the pharmacological treatment of hereditary tyrosinaemia type 1. *Expert Opin. Pharmacother.* 9, 1229–1236.
- Schulte, X., Köcher, H., 2009. Tembotrione and combination partner isoxadifen-ethyl – mode of herbicidal action. *Bayer Crop. J.* 35–52.
- Schulz, A., Ort, O., Beyer, P., Kleinig, H., 1993. SC-0051, a 2-benzoyl-cyclohexane-1,3-dione bleaching herbicide, is a potent inhibitor of the enzyme p-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase. *FEBS Lett.* 318, 162–166.
- Secor, J., 1994. Inhibition of Barnyardgrass 4-Hydroxyphenylpyruvate Dioxygenase by Sulcotrione. *Plant Physiol.* 106, 1429–1433.

- Sedlak, D.L., von Gunten, U., 2011. Chemistry. The chlorine dilemma. *Science* 331, 42–43.
- Sehested, K., Corfitzen, H., Holcman, J., Hart, E.J., 1992. Decomposition of ozone in aqueous acetic acid solutions (pH 0-4). *J. Phys. Chem.* 96, 1005–1009.
- Seng, T.W., Skillman, T.R., Yang, N., Hammond, C., 2003. Cyclohexanedione herbicides are inhibitors of rat heart acetyl-CoA carboxylase. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 13, 3237–3242.
- Servais, P., Billen, G., Laurent, P., Levi, Y., Randon, G., 1993. Bacterial regrowth in distribution systems.
- Soeda, T., Uchida, T., 1987. Inhibition of pigment synthesis by 1,3-dimethyl-4-(2,4-dichlorobenzoyl)-5-hydroxypyrazole, norflurazon, and new herbicidal compounds in radish and flatsedge plants. *Pestic. Biochem. Physiol.* 29, 35–42.
- Soltani, N., Shropshire, C., Sikkema, P.H., 2011. Response of spring planted barley (*Hordeum vulgare* L.), oats (*Avena sativa* L.) and wheat (*Triticum aestivum* L.) to mesotrione. *Crop Prot.* 30, 849–853.
- Staelin, J., Buehler, R.E., Hoigne, J., 1984. Ozone decomposition in water studied by pulse radiolysis. 2. Hydroxyl and hydrogen tetroxide (HO<sub>4</sub>) as chain intermediates. *J. Phys. Chem.* 88, 5999–6004.
- Staelin, J., Hoigne, J., 1985. Decomposition of ozone in water in the presence of organic solutes acting as promoters and inhibitors of radical chain reactions. *Environ. Sci. Technol.* 19, 1206–1213.
- Stafford, U., Gray, K.A., Kamat, P.V., 1994. Radiolytic and TiO<sub>2</sub>-Assisted Photocatalytic Degradation of 4-Chlorophenol. A Comparative Study. *J. Phys. Chem.* 98, 6343–6351.
- Stangroom, S., Collins, C., 2000. Abiotic Behaviour of Organic Micropollutants in Soils and the Aquatic Environment. A Review: II. Transformations. *Environ. Technol. - Env. Technol.* 21, 865–882.
- Sutton, P., Richards, C., Buren, L., Glasgow, L., 2002. Activity of mesotrione on resistant weeds in maize. *Pest Manag. Sci.* 58, 981–984.
- Swisher, R.D., 1987. *Surfactant biodegradation*, 2nd ed. ed. Marcel Dekker Inc., New York.
- Syngenta, C.P., 2001. Callisto T.M. Herbicide Label. Syngenta Crop Protection, Greensboro, NC.
- Tachikawa, M., Sayama, C., Saita, K., Tezuka, M., Sawamura, R., 2002. Effects of isocyanuric acid on the monochlorodimedone chlorinating rates with free chlorine and ammonia chloramine in water. *Water Res.* 36, 2547–2554.
- Takanashi, H., Mayumi, M., Kato, M., Hirata, M., Hano, T., 2002. Removal of mutagen precursor from wastewater by activated sludge and oxidation treatment. *Water Sci. Technol. J. Int. Assoc. Water Pollut. Res.* 46, 389–394.
- Tanabe, A., Kawata, K., 2009. Daily variation of pesticides in surface water of a small river flowing through paddy field area. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 82, 705–710.

- Tanabe, S., Tatsukawa, R., 1980. Chlorinated hydrocarbons in the North Pacific and Indian Oceans. *J. Oceanogr. Soc. Jpn.* 36, 217–226.
- Tarara, G., Fliege, R., Desmarteau, D., Kley, C., Peters, B., 2009. Environmental fate of tembotrione. *Bayer Crop. J.* 63–78.
- Ter Halle, A., Drmcova, D., Richard, C., 2006. Phototransformation of the herbicide sulcotrione on maize cuticular wax. *Environ. Sci. Technol.* 40, 2989–2995.
- Ter Halle, A., Piquet, A., Richard, C., 2007. An actual scenario that demonstrates sulcotrione photodegradation on maize leaves after spraying. *Environ. Chem.* 4, 256–259.
- Ter Halle, A., Richard, C., 2006. Simulated solar light irradiation of mesotrione in natural waters. *Environ. Sci. Technol.* 40, 3842–3847.
- Ter Halle, A., Wiszniowski, J., Hitmi, A., Ledoigt, G., Bonnemoy, F., Bonnet, J.-L., Bohatier, J., Richard, C., 2009. Photolysis of the herbicide sulcotrione: formation of a major photoproduct and its toxicity evaluation. *Pest Manag. Sci.* 65, 14–18.
- Treguer, R., Tatin, R., Couvert, A., Wolbert, D., Tazi-Pain, A., 2010. Ozonation effect on natural organic matter adsorption and biodegradation – Application to a membrane bioreactor containing activated carbon for drinking water production. *Water Res.* 44, 781–788.
- Tripathi, S., Pathak, V., Tripathi, D.M., Tripathi, B.D., 2011. Application of ozone based treatments of secondary effluents. *Bioresour. Technol.* 102, 2481–2486.
- Van Almsick, A., Benet-Buchholz, J., Olenik, B., Willms, L., 2009. Tembotrione, a new exceptionally safe cross-spectrum herbicide for corn production. *Bayer Crop. J.* 622009 1.
- Van Klink, J.W., Larsen, L., Perry, N.B., Weavers, R.T., Cook, G.M., Bremer, P.J., MacKenzie, A.D., Kirikae, T., 2005. Triketones active against antibiotic-resistant bacteria: Synthesis, structure–activity relationships, and mode of action. *Bioorg. Med. Chem.* 13, 6651–6662.
- Viviani, F., Little, J.P., Pallett, K.E., 1998. The Mode of Action of Isoxaflutole II. Characterization of the Inhibition of Carrot 4-Hydroxyphenylpyruvate Dioxygenase by the Diketonitrile Derivative of Isoxaflutole. *Pestic. Biochem. Physiol.* 62, 125–134.
- Volk, C., Renner, C., Roche, P., Paillard, H., Joret, J.C., 1993. Effects Of Ozone On The Production Of Biodegradable Dissolved Organic Carbon (BDOC) During Water Treatment. *Ozone Sci. Amp Eng.* 15, 389–404.
- Volk, C., Roche, P., Joret, J.-C., Paillard, H., 1997. Comparison of the effect of ozone, ozone-hydrogen peroxide system and catalytic ozone on the biodegradable organic matter of a fulvic acid solution. *Water Res.* 31, 650–656.
- Von Gunten, U., 2003. Ozonation of drinking water: Part I. Oxidation kinetics and product formation. *Water Res.* 37, 1443–1467.
- Von Sonntag, C., von Gunten, U., 2012. *Chemistry of Ozone in Water and Wastewater Treatment: From Basic Principles to Applications*. IWA Publishing.

- Vorkamp, K., Rigét, F.F., 2014. A review of new and current-use contaminants in the Arctic environment: Evidence of long-range transport and indications of bioaccumulation. *Chemosphere* 111, 379–395.
- Wagner, P.J., Frerking Jr., H.W., 1995. Photochemistry of nonconjugated diketones: internal self-quenching and energy transfer. *Can. J. Chem.* 73, 2047–2061.
- Wang, T.X., Margerum, D.W., 1994. Kinetics of Reversible Chlorine Hydrolysis: Temperature Dependence and General-Acid/Base-Assisted Mechanisms. *Inorg. Chem.* 33, 1050–1055.
- Weast, R.C., 1980. *Handbook of Chemistry and Physics*, 61st ed. CRC Press Inc., Boca Raton, Florida.
- Wilson, J.S., Foy, C.L., 1992. Influence of Various Soil Properties on the Adsorption and Desorption of ICIA-0051 in Five Soils. *Weed Technol.* 6, 583–586.
- Wiszniewski, J., Halle, A.T., Richard, C., Bonnemoy, F., Bohatier, J., 2011. Toxicity of sulcotrione photoproducts mixture towards *Vibrio fischeri* in the aquatic environment. *Arch. Environ. Prot.* 37, 15–23.
- Wiszniewski, J., Halle, A.T., Richard, C., Hitmi, A., Ledoigt, G., 2009. Photodegradation product of sulcotrione and the physiological response of maize (*Zea mays*) and white mustard (*Sinapis alba*). *Chemosphere* 74, 1224–1230.
- Witschel, M., 2009. Design, synthesis and herbicidal activity of new iron chelating motifs for HPPD-inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.* 17, 4221–4229.
- Wittmer, I.K., Bader, H.-P., Scheidegger, R., Singer, H., Lück, A., Hanke, I., Carlsson, C., Stamm, C., 2010. Significance of urban and agricultural land use for biocide and pesticide dynamics in surface waters. *Water Res.* 44, 2850–2862.
- Wu, N., Jin, Y., Jin, F., Tan, Y., Tao, H., Zheng, M., Chen, R., Liu, K., Gao, M., 2011. Effects of sulcotrione [2-(2-chloro-4-mesybenzoyl)-cyclohexane-1,3-dione] on enzymes involved in tyrosine catabolism and the extent of the resulting tyrosinemia and its relationship with corneal lesions in rats. *Pestic. Biochem. Physiol.* 99, 162–169.
- Xu, B., Chen, Z., Qi, F., Ma, J., Wu, F., 2010. Comparison of N-nitrosodiethylamine degradation in water by UV irradiation and UV/O<sub>3</sub>: Efficiency, product and mechanism. *J. Hazard. Mater.* 179, 976–982.
- Zepp, R.G., Baughman, G., 1978. Prediction of Photochemical Transformation of Pollutants in the Aquatic Environment, in: LELYVELD, O.H.H.V., ZOETEMAN, B.C.J. (Eds.), *Aquatic Pollutants*. Pergamon, pp. 237–263.
- Zepp, R.G., Cline, D.M., 1977. Rates of direct photolysis in aquatic environment. *Environ. Sci. Technol.* 11, 359–366.
- Zepp, R.G., Hoigne, J., Bader, H., 1987. Nitrate-induced photooxidation of trace organic chemicals in water. *Environ. Sci. Technol.* 21, 443–450.
- Zepp, R.G., Schlotzhauer, P.F., Sink, R.M., 1985. Photosensitized transformations involving electronic energy transfer in natural waters: role of humic substances. *Environ. Sci. Technol.* 19, 74–81.

- Zhang, J., Zheng, L., Jäck, O., Yan, D., Zhang, Z., Gerhards, R., Ni, H., 2013. Efficacy of four post-emergence herbicides applied at reduced doses on weeds in summer maize (*Zea mays* L.) fields in North China Plain. *Crop Prot.* 52, 26–32.
- Zhi, L., 2012. Devenir des résidus de médicaments dans les sols : biodégradation –sorption. Discussion dans un contexte de réutilisation des eaux usées. Université de Montpellier.
- Zimmerman, G., Strong, F.C., 1957. Equilibria and Spectra of Aqueous Chlorine Solutions. *Journal Am. Chem. Soc.* 79, 2063–2066.

---

## **ANNEXES**

---

## ANNEXE I

---

### Validity of the biodegradability tests after photodegradation

The biodegradability tests (OCDE 301D) have to be confirmed valid with quality controls vessels. The composition of every biodegradability test is shown in Table 1.

The procedure control samples ensure that under our experimental conditions, a readily biodegradable compound will be degraded by the inoculum. The compound chosen is sodium acetate (OECD procedure). The pass level for ready biodegradability in case of the reference compound is 70 % removal of the dissolved organic carbon (DOC) within the first 14 days of inoculation. In our experiments, the DOC of the reference compound was degraded at 78 ( $\pm 3$ ) %.

The toxicity control ensures that the test substance has no significant toxicity against the inoculum. In this case, the pass level is a removal of more than 35 % of DOC within the first 14 days of the test. In our experiments, 41 ( $\pm 2$ ) % of DOC removal was observed on the 14<sup>th</sup> day. Thus, the test substance has no inhibitory or toxic effect on the inoculum.

Therefore, all these results confirm that the tests were valid.

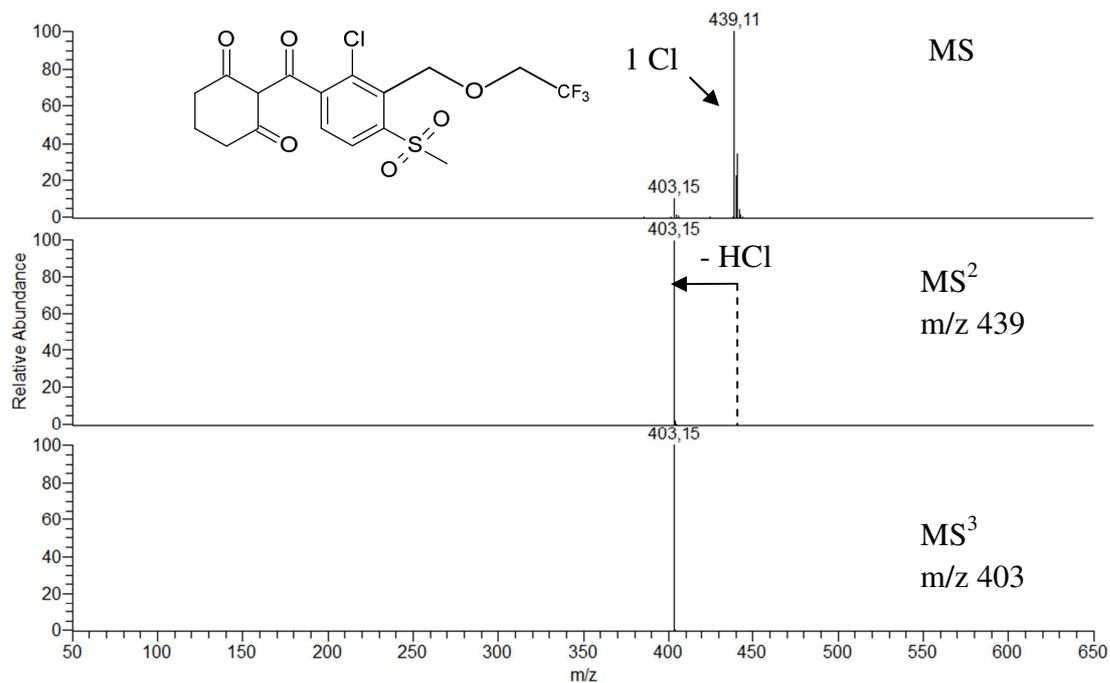
**Table 1.** *Closed Bottle Test (OECD): composition of the test vessels series*

	Blank	Test Suspension	Procedure Control	Toxicity Control
Test Substance	-	✓	-	✓
Inoculum	✓	✓	✓	✓
Sodium Acetate	-	-	✓	✓
Nutrient Solution	✓	✓	✓	✓

