

ÉTUDE PAR HPLC ET PAR SPECTROPHOTOMÉTRIE UV DE LA RÉACTION DE DÉCOMPOSITION DU CARBOFURAN EN MILIEU AQUEUX

N. BEN HAMIDA, L. LATROUS, S. SABBAH

*Laboratoire de Chimie Analytique et d'Électrochimie, Département de Chimie,
Faculté des Sciences de Tunis, 1060 Tunis, Tunisie*

(Soumis en mai 2000, accepté en novembre 2000)

RESUME : L'étude cinétique et le mécanisme de décomposition en milieu aqueux d'un insecticide appartenant à la famille des carbamates, le carbofuran ou N-méthylcarbamate de 2,2-diméthyl-2,3-dihydrobenzofuran-7-yle ont été abordés par chromatographie à polarité de phases inversée et par spectrophotométrie UV. L'identification du 2,2-diméthyl-2,3-dihydrobenzofuranol-7-ol comme produit d'hydrolyse du carbofuran met en évidence la grande réactivité de la fonction carbamate du pesticide. Les lois de vitesse de la réaction d'hydrolyse du carbofuran sont en accord avec les mécanismes E1cB et B_{Ac}2 proposés pour l'hydrolyse des carbamates N-monosubstitués. L'entropie d'activation $\Delta S^\ddagger = 73,60 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$, l'absence de catalyse basique générale pour la réaction d'hydrolyse du carbofuran ainsi que la droite de Brønsted de pente $\beta = -1,10$ déterminée pour une série d'esters de l'acide N-méthylcarbamique, nous ont permis d'élucider le mécanisme E1cB mis en jeu lors de la réaction de dégradation hydrolytique du carbofuran.

Mots clés : carbofuran, cinétique, mécanisme, HPLC, spectrophotométrie UV.

ABSTRACT: The present paper reports the investigation of hydrolysis kinetic of 2,2-dimethyl-2,3-dihydrobenzofuran-7-yl- N-methylcarbamate in aqueous media. The determination of 2,2-dimethyl-2,3-dihydrobenzofuranol-7-ol by reversed phase liquid chromatography and spectrophotometric UV titrations, as the adduct of hydrolysis carbamate shows the significant reactivity of the insecticide. The obtained positive entropy $\Delta S^\ddagger = 73,60 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ and the absence of basic general catalysis indicate an E1cB mechanism involving unimolecular collapse of the carbofuran via a methylisocyanate intermediate. This E1cB process is confirmed by the position of the coordinate ($\text{pK}_a = 10,01$; $\log k_{\text{OH}} = 1,66$) corresponding to the carbofuran point on Brønsted line. The β slope value is $-1,10$. The Brønsted relation ship is a plot of the rate bimolecular constant logarithm versus the pK_a of the conjugate acid of leaving group for a series of substituted N-methylcarbamate which the decomposition mechanism in aqueous media procede via E1cB.

Key words : carbofuran, kinetic, mechanism, HPLC, spectrophotometric UV.

INTRODUCTION

Dans la chimie des produits phytosanitaires, les carbamates constituent une famille chimique dont les propriétés biologiques sont diverses. Si les esters des acides N-méthylcarbamiques tels que le carbofuran ou N-méthylcarbamate de 2,2-diméthyl-2,3-dihydrobenzofuran-7-yle et le carbaryl ou N-méthylcarbamate de 1-naphtyle sont des insecticides [1], les esters des N-phénylcarbamiques comme le prophame ou N-phénylcarbamate d'isopropyle, possèdent une activité herbicide [2].

La large utilisation des carbamates dans le domaine agricole pose le problème de la dégradation et du devenir de ces pesticides dans l'environnement. Les réactions d'hydrolyse et

d'hydroxylation sont les principaux modes de métabolisation de ces pesticides dans l'eau le sol et dans divers organismes vivants [3-6]. Des études menées sur la stabilité des carbamates N-monosubstitués en milieu aqueux, ont mis en évidence la dualité des mécanismes E1cB et B_{Ac}2, pour la réaction d'hydrolyse d'esters de l'acide N-méthyl et N-phénylcarbamique [7]. Si les données de la littérature ont montré que le prophame s'hydrolyse selon un processus d'élimination bimoléculaire B_{Ac}2 [8]; les dernières études cinétiques par HPLC à polarité de phases inversée et par spectrophotométrie UV menées au laboratoire, ont mis en évidence pour le carbaryl une décomposition monomoléculaire du type E1cB [9].

Il nous a donc paru intéressant d'étudier la décomposition du carbofuran ou N-méthylcarbamate de 2,2-diméthyl-2,3-dihydrobenzofuran-7-yle au cours du temps, en fonction du pH et de la température afin d'élucider son mécanisme de dégradation hydrolytique.

RESULTATS ET DISCUSSION

Mise en évidence du 2,2-diméthyl-2,3-dihydrobenzofuranol-7-ol comme produit d'hydrolyse du carbofuran à 25°C

- par HPLC à polarité de phases inversée à pH 8,8

L'identité du chromatogramme du produit de dégradation du carbofuran (a), enregistré à $\lambda = 226$ nm en fin de réaction d'hydrolyse en solution tampon borax de pH 8,8 à 25 °C et à la concentration de 20 $\mu\text{g/mL}$ avec celui du mélange standard constitué de carbofuran et de son produit de dégradation le 2,2-diméthyl-2,3-dihydrobenzofuran-7-ol (b), a montré que l'hydrolyse de la fonction carbamate constitue la principale voie de dégradation de l'insecticide en milieu aqueux. Le chromatogramme du mélange témoin présente deux pics aux temps de rétention respectifs $t_r = 7,31$ et 8,23 min (figure 1).

