



UNIVERSITE DE LIEGE

FACULTE DE MEDECINE VETERINAIRE

DEPARTEMENT DES SCIENCES DES DENREES ALIMENTAIRES

SERVICE D'ANALYSE DES DENREES ALIMENTAIRES



UNIVERSITE DE CARTHAGE

INSTITUT NATIONAL AGRONOMIQUE DE TUNISIE

DEPARTEMENT SANTE VEGETALE ET ENVIRONNEMENT

**Caractérisation des pratiques agricoles et phytosanitaires adoptées
dans la viticulture tunisienne et étude de la qualité du raisin et de ses
sous-produits en termes de résidus de pesticides**

Ghaya MECHICHI

**THESE EN CO-TUTELLE PRESENTEE EN VUE DE L'OBTENTION DU GRADE DE DOCTEUR EN
SCIENCES VETERINAIRES (À L'ULIEGE) ET DE DOCTEUR EN SCIENCES AGRONOMIQUES (À
L'INSTITUT NATIONAL AGRONOMIQUE DE TUNISIE)**

ANNEE ACADEMIQUE 2023-2024

Remerciements

À l'issue de cette thèse, qui a demandé de longues années de travail acharné sans répit et de persévérance face aux divers obstacles rencontrés, je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance et ma gratitude envers les personnes qui ont contribué à l'élaboration de cette thèse de doctorat :

Chères directrices de thèse mesdames Hanene Chaabene et Marie Louise Scippo, je vous remercie du fond du cœur pour votre encadrement, vos précieux conseils et vos recommandations lors de l'élaboration de ces recherches. Votre gentillesse, vos encouragements et votre soutien moral sans faille ont été d'une importance capitale. Je suis véritablement ravie d'avoir eu la chance de travailler sous votre direction.

Madame Laure Joly, je vous remercie infiniment pour votre encadrement professionnel et votre soutien scientifique lors de mes stages au sein de Sciensano. De même je tiens également à exprimer ma gratitude pour le temps que vous m'avez accordé, et pour vos remarques constructives qui m'ont permis d'envisager mon travail sous un autre angle.

Chères mesdames Samia Gargouri et Olfa Daaloul, je vous remercie sincèrement pour votre suivi, vos conseils et vos recommandations éclairées.

Je tiens à exprimer ma sincère gratitude aux membres du jury d'avoir accepté de consacrer leur temps et leur expertise pour évaluer mon travail. Leur engagement et leur précieuse contribution ont grandement enrichi mon expérience de recherche. Je leur suis profondément reconnaissant(e) pour leur attention, leurs commentaires constructifs et leur évaluation impartiale. Leur implication a été essentielle dans l'aboutissement de ce travail, et je les remercie chaleureusement pour leur soutien précieux.

Aux membres de l'équipe du laboratoire Belge Sciensano : je vous remercie pour votre apport en termes de connaissances fondamentales pour la maîtrise des différentes expériences, je vous remercie pour le temps que vous m'avez accordé, votre soutien moral et votre bienveillance à mon égard.

Aux membres de l'équipe du laboratoire de Phytopharmacie à l'INAT, je vous remercie pour les moments de détente que nous avons partagés et pour le climat de travail sain qui a facilité notre travail en équipe, pour votre perpétuelle joie de vivre, votre convivialité à mon égard et pour l'aide inestimable que vous m'avez apporté dans les moments difficiles.

Aux responsables des caves, aux viticulteurs, et aux œnologues, je vous remercie du fond du cœur pour votre accueil et votre participation aux enquêtes en acceptant de répondre aux questionnaires.

Au responsable du centre technique de vulgarisation de Ras Jebal, je vous remercie pour m'avoir accompagné lors de mes déplacements dans la région de Rafrat.

Cher monsieur Oussama Hedhili, je tiens à vous remercier sincèrement pour votre appui et votre présence lors des enquêtes de terrain dans les régions de Grombalia et Bouargoub, ainsi que pour votre aide lors de la collecte des échantillons auprès des caves.

Mes remerciements les plus sincères vont à chacune des personnes mentionnées ci-dessus pour leur contribution précieuse à cette thèse de doctorat. Votre soutien indéfectible a été un pilier essentiel de ma réussite académique.