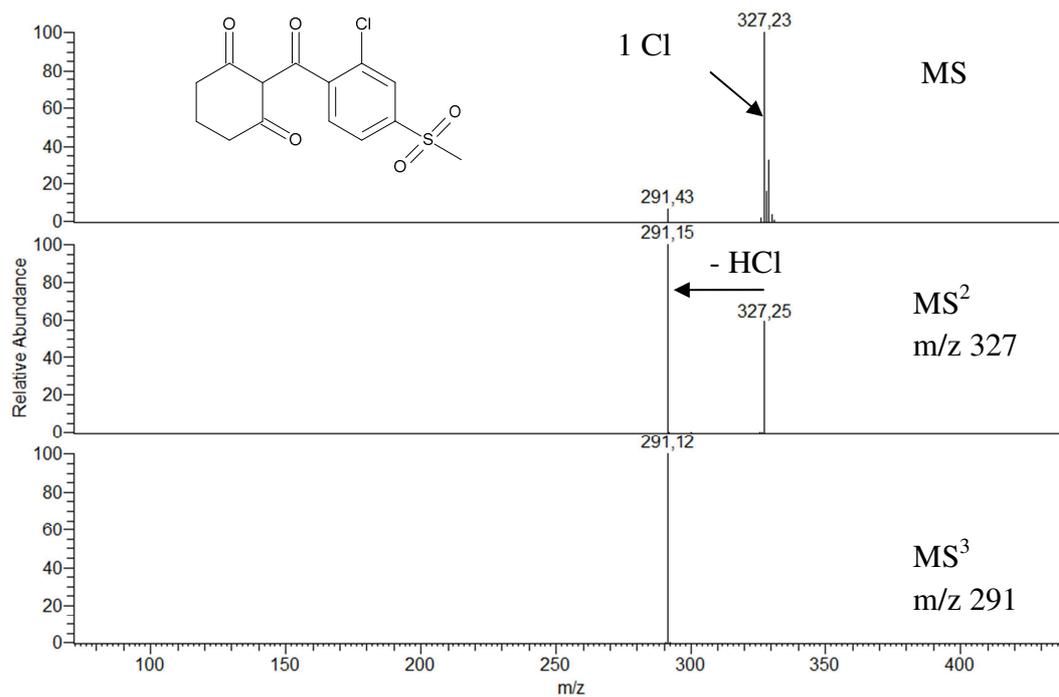
## ANNEXE II

## Photo-degradation by-products identification by LC-MS – ESI (-)

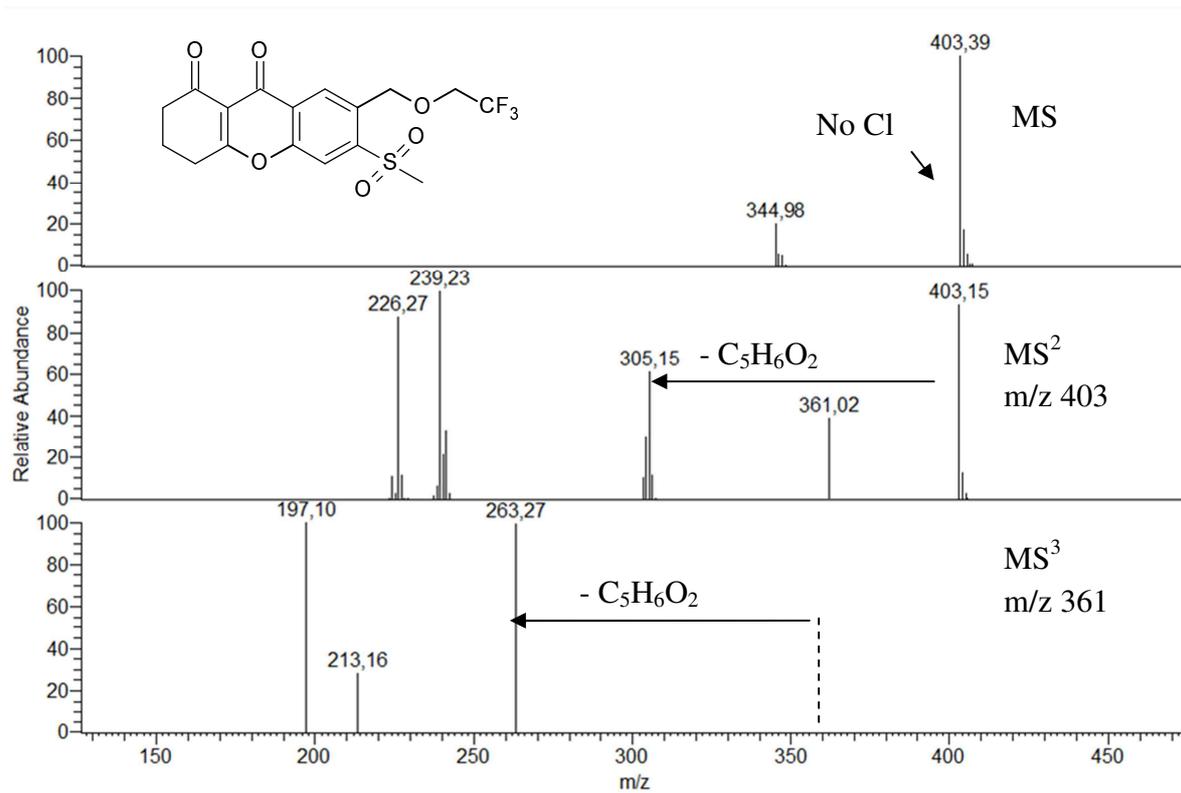
Tembotrione: m/z 439



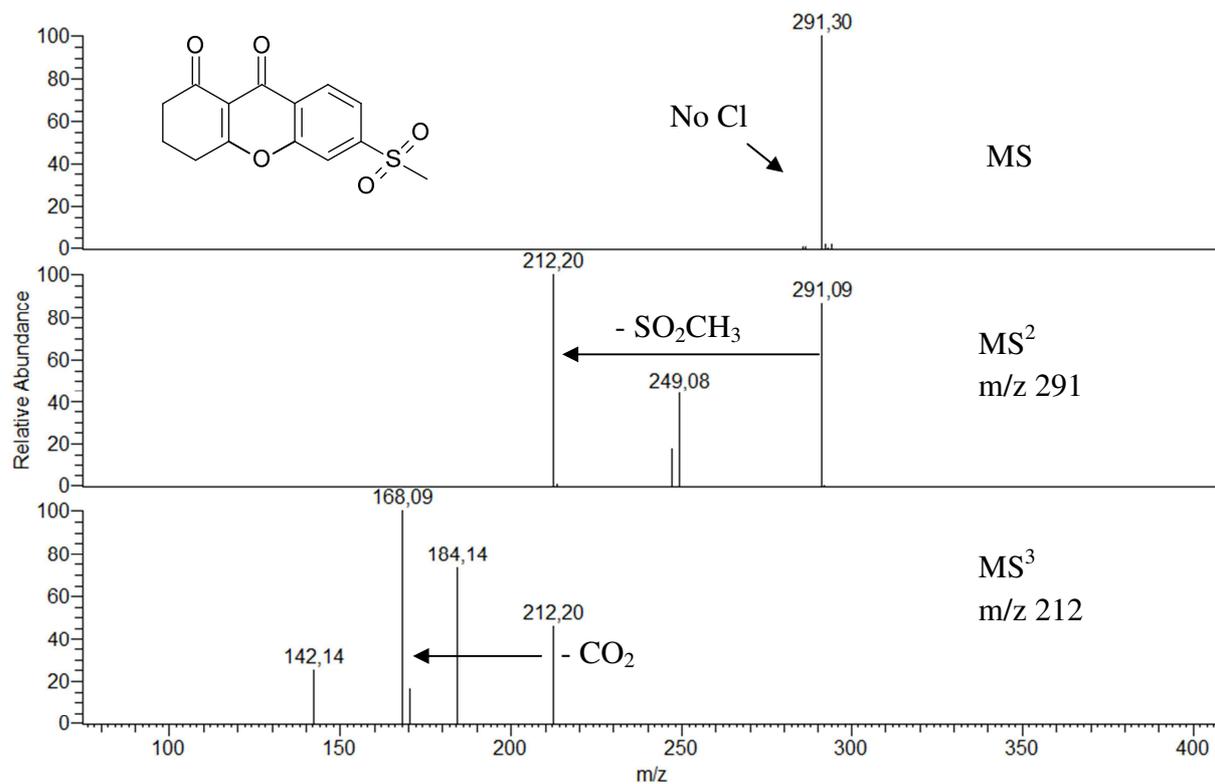
Sulcotrione: m/z 327



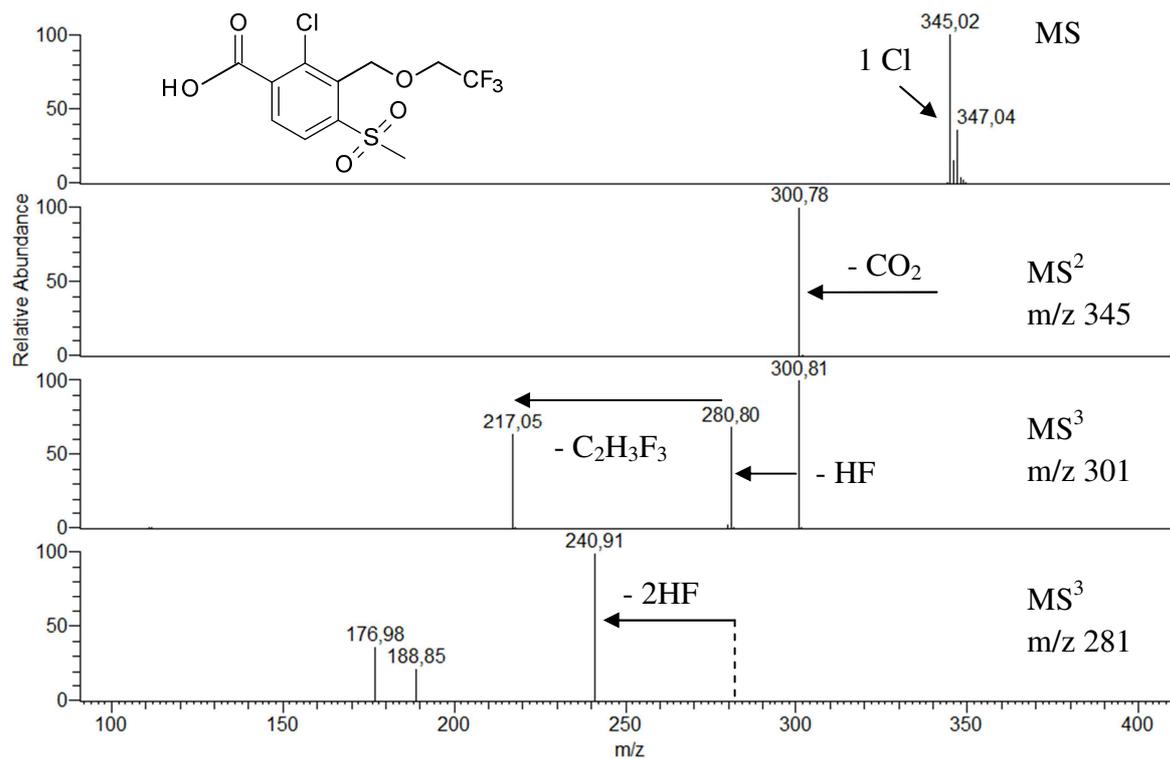
## Product T1: m/z 403



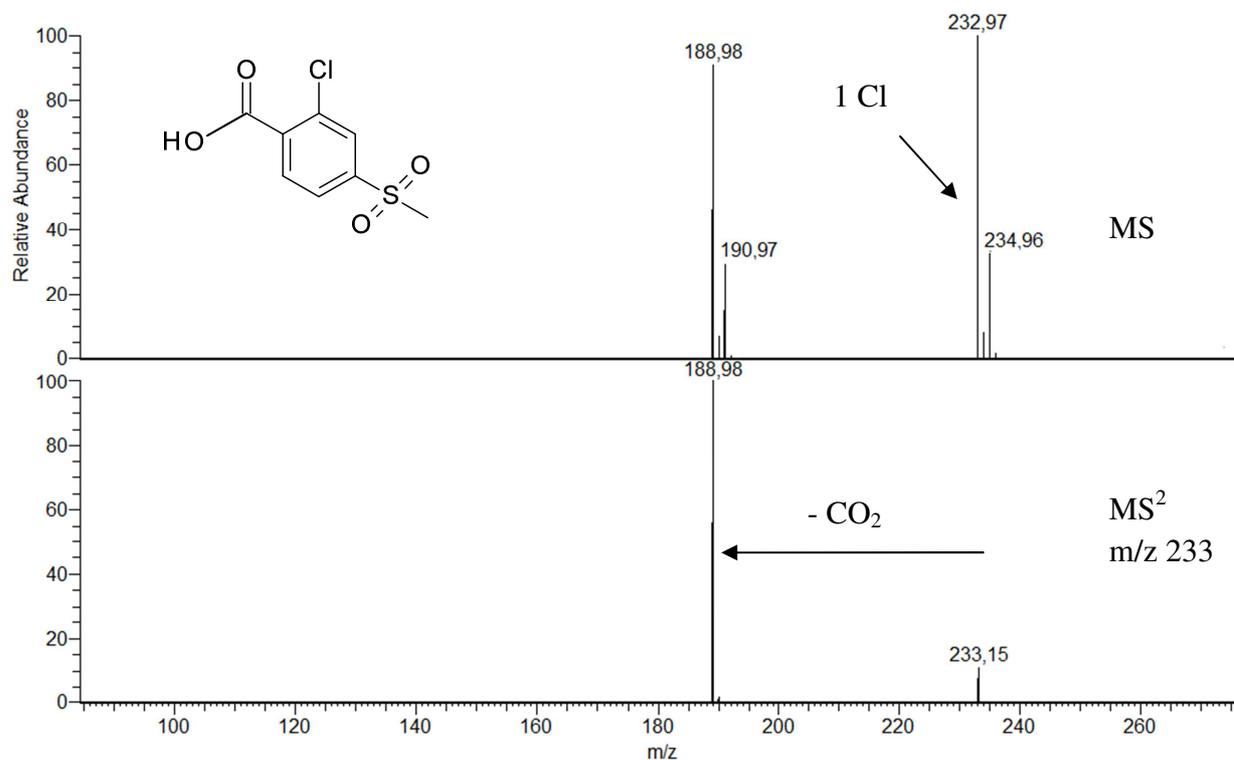
## Product S1: m/z 291



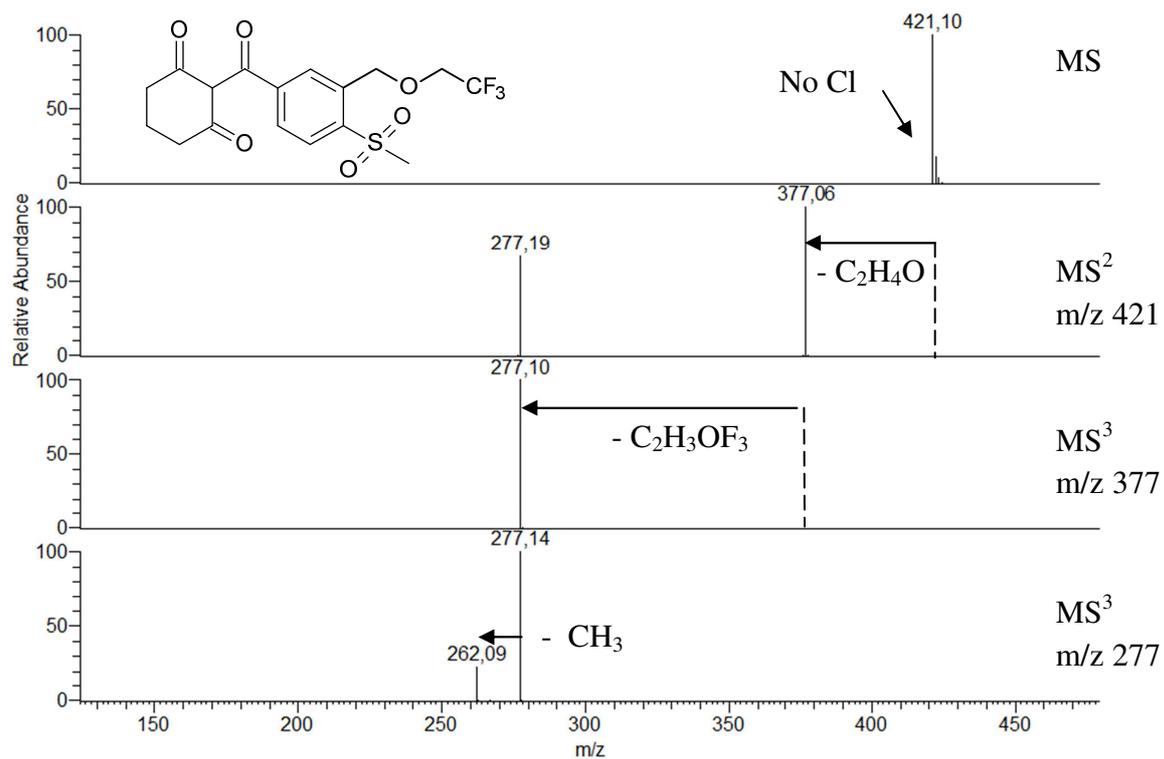
## Product T2: m/z 345



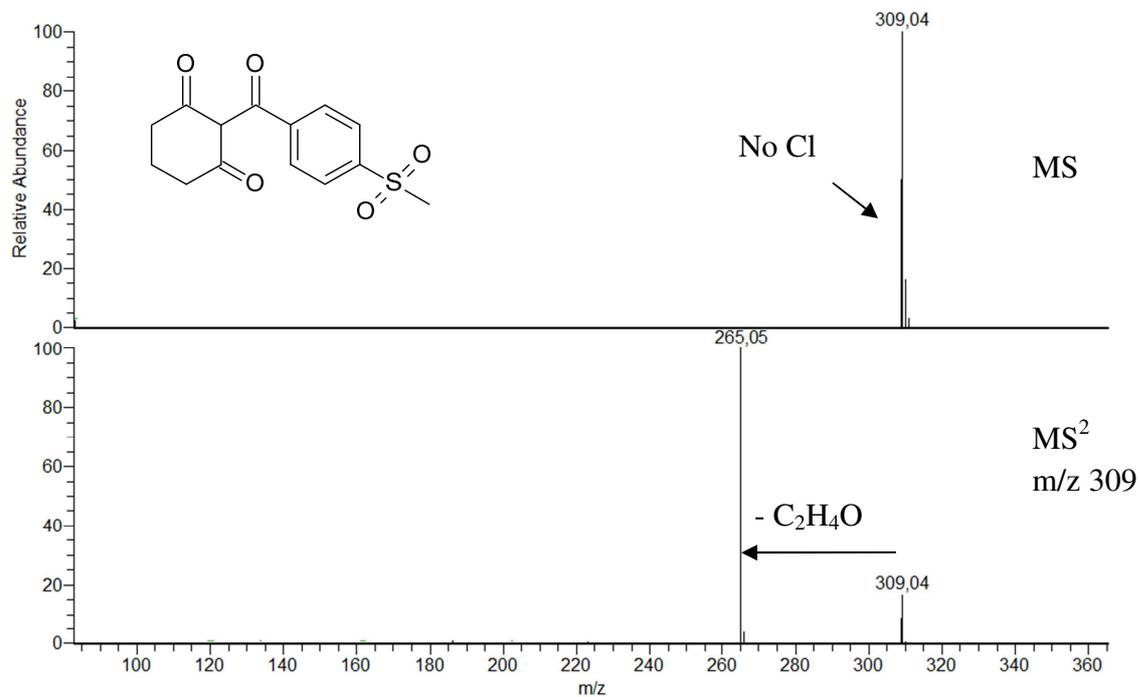
## Product S2: m/z 233



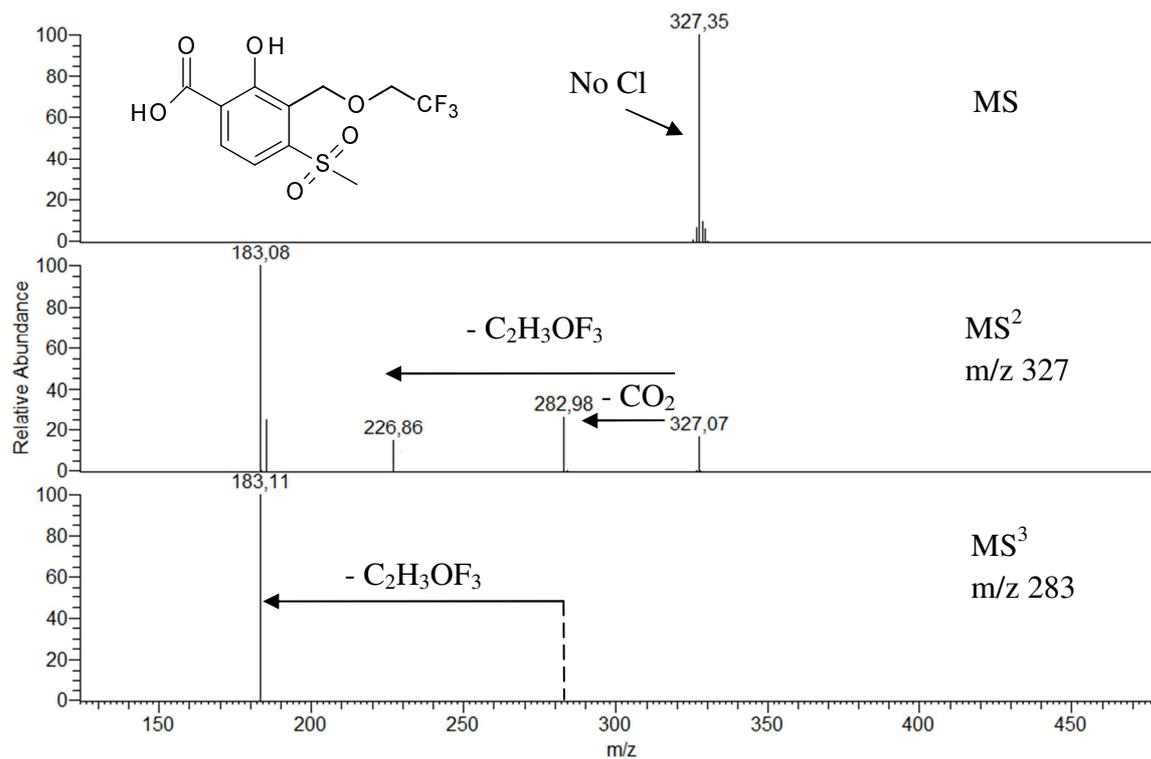
## Product T3: m/z 421



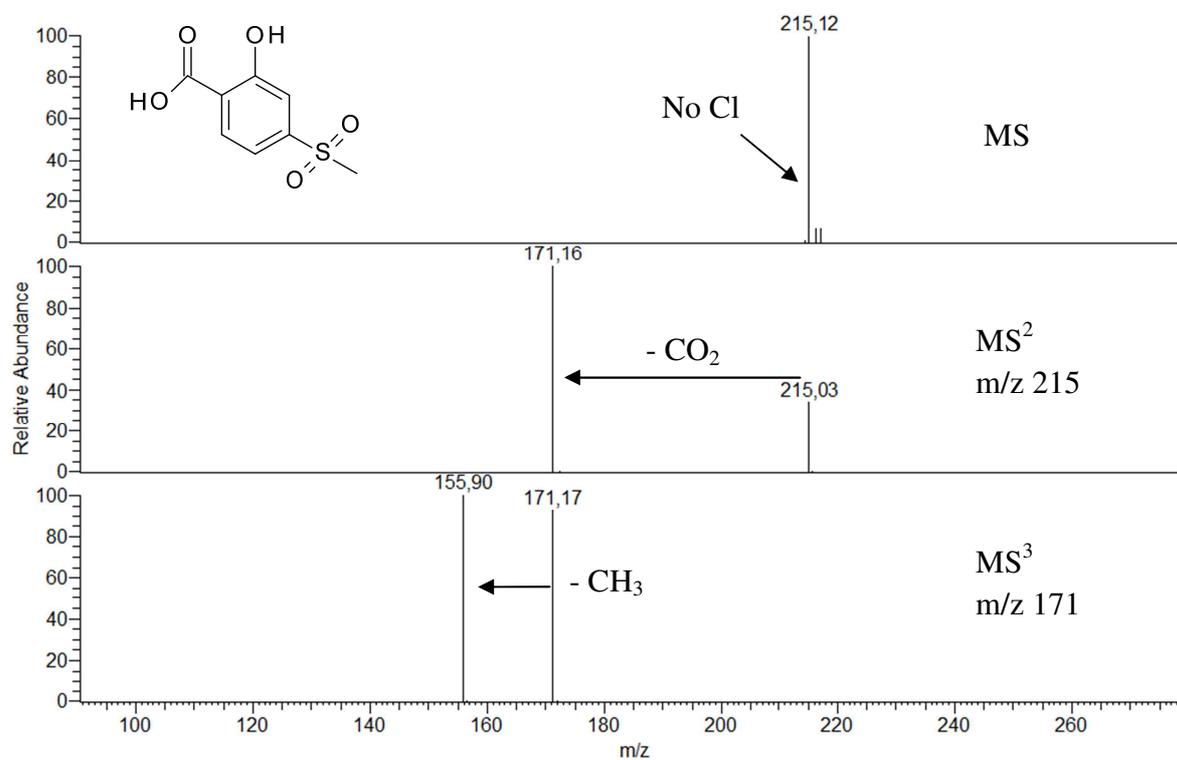
## Product S3: m/z 309



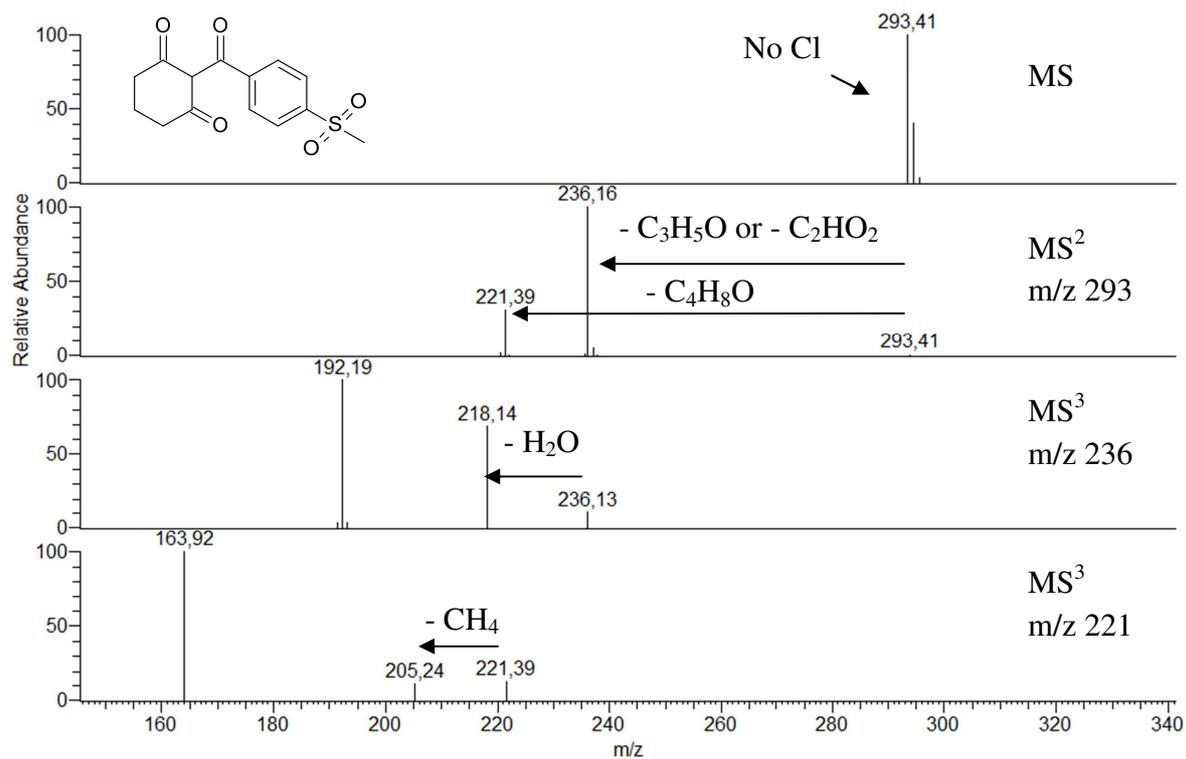
## Product T4: m/z 327



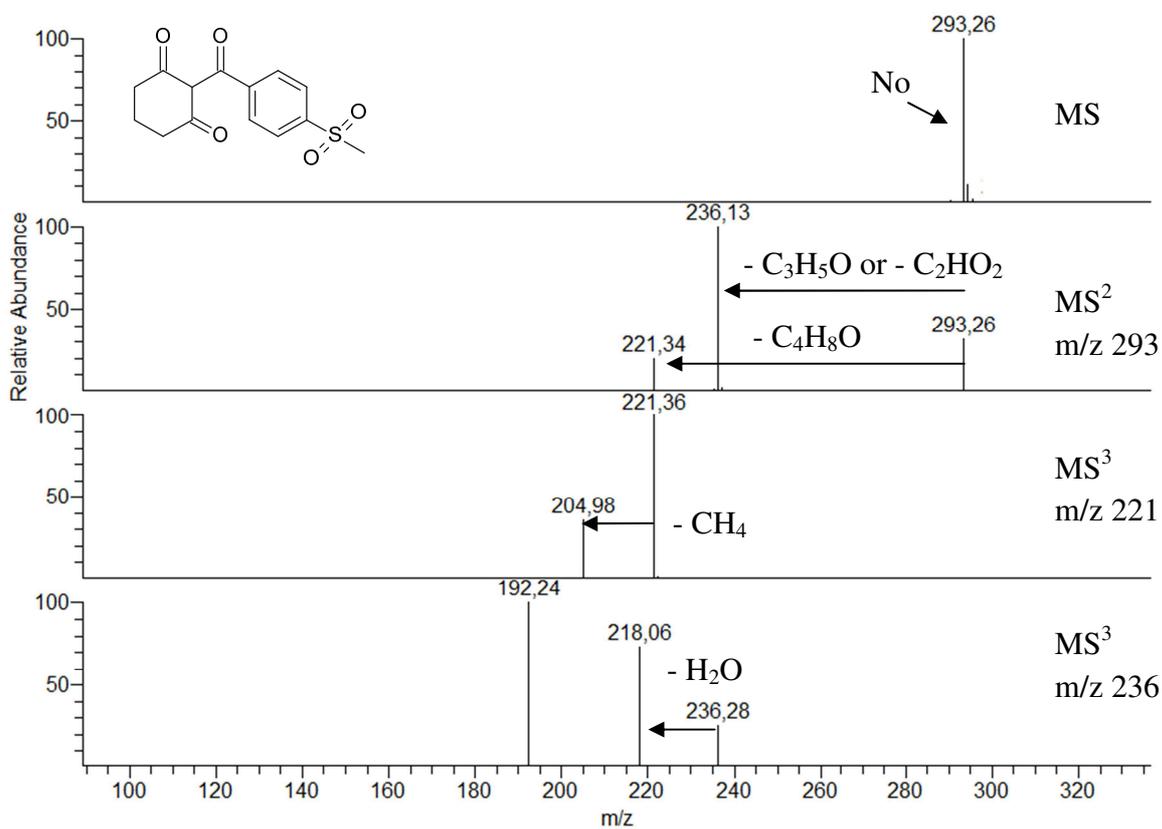
## Product S4: m/z 215



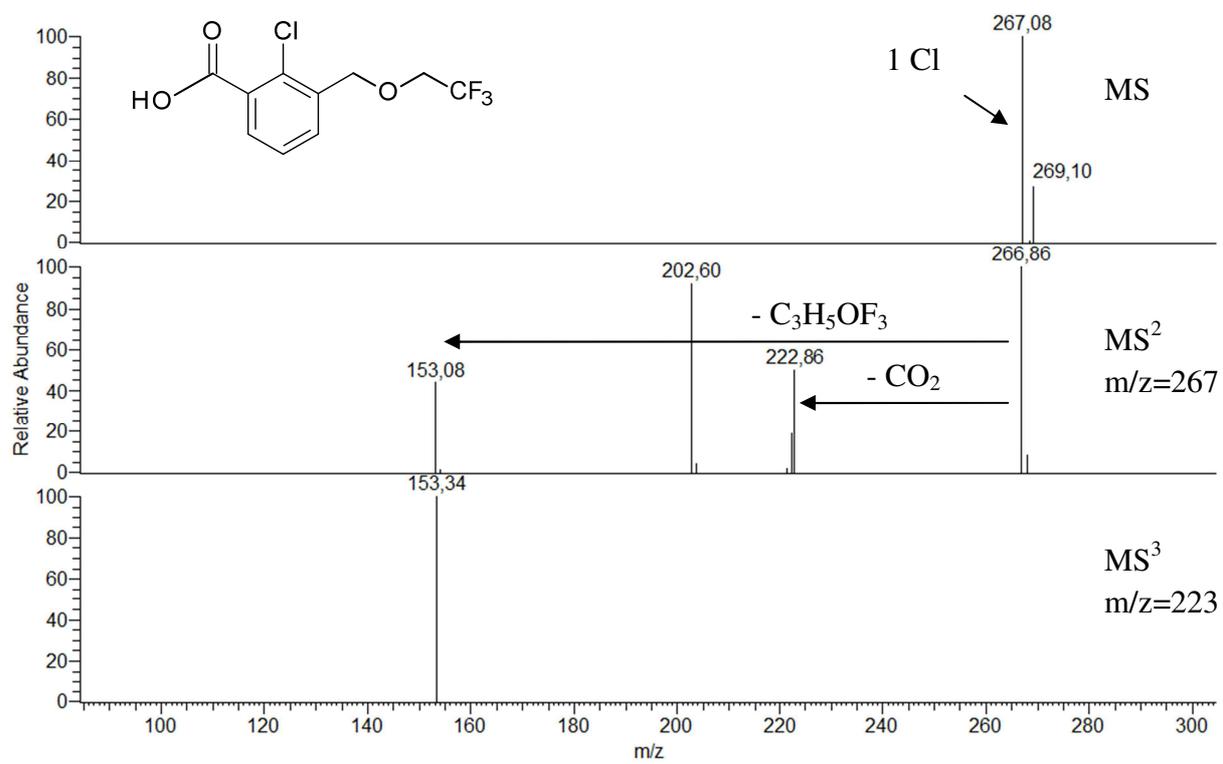
## Product T5: m/z 293



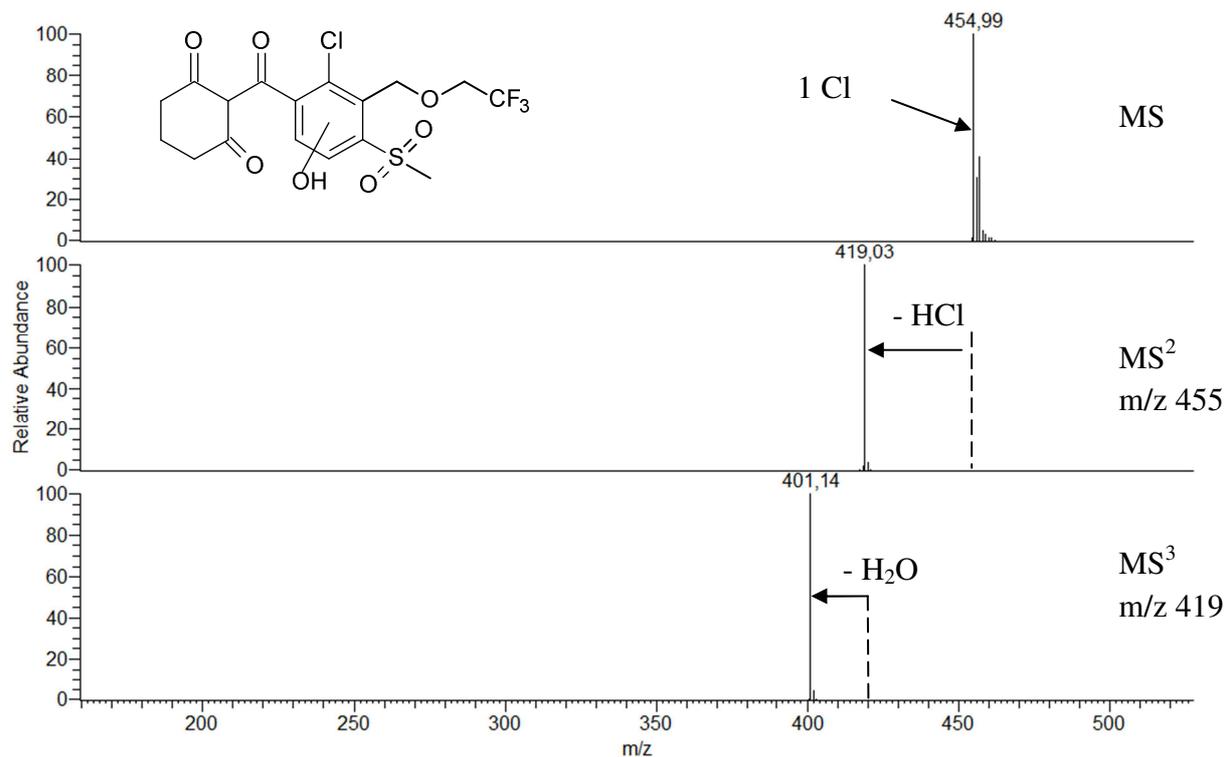
## Product S5: m/z 293



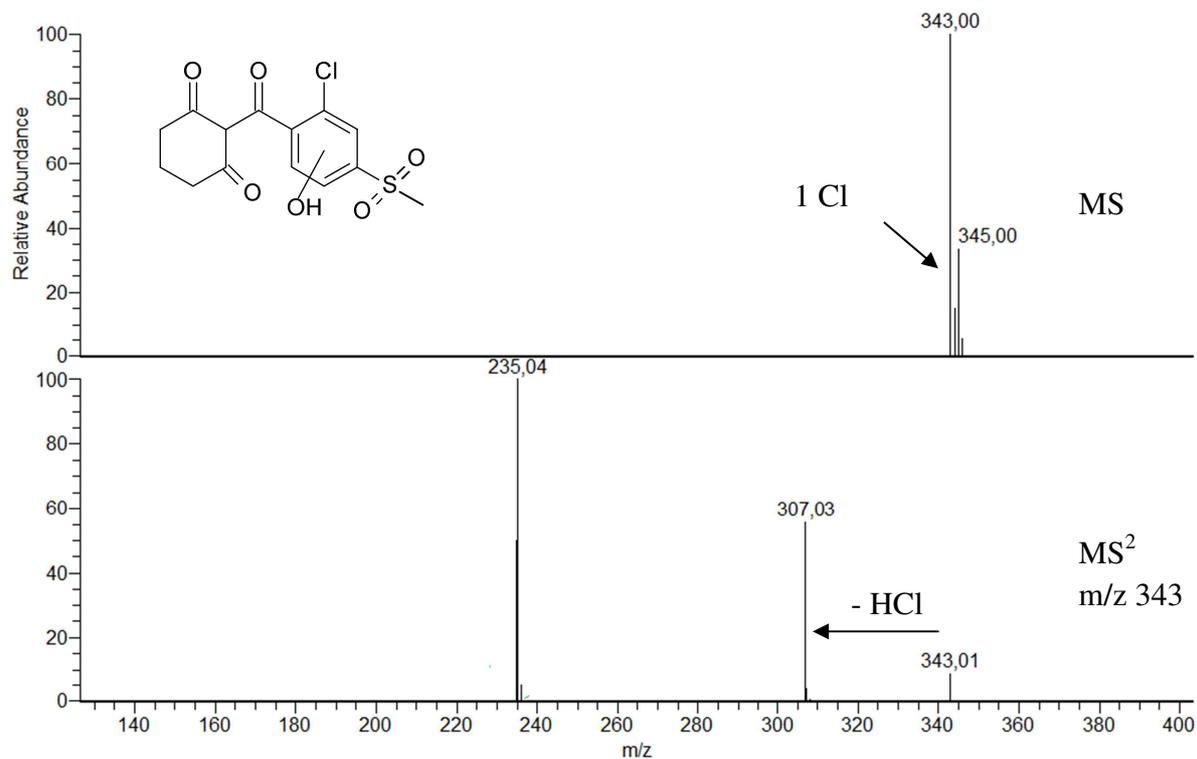
## Product T6: m/z 267



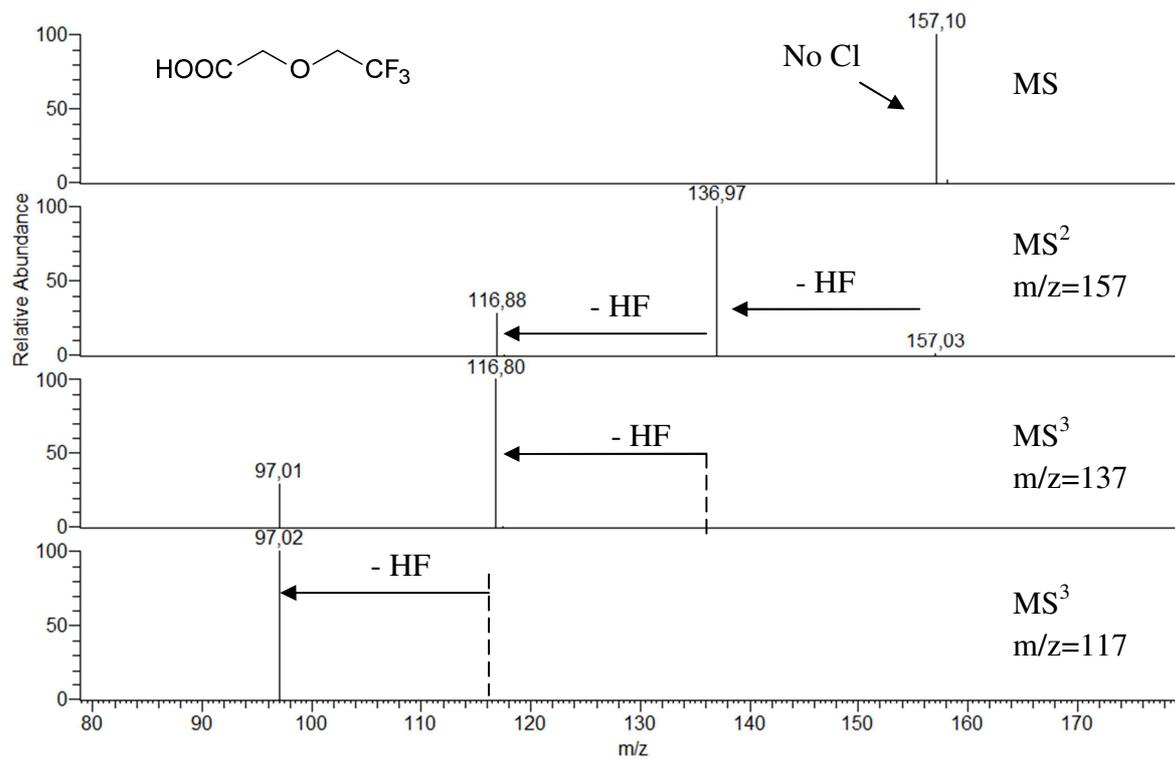
## Product T7: m/z 455



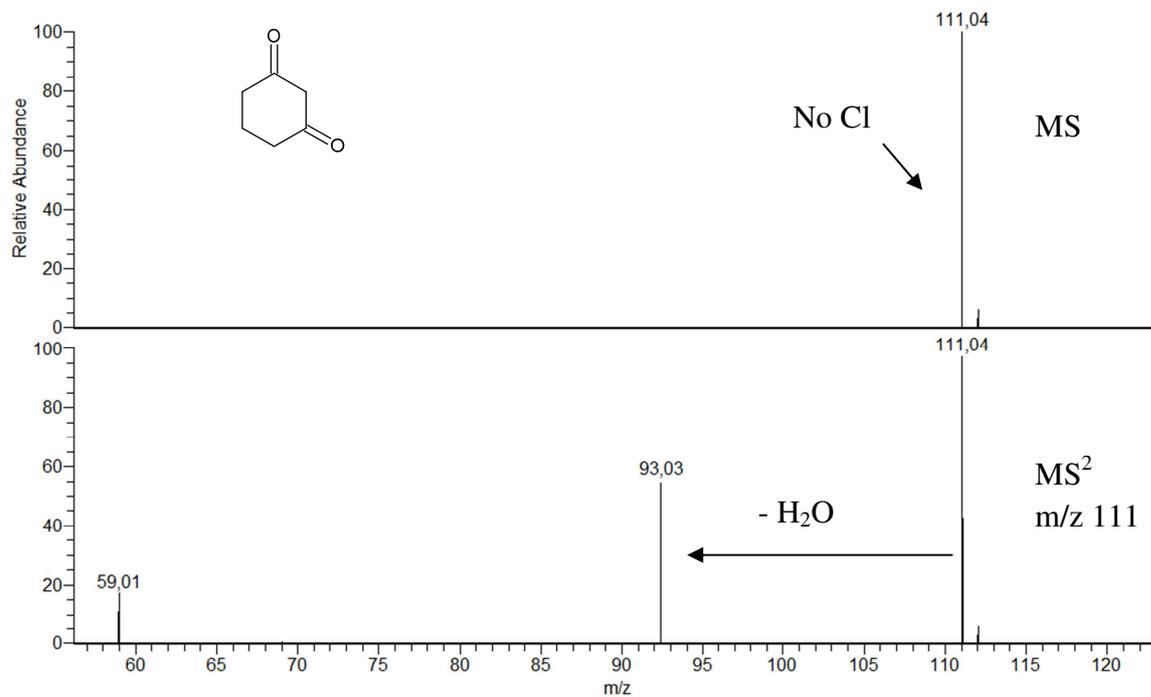
## Product S7: m/z 343



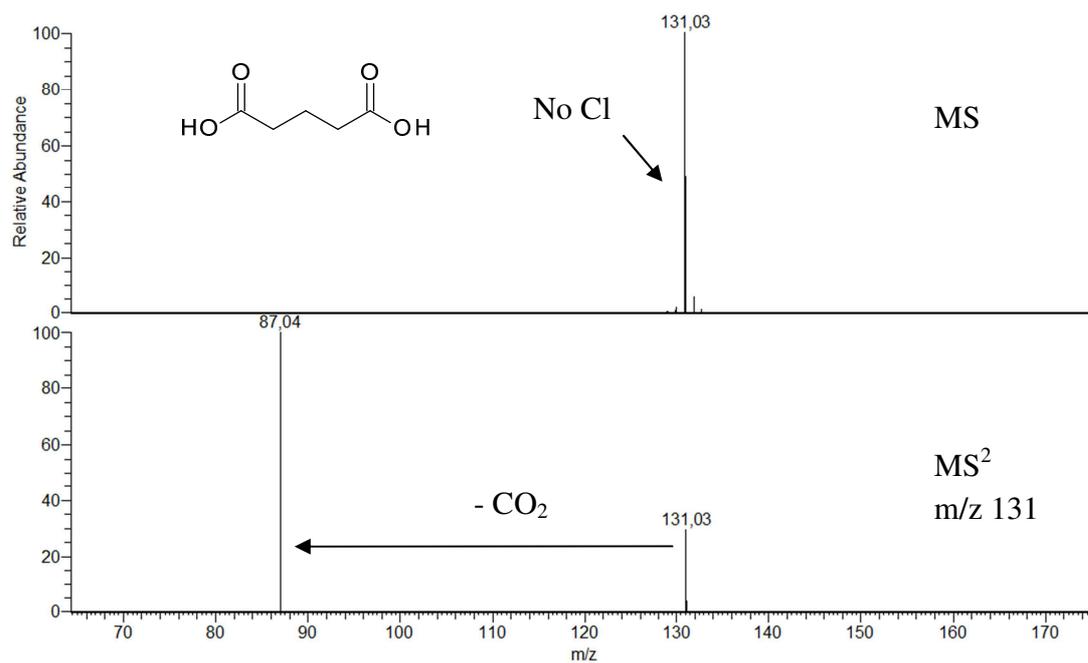
## Product T8 : 157



## Cyclohexane-1,3-dione



## Glutaric acid



## ANNEXE III

---

### EC<sub>50</sub> calculations (NF/EN/ISO 11348-3)

#### 1. Sample preparation

Luminescent bacteria (*Vibrio fischeri*) are marine organisms. They have to be kept in an environment with an adequate salt content (2 % NaCl) and a pH of 7.