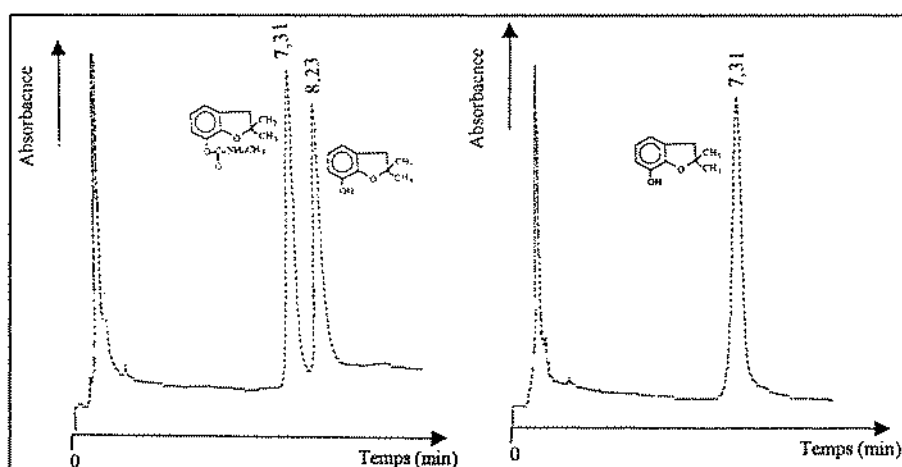


Figure 1: Chromatogrammes enregistrés à pH 8,8 et à 25°C : (a) d'une solution étalon du carbofuran et du 2,2-diméthyl-2,3-dihydrobenzofuranol-7-ol, (b) du produit de fin d'hydrolyse du carbofuran.

Colonne : Symmetry C18, 5 μm (4,6 \times 150 mm); phase mobile: eau/acétonitrile (70:30, v/v); débit: 1,5 mL/min; détection UV à $\lambda = 226$ nm.

- par spectrophotométrie d'absorption UV à pH 10,3

La mise en évidence du 2,2-diméthyl-2,3-dihydrobenzofuran-7-ol comme produit d'hydrolyse du carbofuran en solution tampon carbonate de pH 10,3 a été confirmé par la bonne superposition du spectre UV du produit de fin d'hydrolyse du carbofuran avec celui 2,2-diméthyl-2,3-dihydrobenzofuran-7-ol pris comme référence (figure 2).

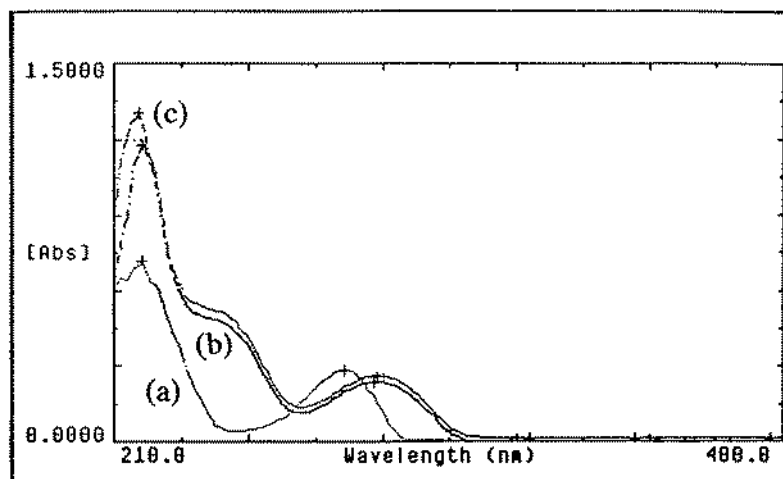


Figure 2: Spectres d'absorption UV enregistrés à pH 10,3: (a) du carbofuran; (b) du 2,2-diméthyl-2,3-dihydrobenzofuran-7-ol et - (c) des produits de fin d'hydrolyse du carbofuran. [carbofuran] = [2,2-diméthyl-2,3-dihydrobenzofuran-7-ol] = 10^{-4} M à 25 °C.

Détermination des constantes de vitesse de la réaction d'hydrolyse du carbofuran à 25°C

- par spectrophotométrie UV

La présence des points isobestiques aux longueurs d'ondes 261 et 280 nm sur les spectres UV du carbofuran enregistrés au cours du temps en solution tampon carbonate de pH 10,3, implique que la vitesse de disparition des réactifs est égale à la vitesse de formation des produits de la réaction et la constante de vitesse d'hydrolyse est du pseudo-premier ordre (figure 3).