Abréviations

AG	Agriculteur
AOC	Appellation d'origine contrôlée
BELAC	Organisation Belge d'accréditation
CE	Commission européenne
CS ₂	Disulfure de carbone
CCIM	4-chloro-5-p-tolyimidazole-2-carbonitrile
°C	Degré Celsius
DDT	Dichlorodiphényltrichloroéthane
DRA	Dose repère appliquée
DAR	Délai avant récolte
DT ₅₀	Half life time
DTC	Dithiocarbamates
EFSA	European Food Safety Authority
EPA	Environmental Protection Agency
EPI	Equipment de protection individuel
ERI	Environment risk indicator
ETU	Ethinylothiourea
ESI	Electrospray ionization source
EU	European Union
F	Fongicide
FCp	Facteur de pondération tenant compte de la préparation commerciale et de la dose appliquée
FPf	Facteur de pondération tenant compte de la formulation
FAO	Food Agriculture organization
G	Gramme
GAP	Good agricultural practices
GC	Gas chromatography ; chromatographie en phase gazeuse
ha	Hectare
HRI	Health risk indicator
i	Insecticide
IFT	Indice de fréquence de traitement
IRE	Indice de risque de l'environnement
IRPeQ	Indicateur de risque des pesticides du Québec
IRS	Indice de risque de la santé humaine
IRT	Indice de risque toxicologique
hL	Hectolitre
IPM	Integrated Pest Management
JORT	Journal Officiel de la République Tunisienne
Kg	Kilogramme
QSA	Quantité de substances actives
QPI	Quantité de pesticide ingérée quotidiennement (mg/kg de poids corporel)
L	Litre
LC	Liquid chromatography ; chromatographie en phase liquide
LI	Load Index
LMR	Limite maximale de résidus
LOD	Limit of Detection
log K _{ow}	Coefficient de partage octanol-eau

LOQ	Limit of Quantification
m	Meter
Mioha	Million hectare
mg	Milligramme
mg/kg	Milligramme par kilogramme
mg/L	Milligramme par litre
mL	Millilitre
mm	Millimètre
MRL	Maximum résidus Levels
MS	Mass spectrometry
NaCl	Chlorure de Sodium
n.i	not included
n.m	non-mentionné
NODU	Nombre de dose unité
OIV	Organisation internationale de la vigne et du vin
PAN	Pesticides Network Action
PAW	Plasma activated water
PF	Processing factor
PHI	Pre-harvest Interval
PL	Pesticide Load
PPP	Plant protection product ; produit de protection de plante
PVPP	Polyvinylpolypyrrolidone
QRPI	Québec Risk Pesticide Indicator
RAC	Raw agricultural commodity
t _{1/2}	Temps de demi-vie
TFI	Treatment frequency index
THPI	Tetrahydroptalimide
TRI	Toxical risk indicator
UPLC	Ultra-high Performance Liquid Chromatography – Chromatographie en phase liquide d’ultra-haute performance
µg/kg	microgramme par kilogramme
µm	Micromètre
WHO	World Health Organization

Glossaire

- **Agression abiotique** : Conditions environnementales, facteurs externes ou anormaux pouvant avoir un impact négatif sur la production de la vigne notamment les problèmes de croissance, déficit hydrique, désordres ou agressions dus aux facteurs climatiques, etc. (Bettiga, 2013).
- **Agressions biotiques** : problèmes relatifs aux différents bioagresseurs tels que les champignons, les insectes, les acariens, etc. (Bettiga, 2013).
- **Chaussage** : pratique culturale, réalisée en automne, qui consiste à ramener la terre entre et contre les ceps pour les protéger du froid (iDealwine, 2015).
- **Débourbage** : Dans le processus de production du vin, étape de séparation (avant fermentation) du liquide plus ou moins clair et des matériaux solides en suspension dans le moût (OIV, 2023).
- **Déchaussage** : une pratique culturale (réalisée en printemps) qui consiste à dégager la terre accumulée autour du pied de cep (iDealwine, 2015).
- **Miticide**: ou acaricide est un produit de protection des plantes destiné à contrôler les acariens (Hoy, 2008).
- **Moût**: un liquide issu du raisin frais, pouvant être obtenu naturellement ou par des procédés physiques tels que le foulage, l'égrappage, l'égouttage et le pressurage (OIV, 2023).
- **Raisin de cuve**: raisin frais destiné essentiellement par ses caractéristiques à la vinification (OIV, 2023).
- **Raisin de table** : raisin frais produit par des cépages spéciaux ou cultivés à cet effet et destiné essentiellement par ses caractéristiques organoleptiques et commerciales à la consommation tel quel (OIV, 2023).
- **Véraison** : période de maturité des raisins sur la grappe durant laquelle ils changent de couleur. C'est également durant cette période que le taux de sucre augmente et que l'acidité diminue (Boudouin, 2023).