#### 2. Dilution series

Two types of dilutions series may be applied to the samples in order to obtain the EC<sub>50</sub> values for a compound. The first dilution is a series of dilution by 2. This dilution method is called the geometrical and is usually used when no estimation of EC<sub>50</sub> value for the compound can be done before the tests. The sample dilutions are carrying between 1 and 256. When an approximation of EC<sub>50</sub> value can be done, the DIN dilution can be applied (DIN 38412 L34/341). With this type of dilution, the concentrations of the samples tested are between 1 and 1/16.

#### 3. Inhibition calculations

During each test, the luminescence emission by bacteria is measured by a LumisTox<sup>®</sup> device before addition of the sample. Once the sample is added, the solutions are incubated at 15 °C for 30 minutes, and then the luminescence is remeasured.

Inhibition of the luminescence is calculated according the following equation:

$$H_t = \frac{I_{ct} - I_t}{I_{ct}} \times 100$$

where  $H_t$  = percentage inhibition of the luminescence after the incubation period  $t$

$I_{ct}$ :  $I_0$  of the test solutions, corrected by  $f_K$ :  $I_{ct} = f_K \times I_0$ . And  $I_0$  is the luminescence of the bacteria suspensions before the sample is added (initial luminescence)

$I_t$  : luminescence of the tests solutions after the incubation period  $t$  (final luminescence, after addition of the sample)

The correction factor is calculated as follow:  $f_K = \frac{I_{tK}}{I_{0K}}$

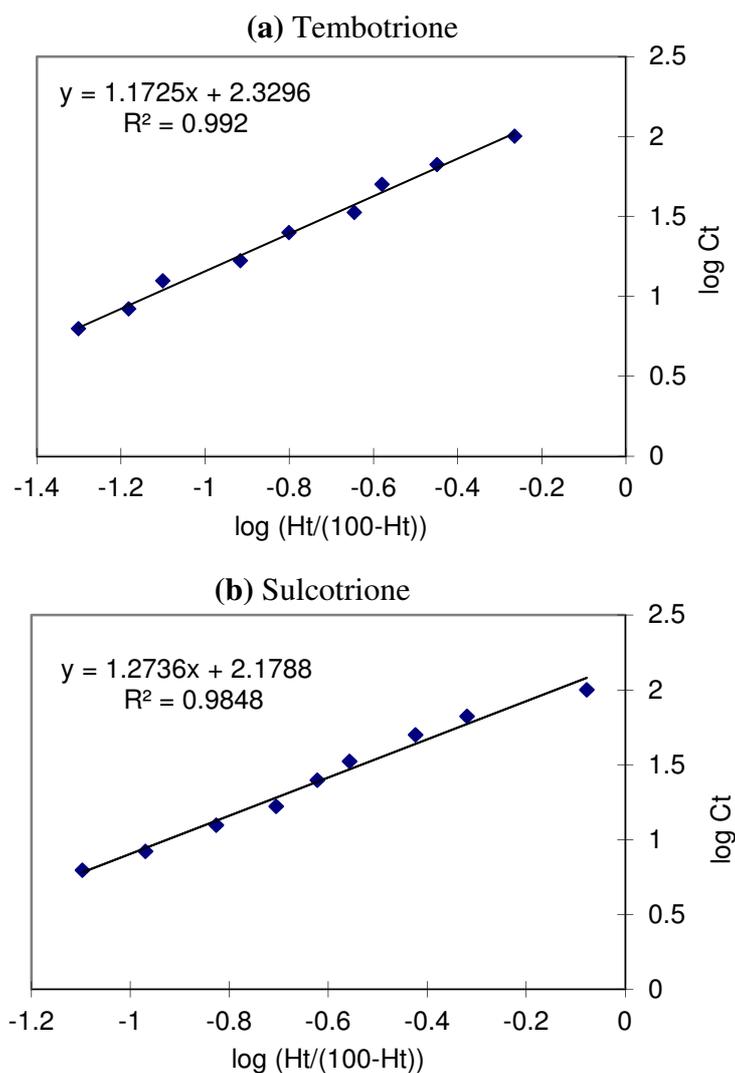