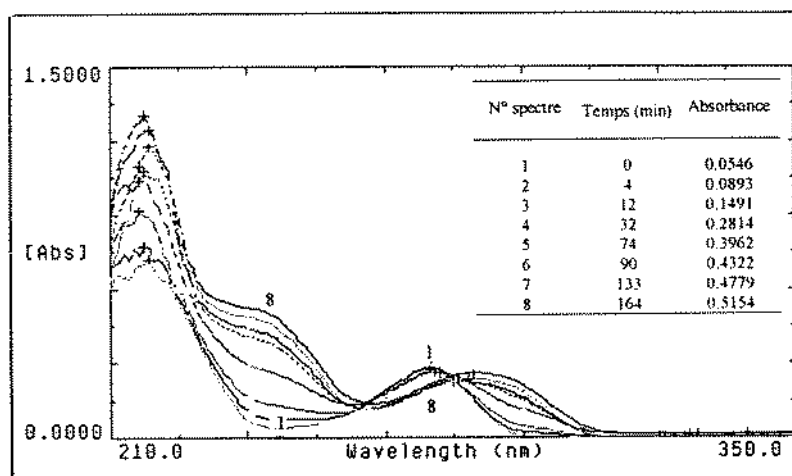


Figure 3: Spectres UV en fonction du temps de la réaction d'hydrolyse du carbofuran en solution tampon carbonate de pH 10,3 à 25°C.

- Par HPLC

L'évolution en fonction du temps du profil chromatographique du 2,2-diméthyl-2,3-dihydrobenzofuranol-7-ol (2), au cours de la réaction d'hydrolyse du carbofuran (1) a été suivie à $\lambda = 226$ nm dans une solution tampon borax de pH 8,8 à 25°C (figure 4).

La constante de vitesse expérimentale $k_{\text{obs}} = 0,055 \cdot 10^{-2} \text{ min}^{-1}$ a été déterminée à partir de la droite d'équation :

$$\log(A_{\infty} - A_t) = -\frac{k_{\text{obs}}}{2,3} t + \log(A_{\infty} - A_0) \text{ où } A_0, A_{\infty} \text{ et } A_t \text{ représentent respectivement les}$$

aires initiale, finale et à un instant t du pic correspondant au 2,2-diméthyl-2,3-dihydrobenzofuranol-7-ol.

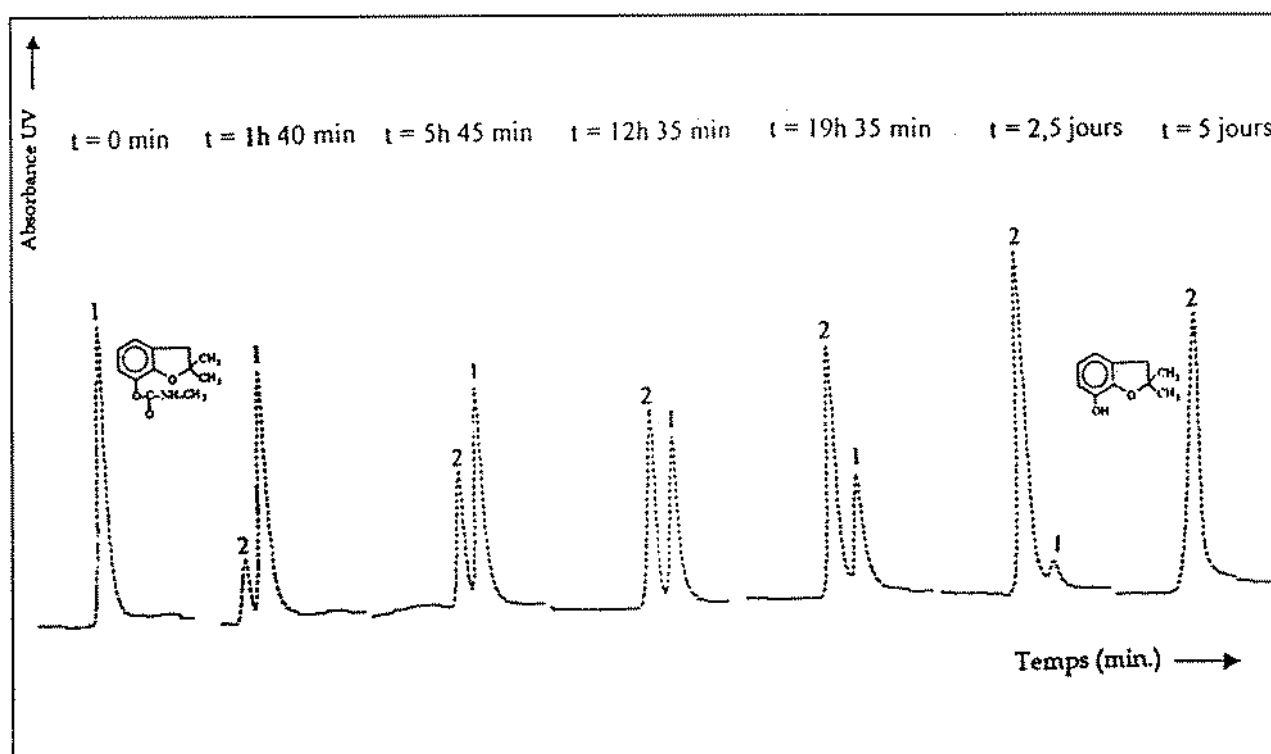


Figure 4: Chromatogrammes de la réaction d'hydrolyse du carbofuran en fonction du temps dans une solution tampon borax 0,01 M de pH 8,8 à 25°C. [carbofuran] = 20 µg/mL. Colonne :Symmetry C18, 5 µm (4,6 × 150 mm); phase mobile: eau/acétonitrile (70:30, v/v); débit: 1,5 mL/min; détection UV à $\lambda = 226$ nm.