Liste des figures

Revue bibliographique

- Figure 1.** Damages observed on vine organs following (A) powdery mildew; (B) downy mildew; (C) grey mold; (D) grape moth; (E) vine mealybug and (F) green leafhopper attacks (Blancard, 2016, 2021; Fenio, 2024; Thiery, 2020; Taylor, 2021; Taylor and Gordon, 2021).....23
- Figure 2.** Main steps in white/rosé and red winemaking process identified from the literature review (Alister *et al.*, 2014) 30

Etude 1

- Figure 1.** Carte de Tunisie et localisation géographique des zones d'enquêtes : Grombalia et Bou Argoub (raisin de cuve) et Rafrat (raisin de table)..... 63
- Figure 2.** Répartition des parcelles selon la superficie (n=108) 65
- Figure 3.** Pourcentages de cépages recensés durant les enquêtes de terrain réalisées durant les campagnes agricoles 2018-19 et 2019-20 66
- Figure 4.** La conduite agricole, le système de taille et le mode d'irrigation adoptés dans les parcelles de vigne de cuve enquêtées 67
- Figure 5.** Système de taille (A) en guyot simple et en (B) gobelet..... 67
- Figure 6.** Données climatiques de la station de Nabeul (AgriDATA, 2022) durant les campagnes agricoles 2018-19 et 2019-20 69
- Figure 7.** Moyenne des traitements appliqués par an en fonction des problèmes phytosanitaires mentionnées durant l'enquête de terrain..... 70
- Figure 8.** Nombres des substances actives mentionnées par les viticulteurs de vigne de cuve durant l'enquête en fonction des problèmes phytosanitaires 71
- Figure 9.** Fréquence d'application des produits phytopharmaceutiques dans les vignobles de table enquêtés, avec AG : Agriculteur..... 72
- Figure 10.** Les étapes de vinification en rouge (A) et en rosé et blanc (B) comme rapportées par les œnologues des caves enquêtées..... 75
- Figure 11.** Les raisins de table avant (A) et après séchage (B)..... 77

Etude 2

- Figure 1.** Comparison of the average values of TFI_{field} (blue), $TFI_{\text{insecticides}}$ (grey), and $TFI_{\text{fungicides}}$ (orange) for the 41 and 43 surveyed winegrowers according to the growing season of survey 2018-19 and growing season 2019-20, respectively. Detailed TFI values for each surveyed winegrower are available in Table S1..... 96

Etude 3

- Figure 1.** Number of treatments applied in surveyed vineyards during the 2018-2019 and 2019-2020 growing seasons (0-7 in green, 8-9 as recommended by agricultural advisors in blue, 10-15 in yellow) 121
- Figure 2.** Number of pesticide residues detected per wine grapes sample during the 2018-2019 and 2019-2020 growing seasons. Boxes indicate 25th, 50th, and 75th percentiles; whiskers (error bars) represent minimum and maximum; the blue circle indicates an outlier; and the mean is represented by an 'x'..... 126
- Figure 3.** Occurrence of pesticide residues that are not detected (green), detected (blue) and exceeding the EU MRL (orange) for reported (A) and not reported (B) active substances in wine grape samples collected during 2018-2019 and 2019-2020 growing seasons. 130

Etude 4

- Figure 1.** Protocole de collecte des échantillons de moût tout au long du procédé de vinification appliqué dans 4 caves des régions de Grombalia et de Bou Argoub en Tunisie 157
- Figure 2.** Protocole de collecte des échantillons de raisin de table (avant et après prétraitement) et après séchage auprès de deux transformateurs artisanaux (a et b) et une entreprise de séchage de raisin (c), dans la région de Rafrat en Tunisie 158
- Figure 3.** Prévalence des résidus de pesticides dans les échantillons de vin : les résidus quantifiables (en bleu) et les résidus non-conformes à la LMR européenne (en rouge)..... 167
- Figure 4.** Pourcentage de détection des substances actives dans les échantillons de moûts (en bleu) et de vins (en rouge)..... 169
- Figure 5.** Répartition des résidus de pesticides quantifiés dans les huit échantillons de raisins de table avant prétraitement et séchage (en bleu), après prétraitement (en rouge) et après séchage (en vert) (x : la moyenne des résidus détectées dans les échantillons de raisins de table avant et après prétraitement et après séchage)..... 173

Annexes

- Figure 1.** Représentation du chromatogramme (A) et de la droite de calibration (B) obtenus suite à l'analyse de la substance active myclobutanil par GC- MS/MS 232