with  $I_{0K}$  and  $I_{tK}$  are the initial and final luminescence of the control solutions (2 % NaCl)

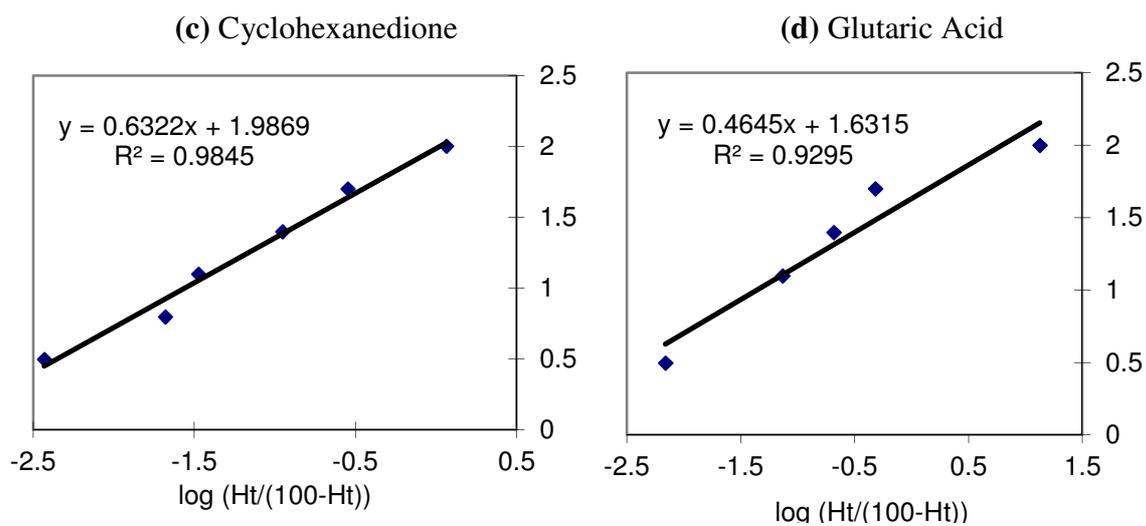
#### 4. EC<sub>50</sub> values

EC<sub>50</sub> values are calculated from a linear representation of  $\log(Ct)$  versus  $\log(Ht / (100 - Ht))$ . Where  $Ct = 100 \times (1/\text{dilution factor})$ . The EC<sub>50</sub> value is given by the point of intersection with the x axis at  $\log(Ht / (100 - Ht)) = 1$ .

The experiments investigating the calculation of EC<sub>50</sub> for tembotrione and sulcotrione in presence of phosphate buffer showed no luminescence inhibition for TNT and SCT concentrations of 10 mg.L<sup>-1</sup>. For both pesticides, the inhibition percentages were inferior to 5%. Therefore, in order to better assess the toxicity patterns of by-products, the toxicity experiments were conducted without phosphate buffer.

The following figures (Figure 1) show the linear representation obtained for the calculation of the EC<sub>50</sub> values without phosphate buffer for (a) tembotrione, (b) sulcotrione, (c) cyclohexane 1,3-dione and (d) glutaric acid.





**Figure 1:** Representation of  $\log(Ct)$  versus  $\log(Ht / (100 - Ht))$  for  $EC_{50}$  values calculations  
The  $EC_{50}$  values obtained under these conditions are resumed Table 1.

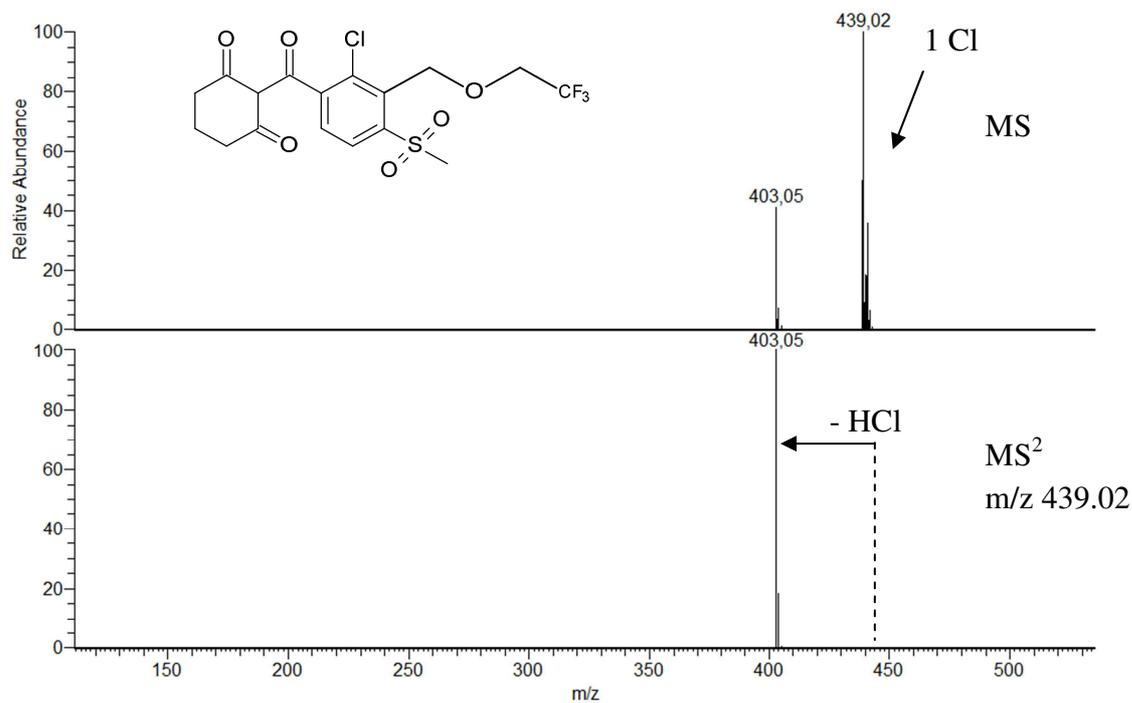
**Table 1:**  $EC_{50}$  values

Compounds	Tembotrione	Sulcotrione	Cyclohexanedione	Glutaric acid
$EC_{50}$ (mg.L <sup>-1</sup> )	9.4	4.5	54.33	28.25