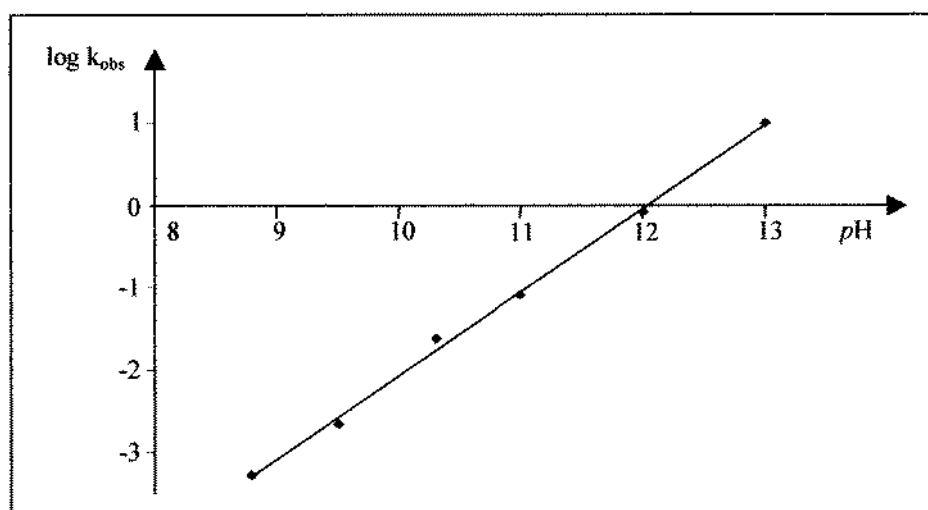
Influence du pH sur la vitesse d'hydrolyse du carbofuran à 25 °C

Les valeurs des constantes de vitesse du pseudo-premier ordre k_{obs} d'hydrolyse du carbofuran à 25°C ont été déterminées dans des solutions tampon de pH compris entre 8,8 et 13, par mesure de la variation de l'absorbance due à la disparition du carbofuran à $\lambda = 275$ nm, où à l'apparition du 2,2-diméthyl-2,3-dihydrobenzofuranol-7-ol à $\lambda = 240$ nm (tableau I).

Tableau I: Constantes de vitesse du pseudo-premier ordre k_{obs} de la réaction d'hydrolyse du carbofuran en fonction du pH à 25°C.

pH	8,8	9,5	10,3	11	12	13
$10^2 \times k_{\text{obs}} \text{ (min}^{-1}\text{)}$	0,05	0,23	2,53	8,50	83,00	968

La représentation graphique (figure 5) de la variation logarithmique de la constante de vitesse expérimentale k_{obs} de la réaction d'hydrolyse du carbofuran en fonction du pH à 25°C est une droite d'équation $\log k_{\text{obs}} = 1,009 pH - 12,14$ ($R^2 = 0,995$).

**Figure 5:** Variation du logarithme de la constante de vitesse expérimentale d'hydrolyse du carbofuran en fonction du pH à 25°C.

La droite obtenue pour l'hydrolyse du carbofuran de pente 1 est en parfait accord avec les formes limites des lois de vitesse (I) et (II) :

$$k_{\text{obs}} = \frac{k_1 K_a}{a_H} \quad (\text{I})$$

$$k_{\text{obs}} = k_2 [\text{OH}^-] \quad (\text{II})$$

correspondant respectivement aux mécanismes E1cB et B_{Ac}2 (figure 6) [10,11].

Le mécanisme E1cB se différencie de B_{Ac}2 par la formation d'un intermédiaire méthylisocyanate.

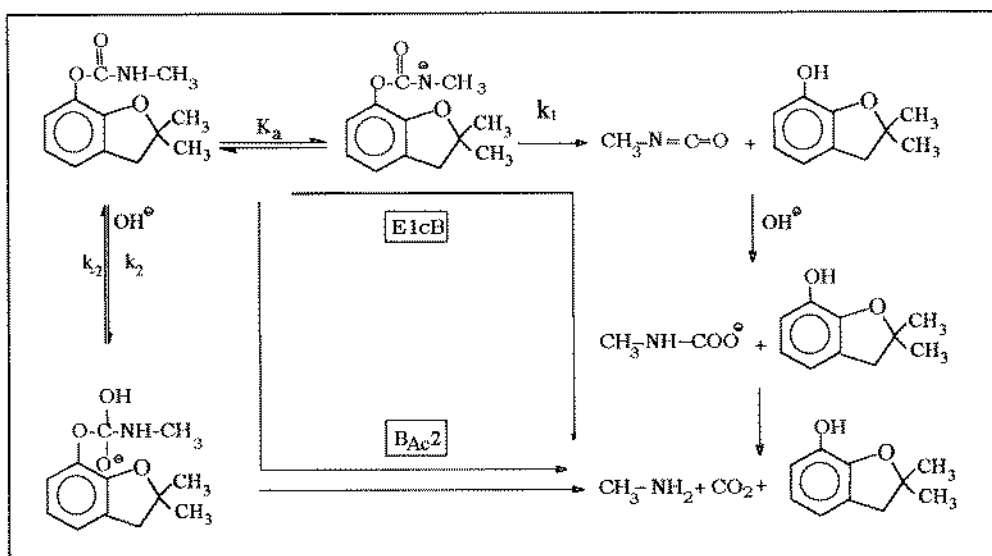


Figure 6: Hydrolyse du carbofuran selon deux mécanismes possibles E1cB et BAc2.

Recherche d'une catalyse basique générale : éventualité d'un mécanisme E₂

Bien que les schémas E1cB et BAc2 soient les seuls qui ont été proposés jusqu'ici pour l'hydrolyse des carbamates d'aryle ou d'alcoyle, il est possible d'imaginer pour la rupture en milieu aqueux du carbofuran un schéma du type E₂ (figure 7).