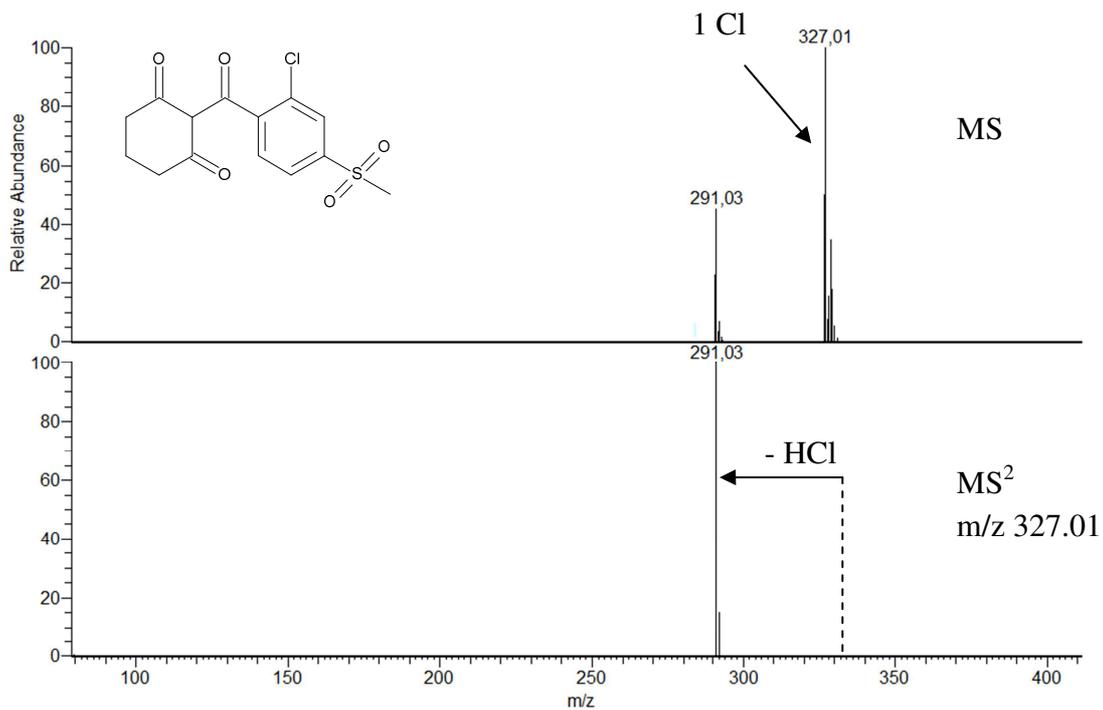
## ANNEXE IV

## Chlorination by-products identification by LC-MS – ESI (-)

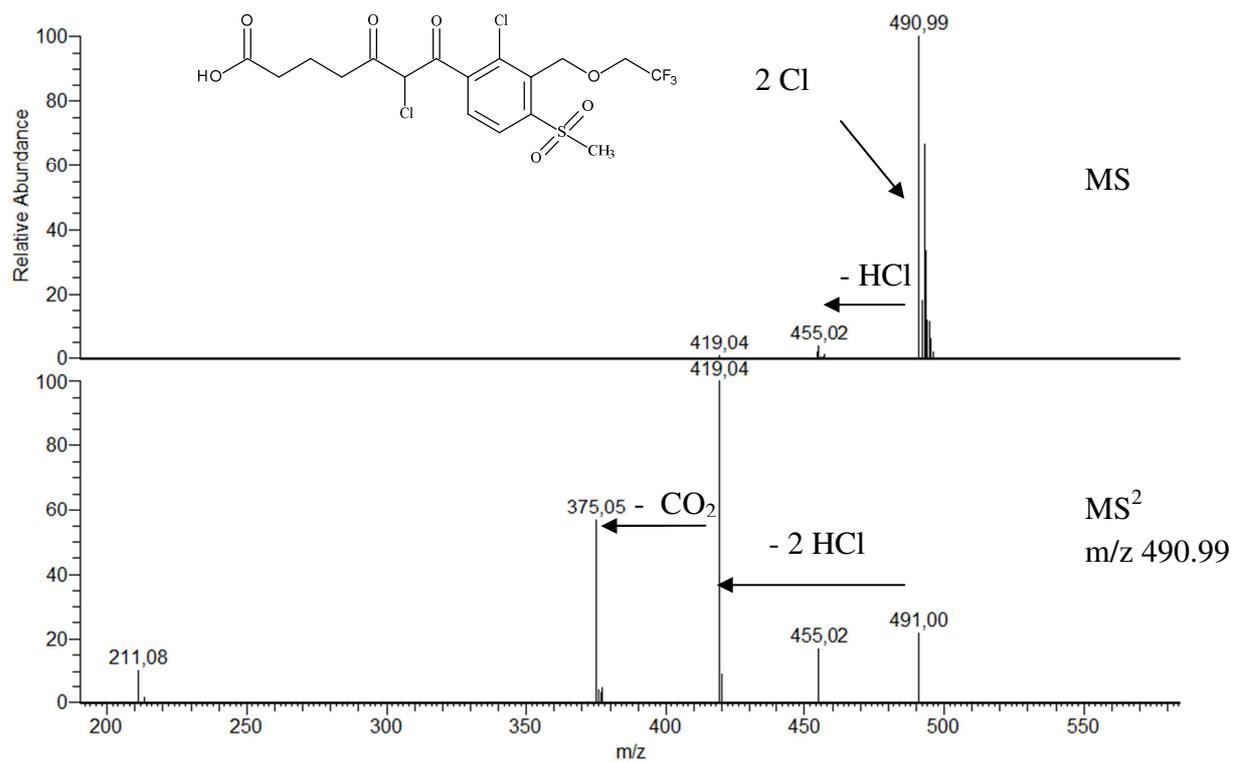
Tembotrione: m/z 439



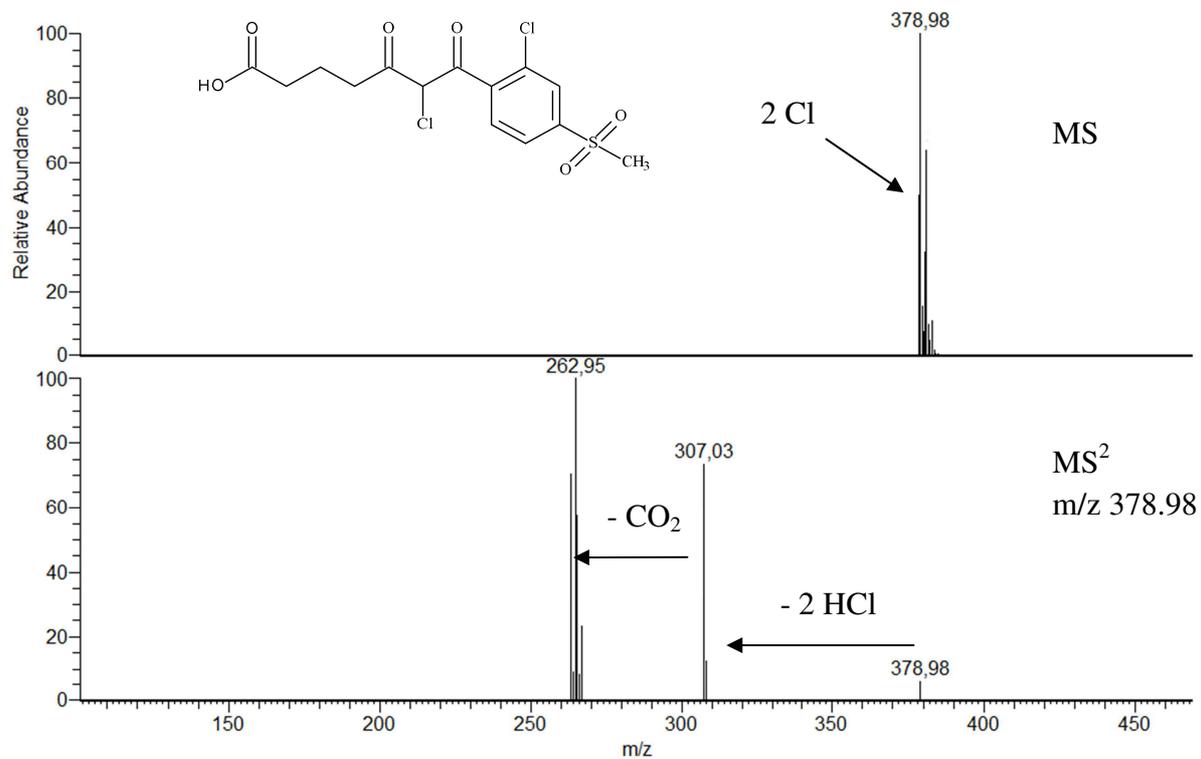
Sulcotrione: m/z 327



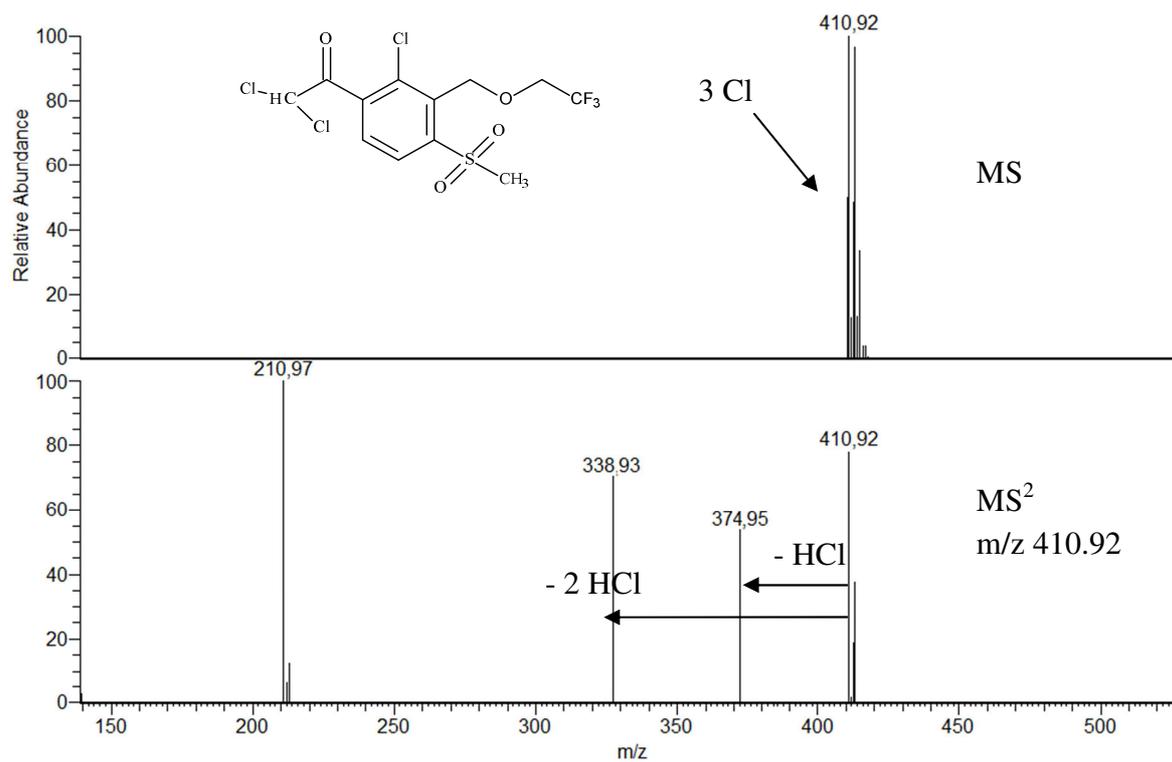
Product T1: m/z 490.99



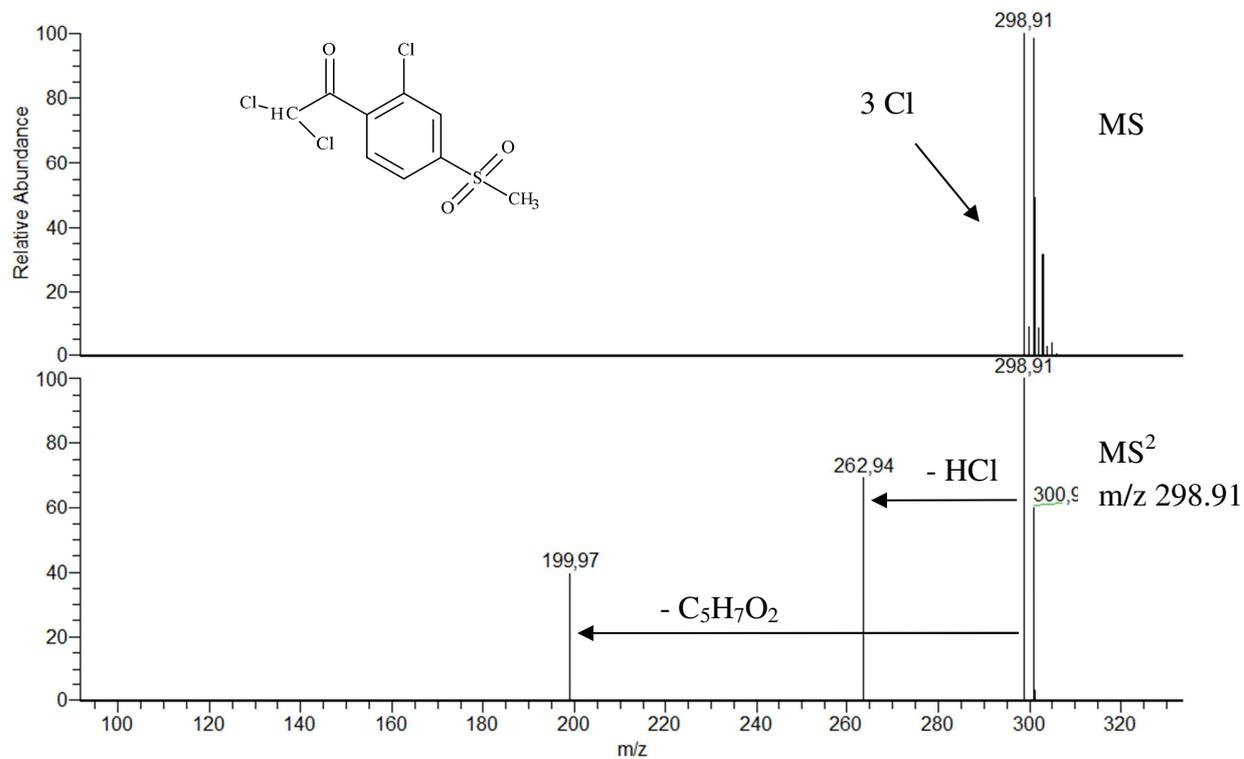
Product S1: m/z 378.98



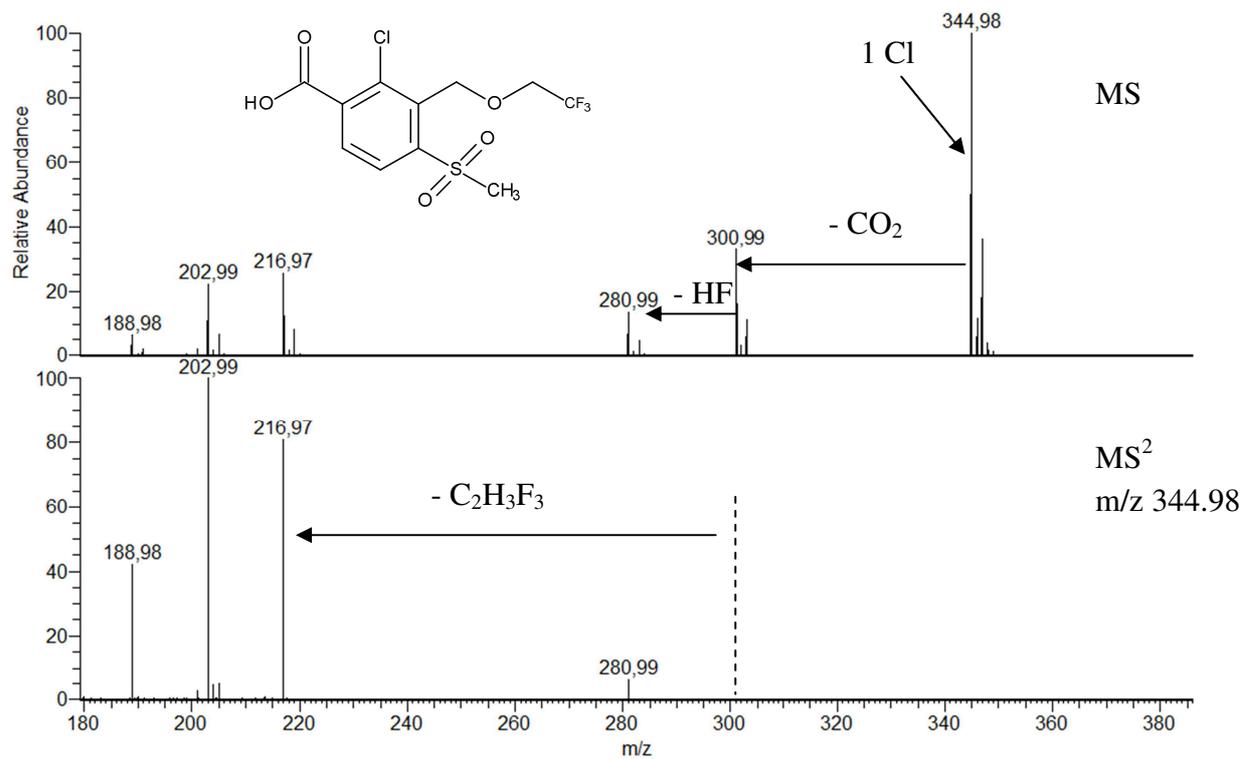
Product T2: m/z 410.92



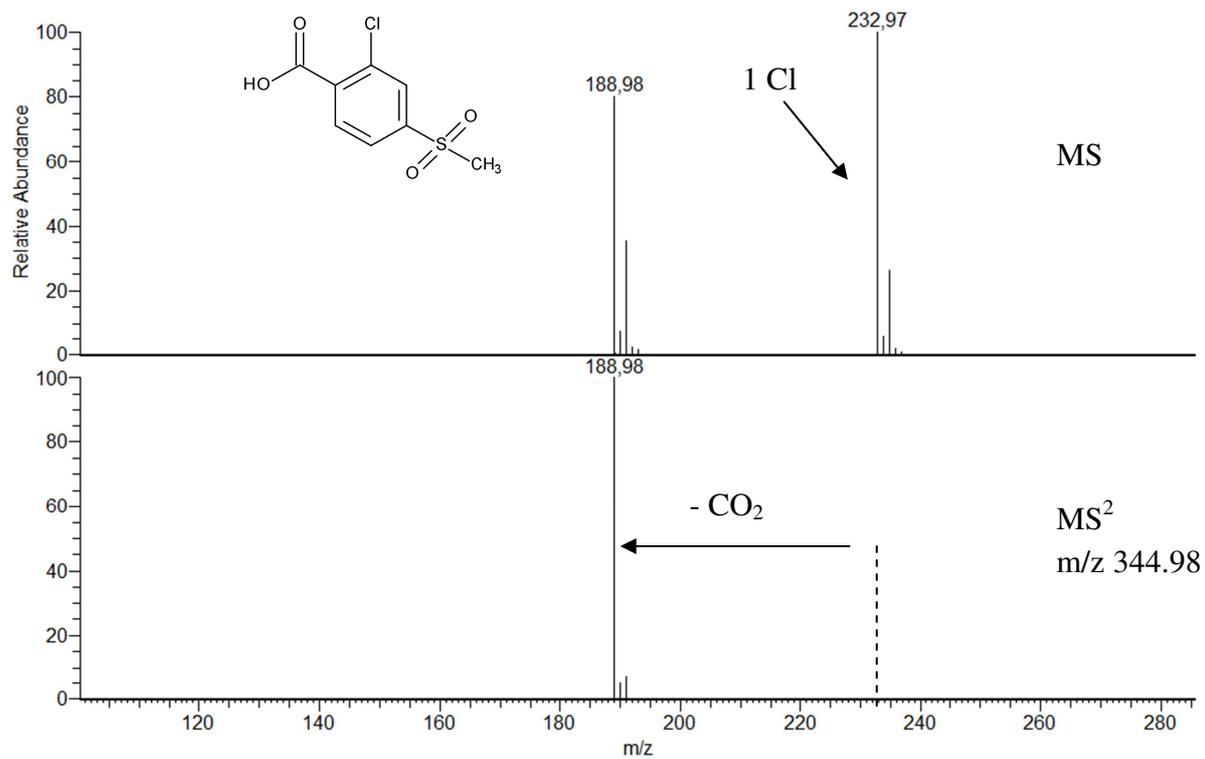
Product S2: m/z 298.91



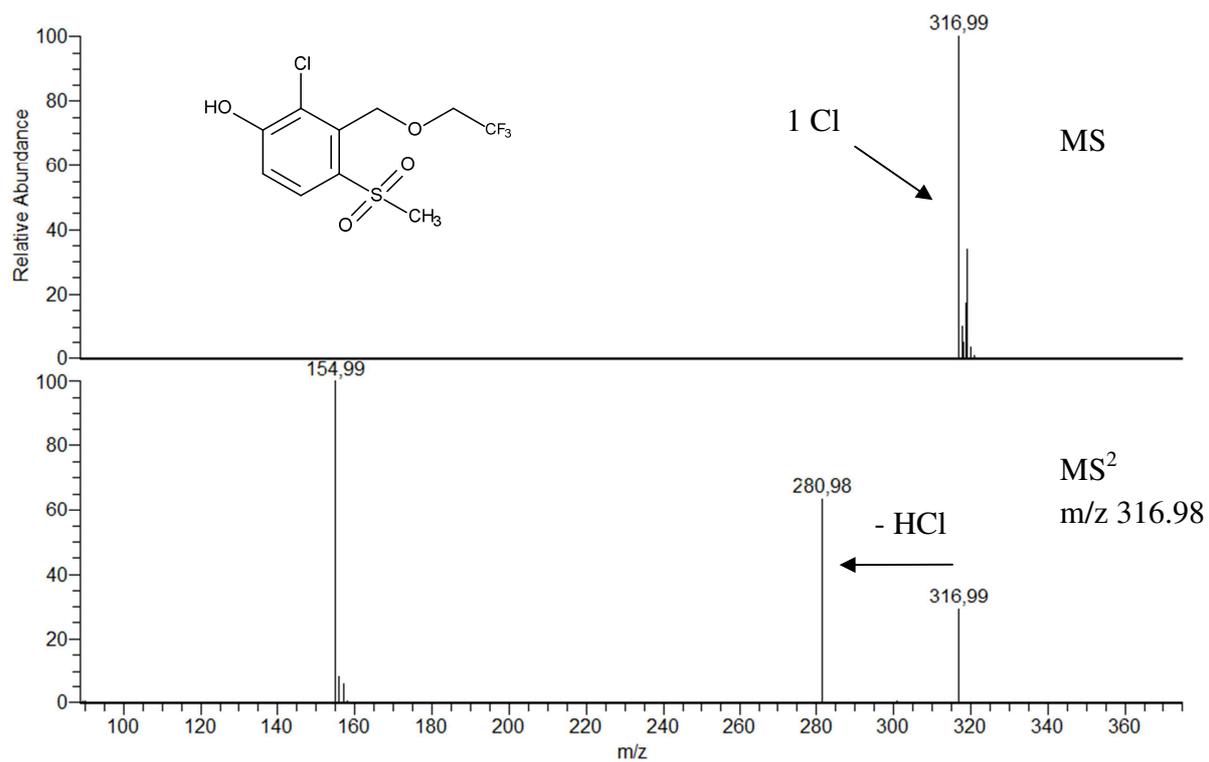
## Product T3: m/z 344.98



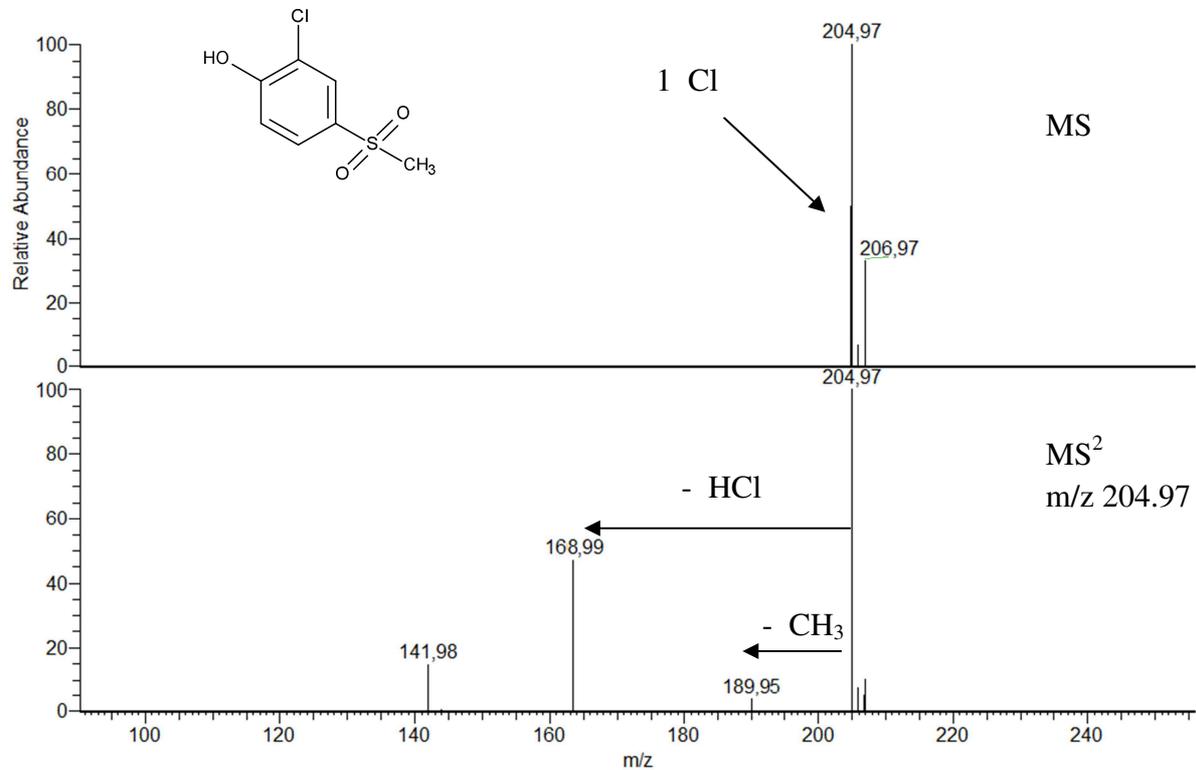
## Product S3: m/z 232.96



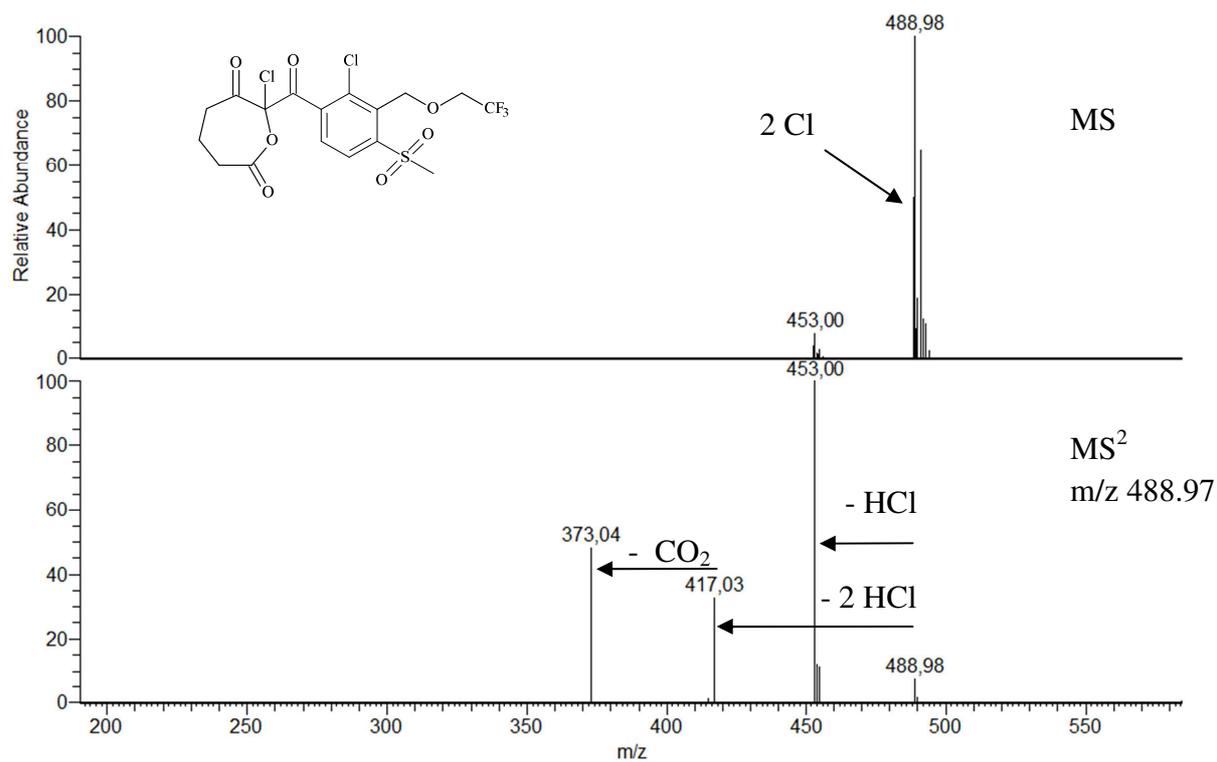
Product T4: m/z 316.98



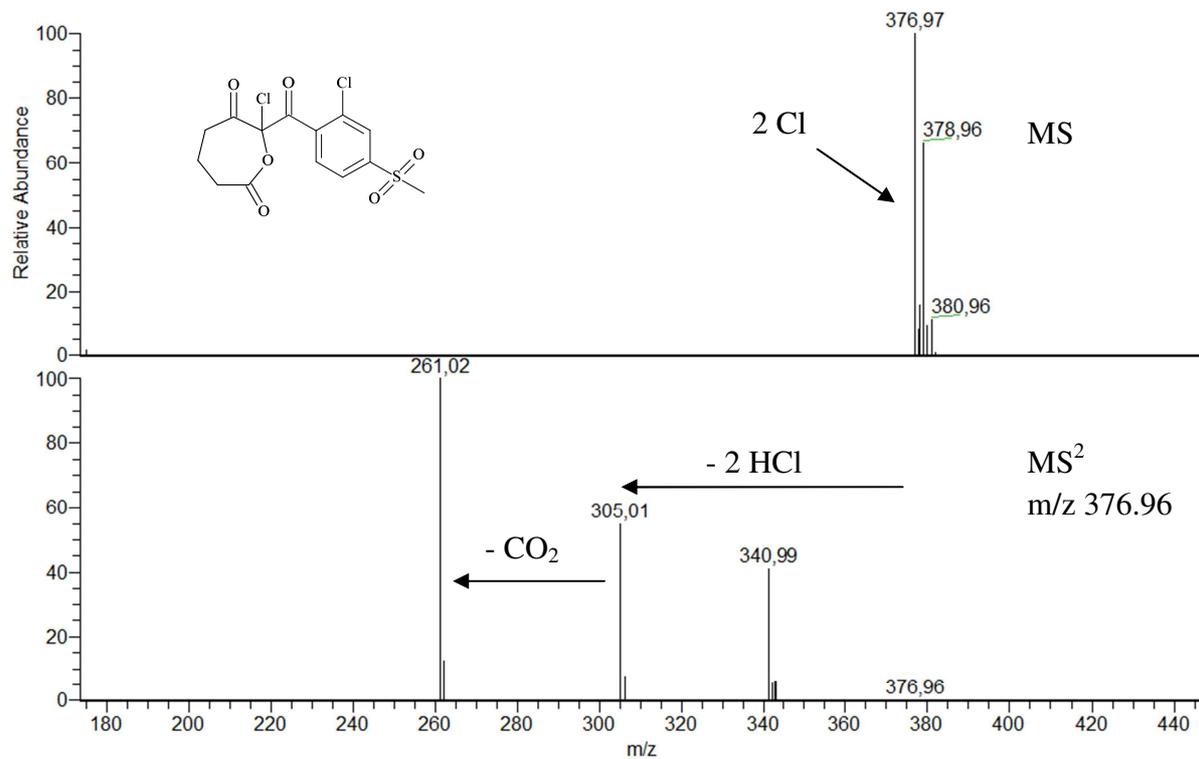
Product S4: m/z 204.97



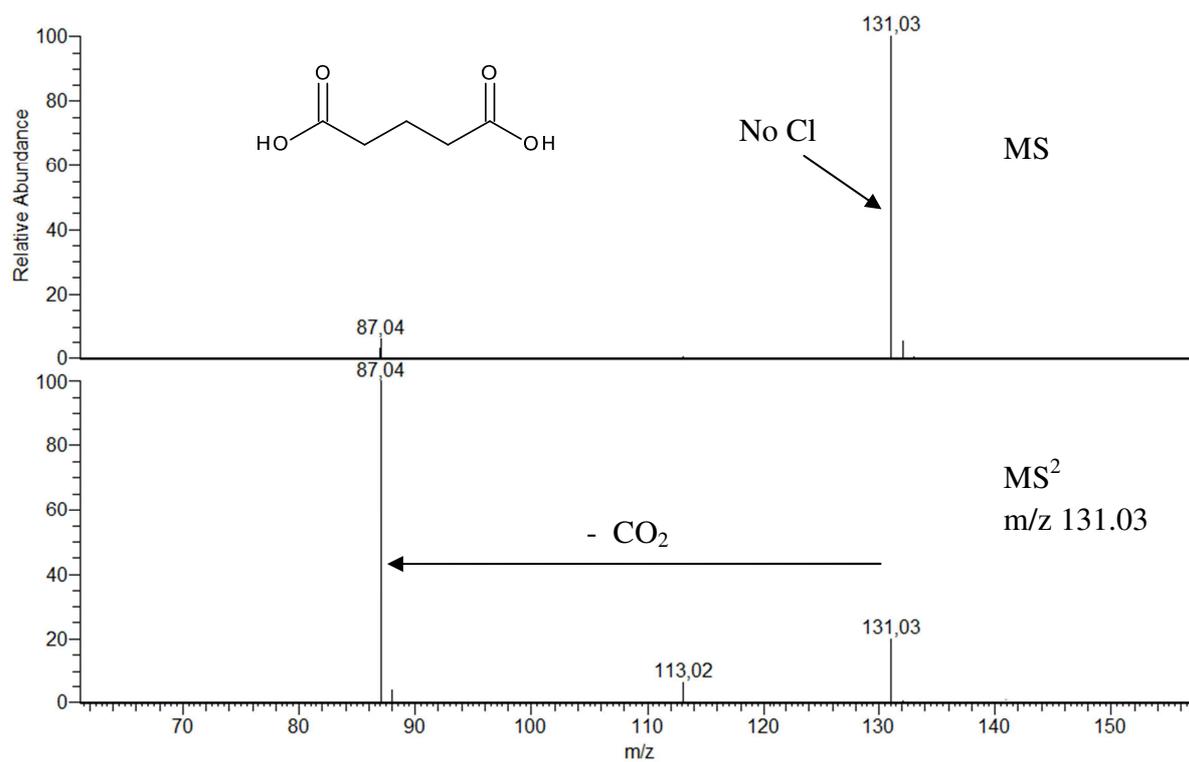
Product T5: m/z 488.97



Product S5: m/z 376.96



## Product P6: m/z 131.03



---

**ANNEXE V**


---

**Validity of the biodegradability tests – After ozonation**

The biodegradability tests (OCDE 301D) have to be confirmed valid with quality controls vessels. The composition of every biodegradability test and the percentages of dissolved organic carbon are shown Table 1.

The results are for all the experiments valid, more than 70 % DOC removal for the procedure control and more than 35 % for the toxicity control.

The quality control results confirm that the tests were valid.

**Table 1:** *Composition and DOC degradation of the quality control vessels series*

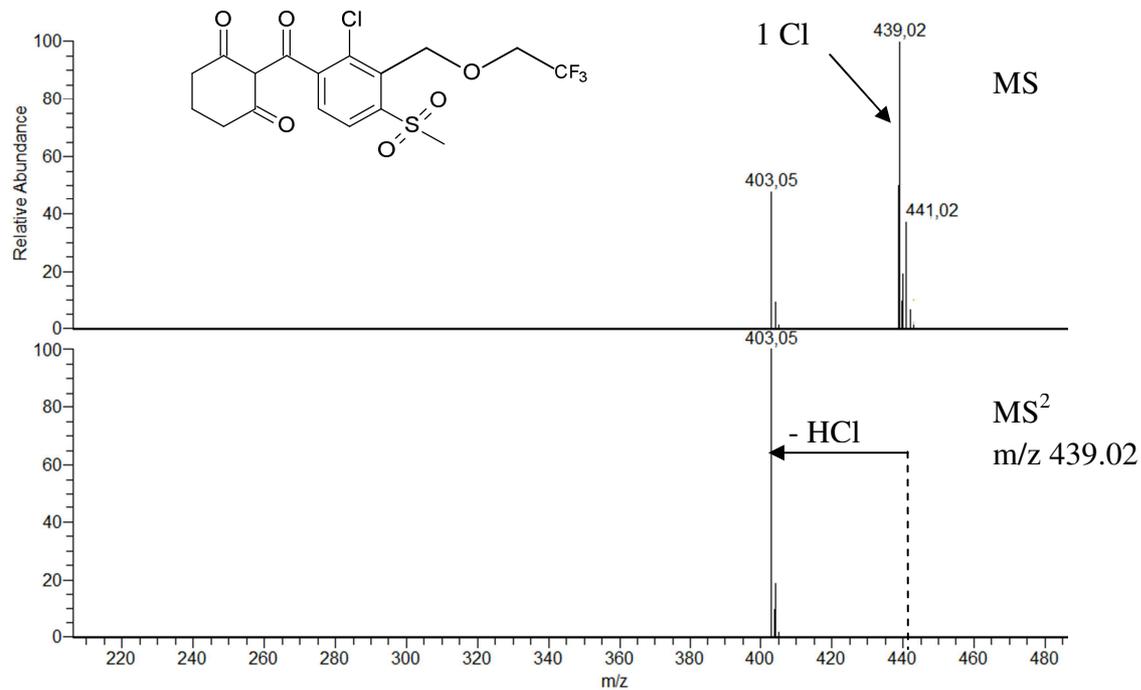
	Test Substance	Inoculum	Sodium Acetate	Nutrient Solution	%DOC removal (day 14)	
					Validity	Result
Procedure Control	✓	✓	✓	✓	> 70 %	75 (±2)
Toxicity Control	-	✓	✓	✓	> 35 %	44 (±3)