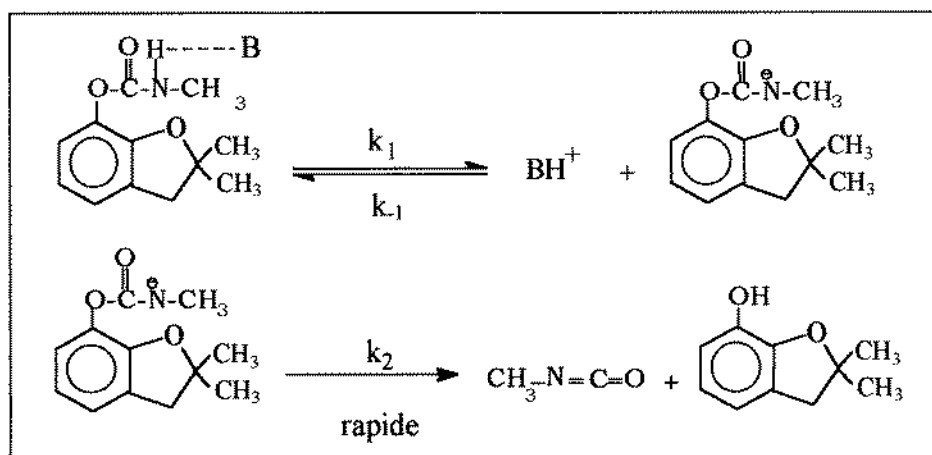


Figure 7: Dégradation possible du carbofuran en milieu aqueux selon un mécanisme E₂.

Un tel mécanisme met en jeu un transfert de proton dans l'étape déterminante ce qui devrait se traduire par une catalyse basique générale [12]. Celle-ci a été recherchée à partir d'une étude de l'influence de la concentration en tampon carbonate de pH 10,3 sur la vitesse de réaction d'hydrolyse du carbofuran (tableau II).

Tableau II: Constantes de vitesse d'hydrolyse du carbofuran à différentes concentrations en tampon carbonate à pH 10,3 et à 25°.

$[\text{CO}_3^{2-}] \times 10^2 \text{ mole. L}^{-1}$	0,5	1,0	2,0	4,0
$10^2 \times k_{\text{obs}} (\text{min}^{-1})$	2,52	2,54	2,53	2,53

L'examen des constantes de vitesse d'hydrolyse déterminées par spectrophotométrie UV montre que la vitesse reste constante. Il n'y a donc pas de catalyse générale et le mécanisme E_2 peut être rejeté.

Détermination de l'entropie d'activation de la réaction d'hydrolyse du carbofuran

D'après la littérature les fonctions thermodynamiques d'activation peuvent être un argument en faveur de l'un ou l'autre des deux mécanismes $E1cB$ et $B_{Ac}2$ [13].

En effet leurs entropies d'activation ΔS^\ddagger présentent des signes opposés et un écart important selon qu'il s'agisse d'un processus $E1cB$ ($\Delta S^\ddagger > 0$) ou d'un schéma $B_{Ac}2$ ($\Delta S^\ddagger < 0$) [14].

Nous avons déterminé l'entropie d'activation ΔS^\ddagger de la réaction d'hydrolyse du carbofuran, à partir des constantes de vitesse mesurées à différentes températures par HPLC à polarité de phases inversée (tableau III) et par spectrophotométrie UV (tableau IV) dans deux solutions tampons respectivement à pH 8,8 et 10,3.

Tableau III: Constantes de vitesse de la réaction d'hydrolyse du carbofuran en fonction de la température dans une solution tampon borax de pH 8,8 déterminées par HPLC à polarité de phases inversée.

Température °C	25	30	35	40
$10^2 \times k_{\text{obs}} (\text{min}^{-1})$	0,05	0,13	0,21	0,58

Tableau IV: Constantes de vitesse de la réaction d'hydrolyse du carbofuran en fonction de la température dans une solution de tampon carbonate de pH 10,3 déterminées par spectrophotométrie UV.

Température °C	25	30	35	40
$10^2 \times k_{\text{obs}} (\text{min}^{-1})$	7,11	5,98	13,57	28,47

La valeur moyenne de l'entropie d'activation de la réaction d'hydrolyse du carbofuran $\Delta S^\ddagger = + 73,60 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$, calculée à 25°C (Cf. partie expérimentale), est déduite de l'énergie d'activation $E_a = 25,53 \text{ Kcal mol}^{-1}$ ou $E_a = 25,62 \text{ Kcal mol}^{-1}$ déterminées graphiquement à partir de la pente de l'une ou l'autre des droites représentées par la figure 8.

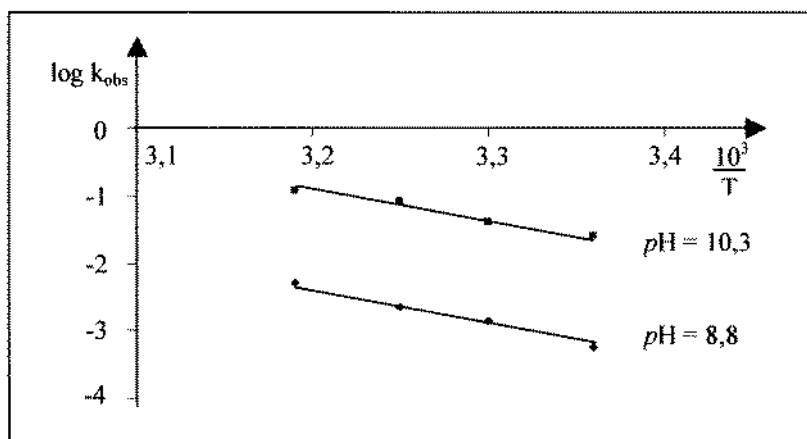


Figure 8: Variations logarithmiques des constantes de vitesse expérimentale k_{obs} de la réaction d'hydrolyse du carbofuran en fonction de la température déterminées par HPLC à polarité de phases inversée à $\text{pH} 8,8$ et par spectrophotométrie UV à $\text{pH} 10,3$.

Cette valeur de $+73,60 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ est à rapprocher de celles obtenues pour la réaction d'hydrolyse, selon le mécanisme E1cB des bicarbamates phenmédiphame et desmédiphame [15].

Utilisation de la droite de Brønsted dans la mise en évidence du mécanisme d'hydrolyse du carbofuran

La position du point de coordonnées ($\text{pK}_a = 10,10$; $\log k_{\text{OH}} = 1,66$) correspondant au carbofuran sur la droite de Brønsted établie par Williams d'équation $\log k_{\text{OH}} = -1,10 \text{ pK}_a + 10,9$ ($R^2 = 0,998$), confirme le mécanisme E1cB pour lequel l'étape cinétiquement déterminante est la formation de l'intermédiaire isocyanate de méthyle (figure 9).

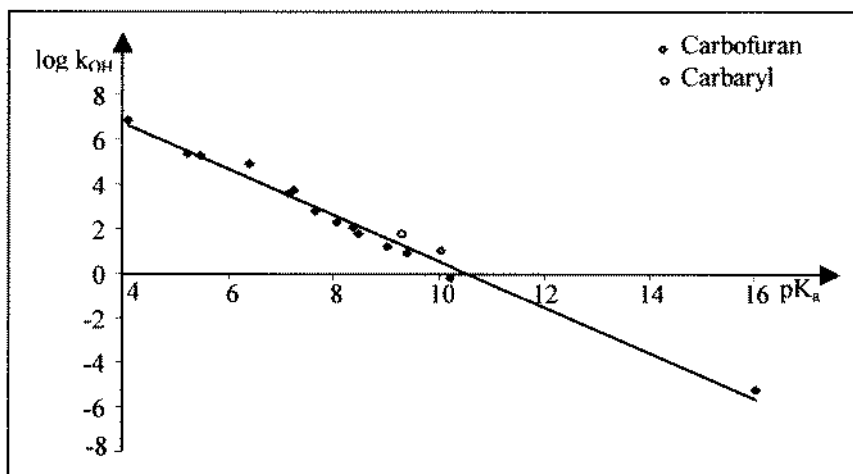


Figure 9: Relation de Brønsted entre le logarithme des constantes de vitesse bimoléculaires k_{OH} d'hydrolyse à 25°C des N-méthylcarbammates d'aryle et d'alkyle et les pK_a des groupes partants.

Cette droite a été déterminée à partir des constantes de vitesse bimoléculaire k_{OH} en fonction du pK_a du groupe partant d'une série d'esters dérivant de l'acide N-méthylcarbamique [16] dont le processus d'élimination est du type E1cB.

La constante de vitesse bimoléculaire de la réaction d'hydrolyse du carbofuran k_{OH} a été déterminée à partir de la droite d'équation $\log k_{obs} = 1,009 pH - 12,14$ ($R^2 = 0,998$). Sa valeur calculée est égale à $45,71 \text{ min}^{-1}$.

Le pK_a du 2,2-diméthyl-2,3-dihydrobenzofuran-7-ol a été déterminée expérimentalement à partir de l'enregistrement de son spectre UV en fonction du pH à 25°C (figure 10).

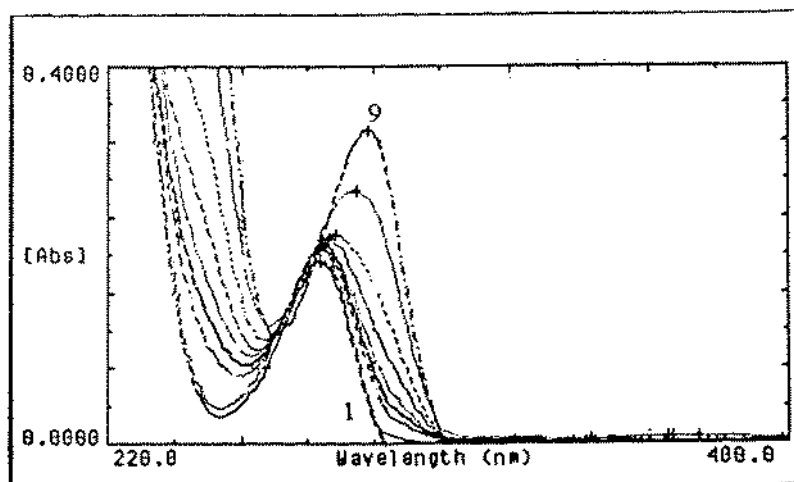


Figure 10 : Enregistrement du spectre UV du 2,2-diméthyl-2,3-dihydrobenzofuran-7-ol en fonction du pH à 25°C . Spectres N°1 : $[\text{H}_3\text{O}^+] = 1\text{N}$, spectres N°9 : $[\text{OH}^-] = 1\text{N}$.