---

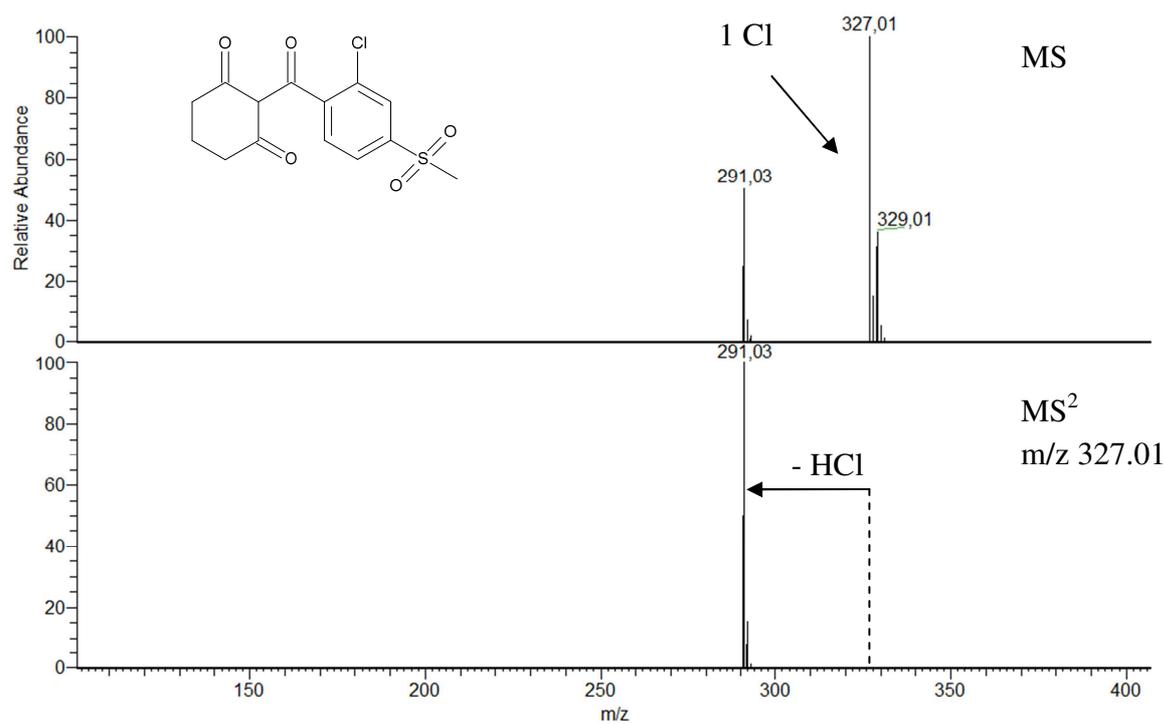
## ANNEXE VI

## Ozonation by-products identification by LC-MS – ESI (-)

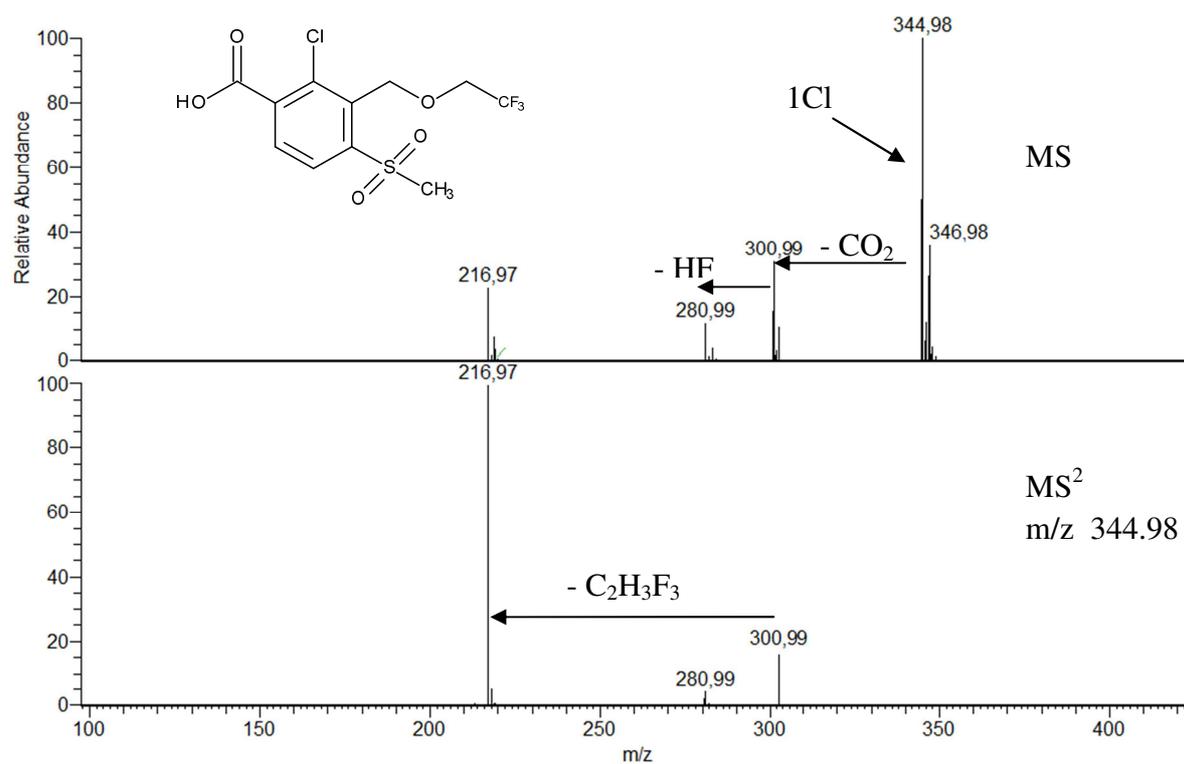
Tembotrione: m/z 439



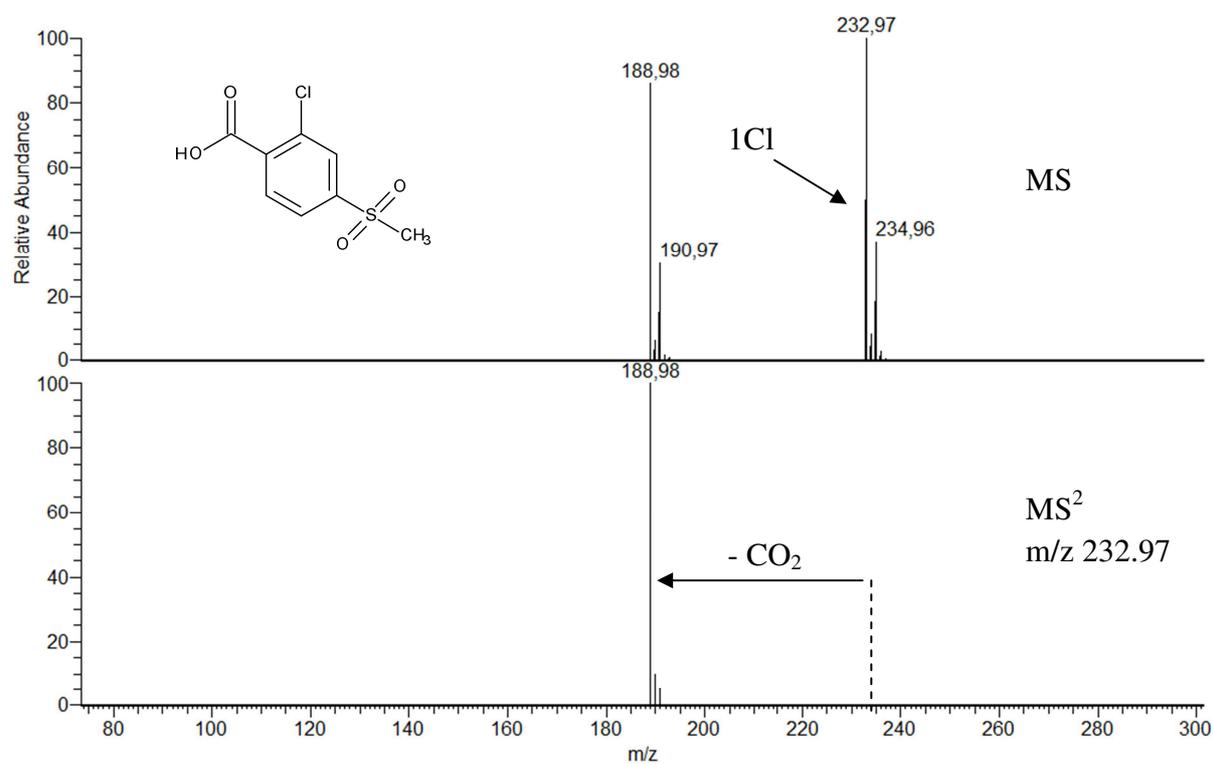
Sulcotrione: m/z 327



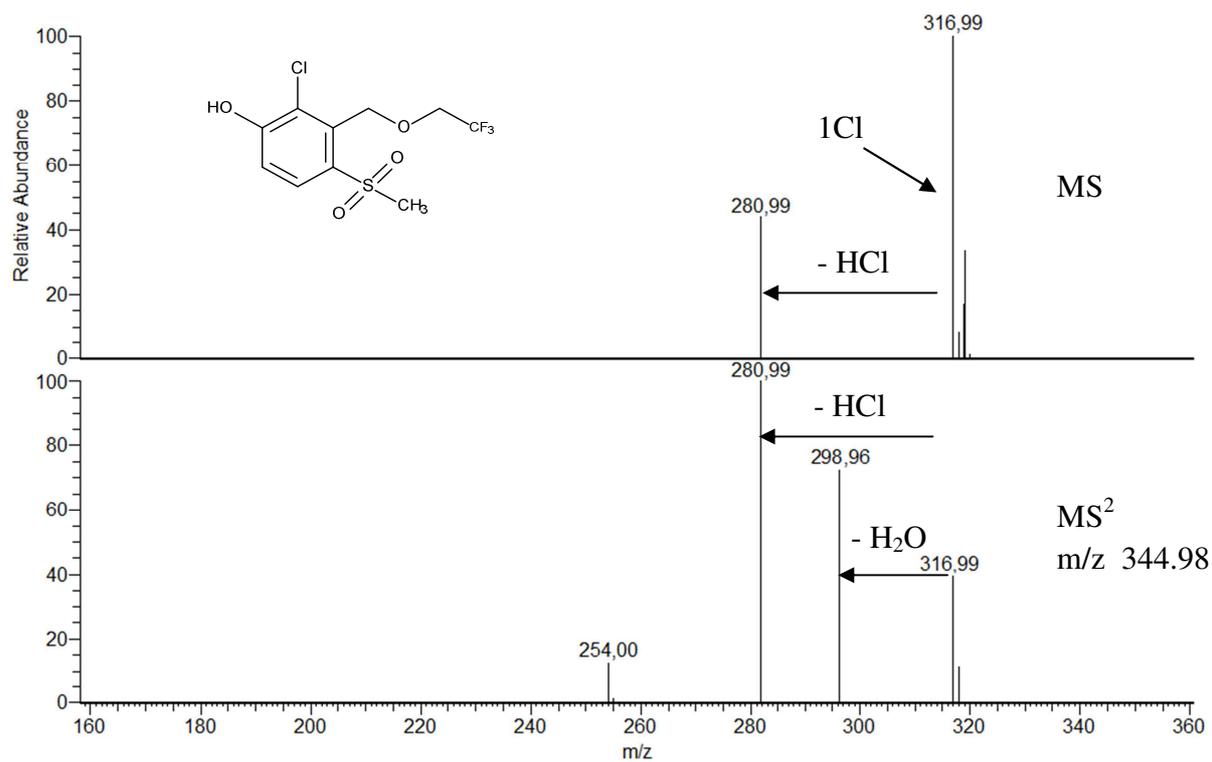
## Product T1: m/z 344.98



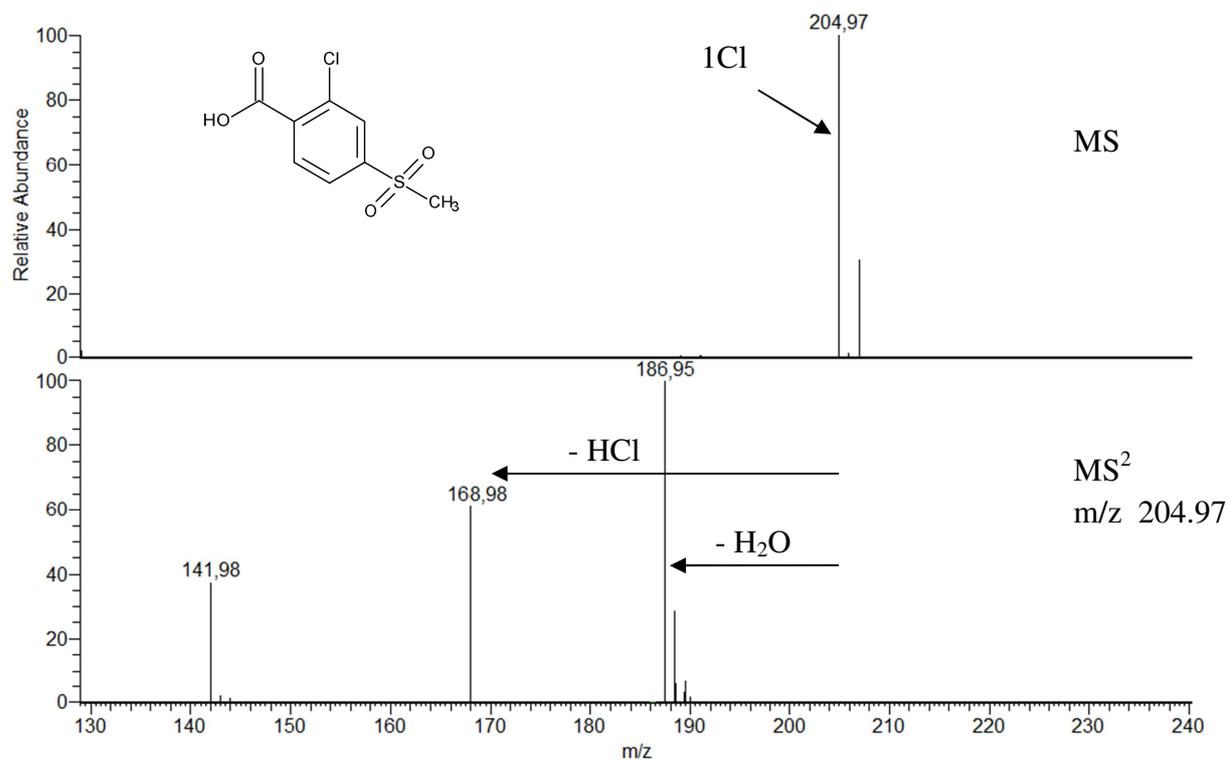
## Product S1 m/z 232.97



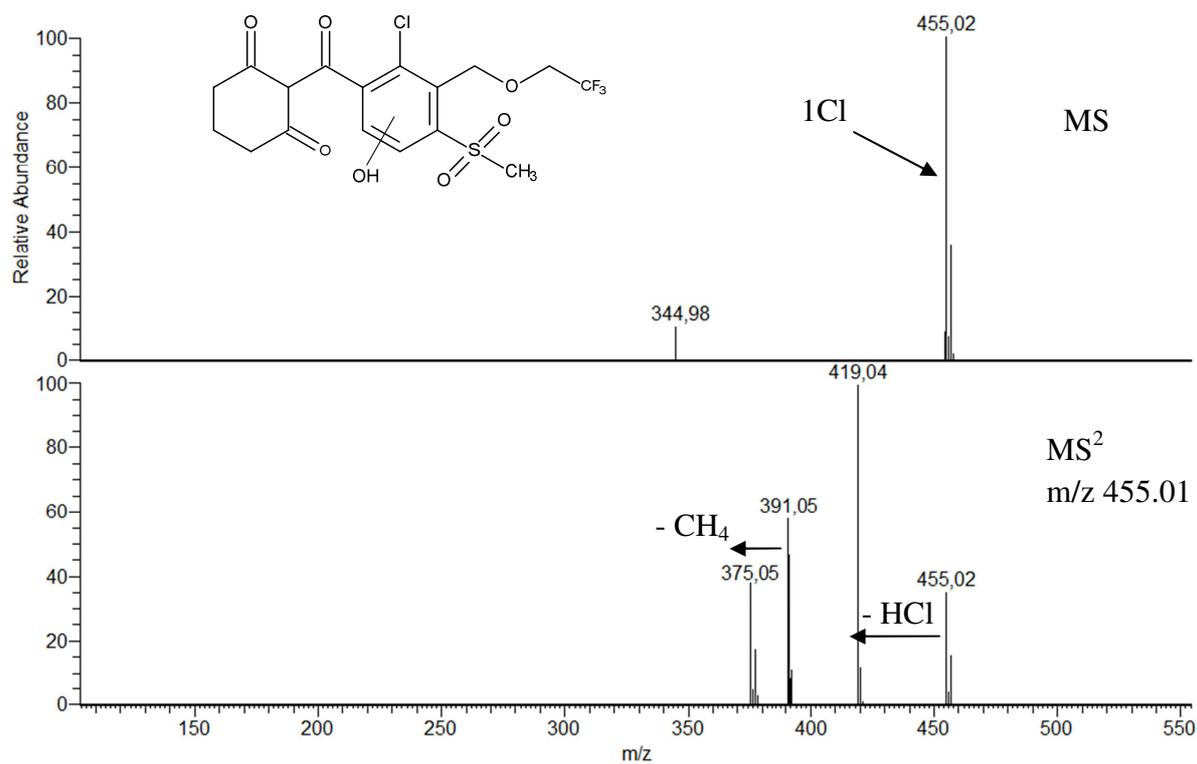
## Product T2: m/z 316.98



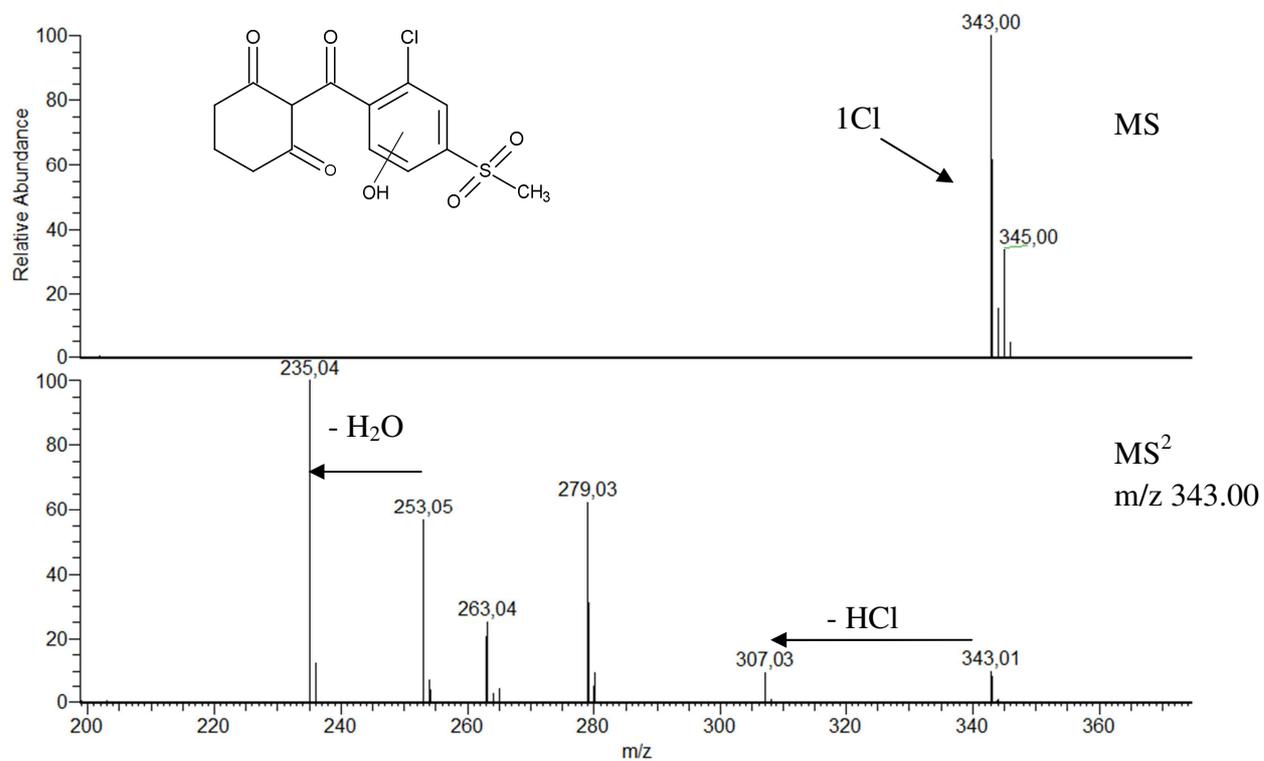
## Product S2: m/z 204.97



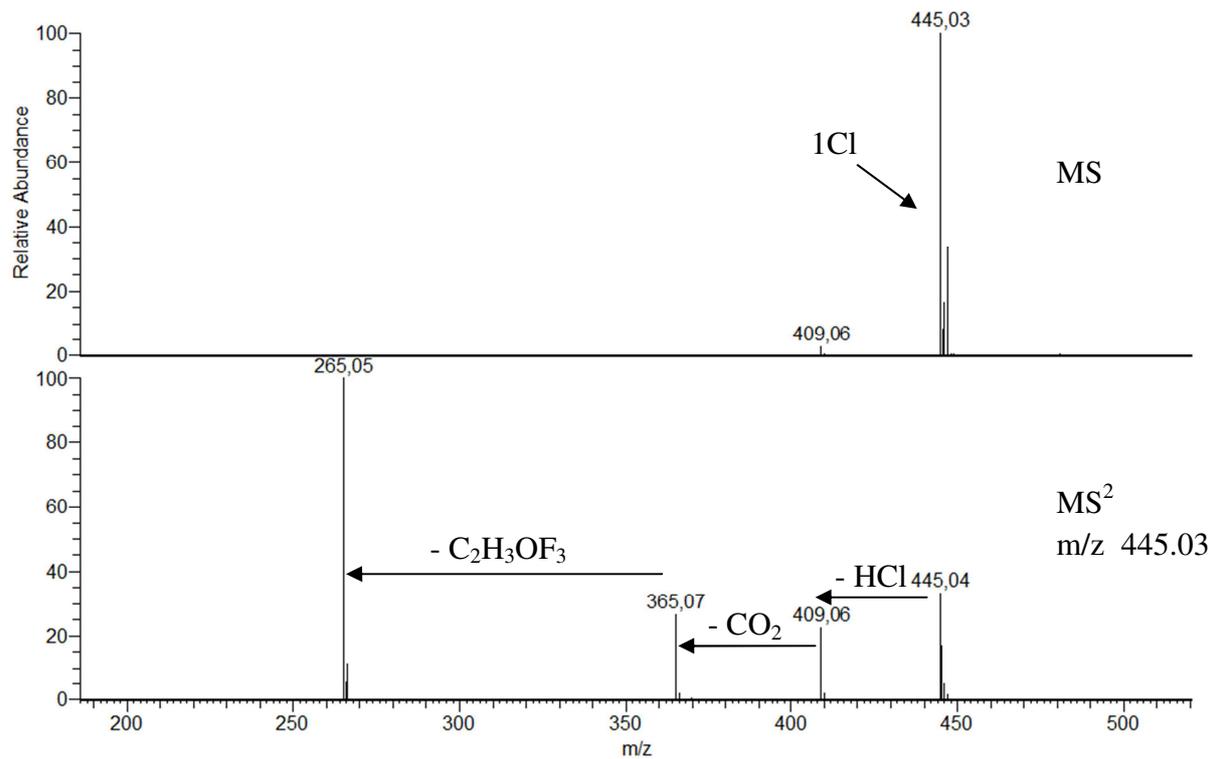
Product T3: m/z 455.02



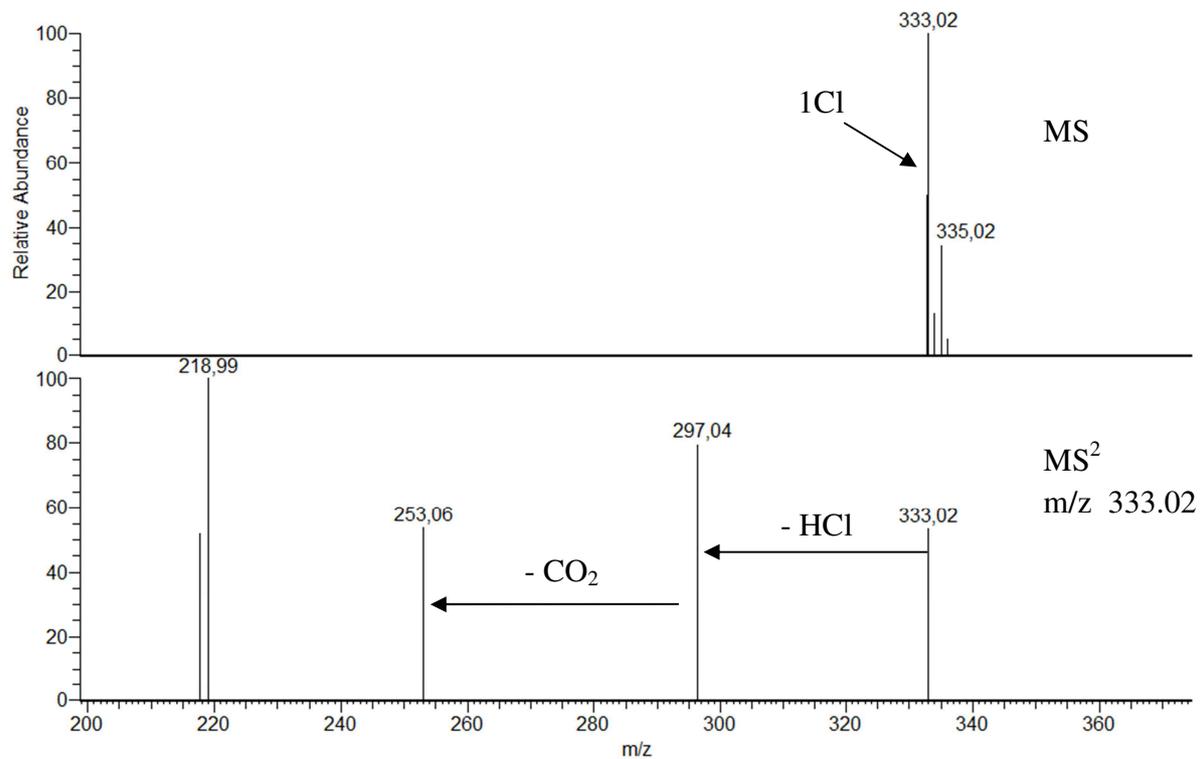
Product S3: m/z 343.00



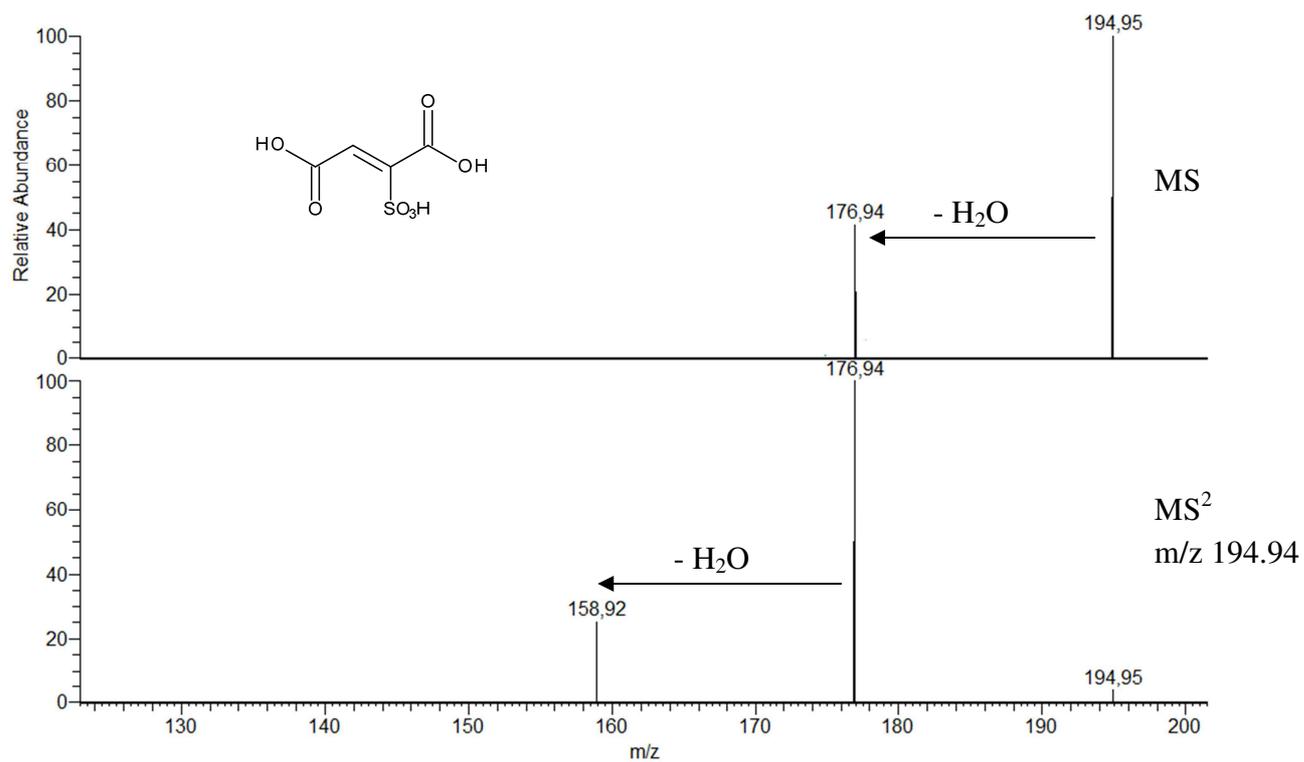
## Product T4: m/z 445



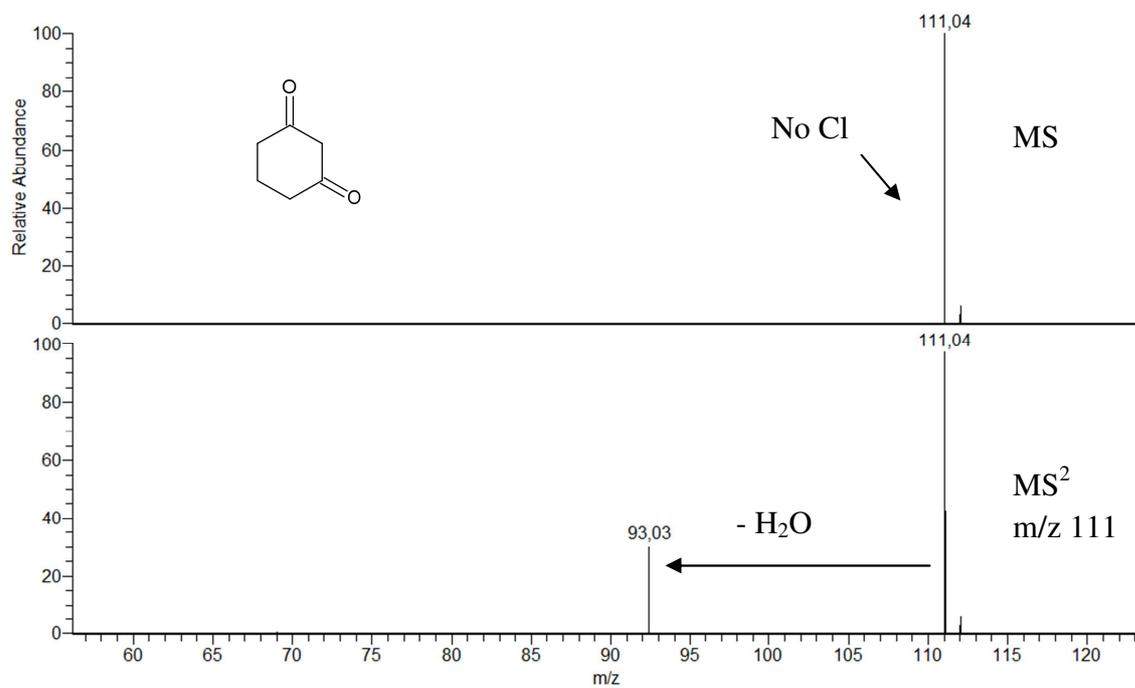
## Product S4: m/z 333.02



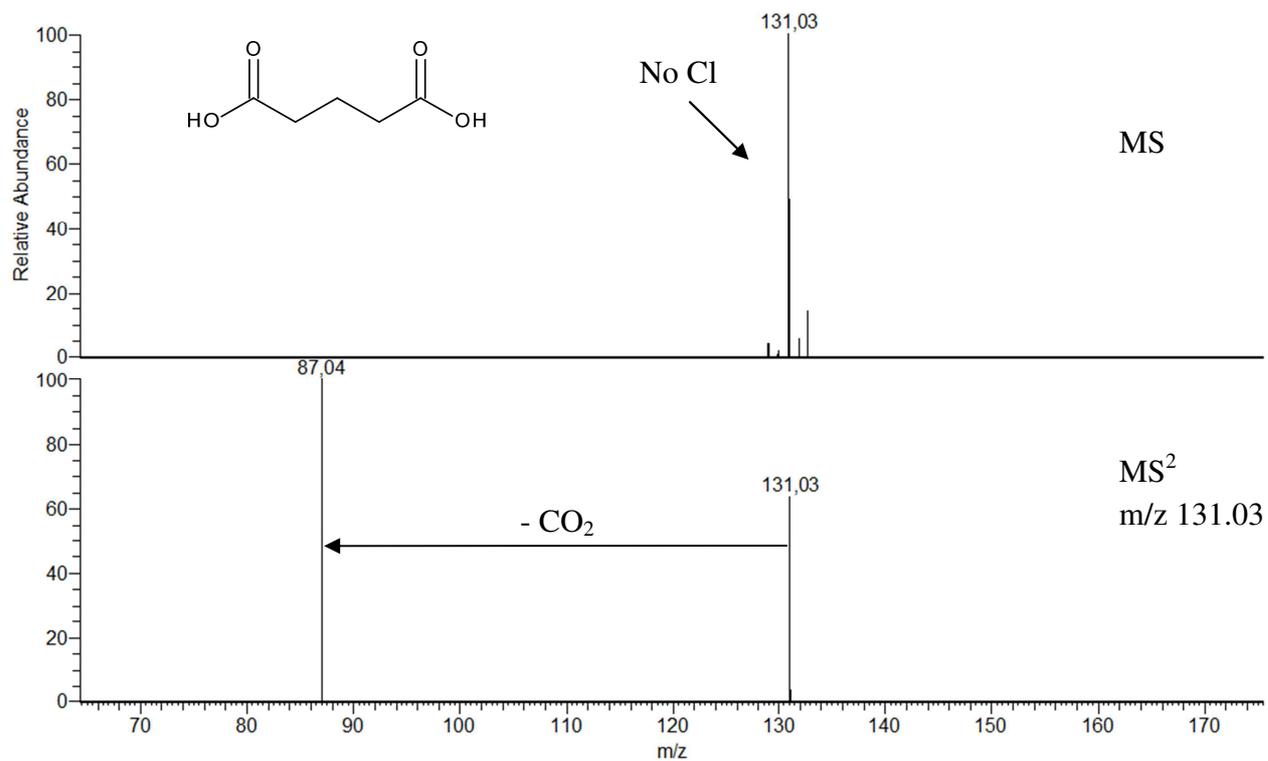
## Product P5: m/z 194.95



## Product P6: m/z 111.04



## Product P7: m/z 131.03



---

## **RÉSUMÉ**

---

## Résumé

---

Aujourd'hui, la présence de pesticides dans les eaux fait l'objet d'une forte préoccupation car ils constituent un risque majeur pour la qualité des eaux. Ce travail s'est intéressé à étudier la transformation de deux herbicides de la famille des  $\beta$ -tricétones, la tembotrione et la sulcotrione, lors de réactions de photolyse appliquées à leur devenir dans l'environnement et lors de l'utilisation du chlore et de l'ozone dans les filières de production d'eau potable. Dans un premier temps, la photolyse directe a été étudiée en condition de lumière polychromatique puis des expériences ont été réalisées en présence d'ions nitrate et de peroxyde d'hydrogène afin d'obtenir les constantes de réaction des molécules avec le radical hydroxyle. Dans un second temps, les constantes de réaction avec le chlore et l'ozone ont été déterminées afin de prédire leur cinétique de transformation. Des sous-produits de transformation ont été identifiés par LC-MS/MS et des mécanismes réactionnels ont été proposés. Des tests de toxicité utilisant la mesure de l'inhibition de la