La valeur du pK_a 10,01 est obtenue à partir de la droite d'équation $pK_a = pH - \log u + 0,255$ avec $u = \frac{A - A_{AH}}{A_{A^-} - A}$ où A_{A^-} , A_{AH} , A , sont les absorbances relatives aux espèces ionisées, non ionisées et au mélange des deux espèces (figure 11).

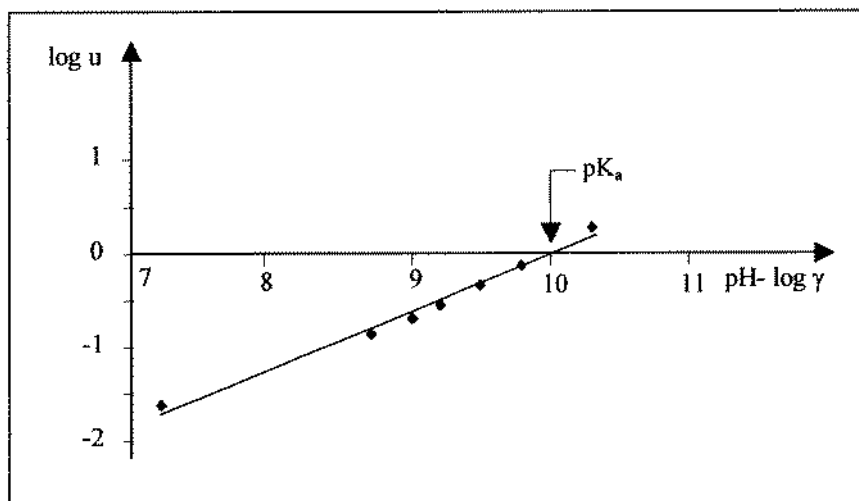


Figure 11 : Variation logarithmique du rapport u en fonction du pH.

CONCLUSION

Nous avons développé, dans ce travail, l'étude cinétique et le mécanisme d'hydrolyse d'un insecticide appartenant à la famille des carbamates : le carbofuran ou N-méthylcarbamate de 2,2-diméthyl-2,3-dihydrobenzofuran-7-yle.

La détermination par HPLC à polarité de phases inversée et par spectrophotométrie UV, du 2,2-diméthyl-2,3-dihydrobenzofuran-7-ol comme produit de dégradation du carbofuran, met en évidence la grande réactivité de la fonction carbamate.

La valeur positive de l'entropie d'activation $\Delta S^\ddagger = 73,60 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ et l'absence de catalyse basique générale sont en faveur d'un mécanisme E1cB pour l'hydrolyse du pesticide.

Ce résultat est confirmé par la position du point de coordonnées ($\text{pK}_a = 10,10$, $\log k_{\text{OH}} = 1,66$) correspondant au carbofuran sur la droite de d'équation $\log k_{\text{OH}} = 1,10 \text{ pK}_a + 10,9$ établie par Williams et dont la pente β de valeur $-1,10$ est caractéristique d'un mécanisme E1cB. La droite de Brønsted de pente β a été déterminée à partir d'une série d'esters de l'acide N-méthylcarbamique.

PARTIE EXPERIMENTALE

Réactifs et solvants

- Acétonitrile pour HPLC (LAB-SCAN, Irlande)
- Eau bi-distillée
- Carbofuran (Ridel-de-Haën) de pureté 99%
- Borax $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10 \text{ H}_2\text{O}$ Merck
- HCl Merck
- NaOH Fluka
- KCl Fluka

Instruments

- Pompe : BECKMAN Modèle 127 utilisée en mode isocratique
- Injecteur : vanne Rhéodyne type 7125 dont la boucle d'injection est de $20 \mu\text{L}$.
- Détecteur UV-Vis type Hewlett-Packard Modèle 1050.
- Intégrateur type Hewlett-Packard 3395
- Colonne Waters type Symmetry, remplie de silice greffée octadécyle de granulométrie $5 \mu\text{m}$, de longueur 15 cm et de diamètre intérieur 4,6 mm.
- Spectrophotomètre UV type BECKMAN DU 640 B.

préparation des solutions étalons

une solution mère de chaque pesticide est préparée par pesée dans l'acétonitrile à la concentration de 10^{-2} M. les diverses solutions aqueuses utilisées ont été préparées à différentes valeurs de pH et ce par dilution de la solution mère à la concentration de 10^{-4} M dans le tampon adéquat. La force ionique μ de ces solutions a été maintenue constante ($\mu = 1$) par addition de KCl.

détermination de l'entropie d'activation ΔS^\ddagger

L'enthalpie libre d'activation a pour équation $\Delta G^\ddagger = -RT \ln \frac{hk_{\text{obs}}}{T k_B}$ (1) où h et k_B représentent respectivement les constantes de Plank et de Boltzman ($h = 6,62 \cdot 10^{-27}$ erg sec ; $k_B = 1,38 \cdot 10^{-16}$ erg K $^{-1}$).

Comme par définition $\Delta G^\ddagger = \Delta H^\ddagger - T\Delta S^\ddagger$ (2)

$\Delta H^\ddagger = E_a - RT$ (3) (pour une réaction en milieu liquide homogène).

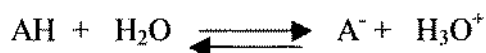
Nous pouvons relier la constante de vitesse expérimentale k_{obs} à l'entropie d'activation en combinant les équations (1), (2) et (3) on obtient :

$$\Delta S^\ddagger (2,3R) = \log k_{\text{obs}} - \log \frac{ek_B}{h} - \log T + \frac{E_a}{2,3RT} \text{ avec } \log \frac{ek_B}{h} = 10,755.$$

L'énergie d'activation E_a est déterminée à partir de la droite d'équation $\log k_{\text{obs}} = f\left(\frac{1}{T}\right)$ qui a pour pente $-\frac{E_a}{2,3R}$ où T et R représentent respectivement la température et la constante des gaz parfaits.

détermination du pK_a du 2,2-diméthyl-2,3-dihydrobenzofuran-7-ol par spectrophotométrie UV

Un acide AH se dissocie en solution suivant l'équilibre:



La constante d'acidité est définie par $K_a = \frac{[\text{A}^-]}{[\text{AH}]}$ d'où

$$pK_a = \text{pH} - \log \frac{[\text{A}^-]}{[\text{AH}]} \quad (1)$$

Pour déterminer expérimentalement la valeur du pK_a il suffit, de mesurer le rapport $\frac{[\text{A}^-]}{[\text{AH}]}$ pour un pH compris entre les valeurs ($pK_a - 1$) et ($pK_a + 1$) pour lesquels les mélanges contiennent

environ 90% et 10% des formes limites.

Nous désignons par A_{AH} (unité: $\text{mole}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$), l'absorbance du produit non dissocié AH, en milieu généralement acide; A_A , l'absorbance de l'ion A^- en milieu basique, et A l'absorbance du mélange en équilibre ($AH + A^-$) dans des milieux de pH intermédiaire.

Avec ces notations, le rapport u des concentrations s'écrit:

$$u = \frac{[A^-]}{[AH]} = \frac{A - A_{AH}}{A_{A^-} - A} \text{ et le passage aux activités permet d'exprimer le } pK_a \text{ par l'expression:}$$

$$pK_a = pH - \log u - \log \gamma \quad (2)$$

Sachant que γ représente le coefficient d'activité de la forme acide dans la solution et $\log \gamma = -0,255$.

La mesure expérimentale du pK_a revient donc essentiellement à la détermination du rapport u [17].

En portant $(\log u)_m$ (valeurs moyennes pour diverses longueurs d'onde) en fonction du pH on obtient une droite, de pente 1, qui permet de lire directement le pK_a au point d'intersection avec l'axe des abscisses (tableau V).

Tableau V: Variation de l'absorbance du spectre UV du 2,2-diméthyl-2,3-dihydrobenzofuran-7-ol en fonction du pH à 25°C.

pH	Absorbance		
	$\lambda = 285 \text{ nm}$	$\lambda = 290 \text{ nm}$	$\lambda = 300 \text{ nm}$
[HCl] = 1N	0,128	0,027	0,002
7,2	0,136	0,053	0,004
8,7	0,154	0,084	0,021
9	0,164	0,098	0,031
9,2	0,174	0,114	0,041
9,5	0,194	0,145	0,062
9,8	0,214	0,183	0,089
10,3	0,265	0,260	0,141
[OH] = 1N	0,303	0,333	0,188

La valeur de la pente de la droite constitue un excellent contrôle du comportement du composé étudié, notamment de sa pureté et de la précision des mesures. On obtient assez facilement par cette méthode et à condition que les mesures de pH le permettent, une précision sur le pK_a de 0,01.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] J.F. Lawrence, *J. Agric. Food Chem.* **1977**, 25, 211
- [2] H.J. Jarczyk, *Weed Research*, **1977**, 17, 93
- [3] S.B. Lartigues et P. Garrigues, *Environ.Sci. Technol.*, **1995**, 29, 1246.
- [4] S. Lacorte, S.B. Lartigue, P. Garrigues et D. Barcelo, *Environ.Sci. Technol.*, **1995**, 29, 431.
- [5] C. Bellink et J. Mayaudon, *Rev. Ecol. Biol Sol.* **1979**, 16, 1
- [6] C.G. Clark et S.J.L. Wright, *Biol. Biochem.*, **1970**, 2, 217
- [7] L.W. Ditter et T. Higuchi, *J. Phar. Sci.*, **1963**, 52, 852.
- [8] R.L. Schowen et L.D. Kershner, *J. Am. Chem. Soc.*, **1971**, 93, 2014
- [9] L. Latrous, N. Ben Hamida et S. Sabbah, *J. Soc. Chim. de Tunisie*, **2001**, 4 (9), (sous presse)
- [10] M. Bergon et J.P. Calmon, *Bull. Soc. Chim. Fr.*, **1976**, 797
- [11] M. Bergon et J.P. Calmon, *Tetrahedron Lett.*, **1981**, 22, 937
- [12] M.L. Bender et R.B. Hober, *J. Org. Chem.*, **1965**, 30, 3975
- [13] L.L. Schaleger et F.A. Long, *Adv. Phys. Org. Chem.*, **1963**, 1, 1
- [14] I. Christenson, *Acta. Chem. Scan.*, **1964**, 18, 904
- [15] M. Bergon, N. Ben Hamida et J.P. Calmon, *J. Agric. Food Chem.*, **1985**, 33, 165
- [16] A. Williams et H. AL-Rawi, *J. Am. Chem. Soc.*, **1977**, 99, 2671.
- [17] P. Moroni et J.P. Calmon, *Bull. Soc. Chim. Fr.*, **1964**, 519