luminescence de *Vibrio fischeri* ont été réalisés en parallèle du suivi des sous-produits de transformation. Une augmentation de la toxicité a été observée lors de la photolyse et de la chloration de ces deux composés, tandis qu'une diminution a été notée au cours de l'ozonation. Enfin, une augmentation de la biodégradabilité des solutions de pesticides, déterminée par le test OCDE 301D, a été observée en cours d'ozonation et pour les premiers taux de photodégradation.

**Mots clés :** tembotrione, sulcotrione,  $\beta$ -tricétones, photolyse, chloration, ozonation, sous-produits, toxicité, biodégradabilité

## Abstract

---

Today, the presence of pesticides in water is a major concern and a threat to water quality. This work has focused on the behavior of two  $\beta$ -triketones herbicides, tembotrione and sulcotrione, under photolysis with direct applications for their behavior in surface water resources, and also during chlorination and ozonation in drinking water treatment plant. First, direct photolysis was studied under polychromatic irradiations, and then experiments were conducted in the presence of nitrates and hydrogen peroxide in order to determine the rate constants of molecules with hydroxyl radical. Secondly, chlorination and ozonation kinetic rate constants were determined in order to predict their transformation kinetics. Transformation by-products were identified by LC-MS/MS and reaction mechanisms were proposed. Toxicity tests performed by using measurement of *Vibrio fischeri* luminescence inhibition were compared with the evolution of transformation by-products. An increase in toxicity was observed for both compounds during photolysis and chlorination, while it decreased under ozonation. Finally, an increase in biodegradability of pesticide solutions, determined by using the OCDE 310D test, was observed during ozonation and for the first yields of photolysis.

**Key words:** tembotrione, sulcotrione,  $\beta$ -triketones, photolysis, chlorination, ozonation, by-products, toxicity, biodegradability