Liste des tableaux

Revue bibliographique

Table 1. The effect of the winemaking steps on pesticide residues amounts as reported in the literature.	38
Table 2. Influence of the table grapes' pretreatment and drying on pesticide residue levels.	48
Table 3. The processing factor values following the winemaking and drying process according to the literature.....	51
Table S1. Physicochemical proprieties (log K_{ow} and water solubility) of the active substances mentioned in the literature review.....	54

Etude 1

Tableau 1. Méthodes de prétraitement et de séchage des raisins rapportées par 8 producteurs de raisins secs de la région de Rafrat (dont 1 à 7 = entreprises familiales de petite taille et 8 = industrie)	77
Tableau S1. Données relatives aux 84 viticulteurs enquêtés pendant les campagnes agricoles 2018-2019 (41) et 2019-2020 (43)	79

Etude 2

Table 1. List of the 37 reported commercial products during a field survey involving 84 winegrowers, their formulations and the WHO classification of their associated active substances.	94
Table 2. Health (TRI, HRI) and environmental (ERI) risks associated with each mentioned commercial product and their active substances	97
Table S1. TFI_{field} , $TFI_{fungicide}$ and $TFI_{insecticide}$ calculated for the 84 surveyed grapegrowers during the growing seasons a) 2018-19 and b) 2019-20.....	103
Table S2. WHO classification according to the oral and dermal values of the LD_{50} for the rat (World Health Organization, 2020)	106
Table S3. Collected data used to calculate HRI values associated with the 33 active substances mentioned in the survey (World Health Organization, 2020; PPDB, 2023; Pesticide Action Network, 2023; "SAgE pesticides," 2023).....	107
Tableau S4. Collected data used to calculate ERI values associated with the 33 active substances mentioned in the survey (Pesticide Action Network, 2023; PPDB, 2023; SAgE pesticides, 2023) ...	112

Etude 3

Table 1. Information on the commercial products associated with phytosanitary practices reported by the surveyed grapegrowers. PHI: Preharvest interval	122
Table 2. Analytical results of the winegrapes and compliance evaluation of the active substances during the growing seasons 2018-19 and 2019-20	127
Table 3. Overview of winegrape legislation in different world regions	129
Table S1. Results of the questionnaire for the 41 and 43 grapegrowers surveyed during both growing seasons.....	136
Table S2. Analysis technique of active substances and corresponding pesticide residues.....	141
Table S3. number of detected and non-compliant pesticide residues in each of the 108 wine grape samples (53 and 55) collected from both growing seasons	150

Etude 4

Tableau 1. Liste des substances actives détectées dans les échantillons de moûts de raisins (n = 24) à la suite des étapes de pressurage, débouillage et fermentation alcoolique (vin blanc et rosé) et fermentation alcoolique (vin rouge)	162
Tableau 2. Résidus de pesticides (mg/kg) détectés dans les échantillons de moût prélevés à l'issue des différentes étapes de vinification dans les caves 1(A); 2 (B); 3(C) et 4 (D). Chaque colonne représente un échantillon de moût.	165
Tableau 3. Liste des substances actives détectées dans les échantillons de vin (n= 15)	168
Tableau 4. Liste des substances actives quantifiées dans les échantillons de raisins de table frais (n=8) avant l'étape de séchage	171
Tableau 5. Liste des substances actives quantifiées dans les échantillons de raisins secs (n=8)	174
Tableau S1. Concentrations des substances actives détectées dans les 15 échantillons de vins analysés.....	176

Annexes

Tableau 1. Critères de toxicité aiguë des matières actives (Samuel <i>et al.</i> , 2012)	227
Tableau 2. Critères de toxicité chronique des matières actives (Samuel <i>et al.</i> , 2012).....	228
Tableau 3. Valeur de M en fonction de l'indice GUS et de la quantité appliquée	230

Tableau 4. Valeur de P en fonction de la demi-vie et de la quantité appliquée.....230

Tableau 5. Valeur de B en fonction de la demi-vie et du log P_{oc}231

Table de matières

RÉSUMÉ - SUMMARY	1
PRÉAMBULE GÉNÉRAL	6
INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	8
OBJECTIFS	12
REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	14
SECTION EXPÉRIMENTALE.....	57
ETUDE 1 : CARACTÉRISATION DES PRATIQUES AGRICOLES DANS LES VIGNOBLES ET DES PROCÉDÉS DE TRANSFORMATION DANS LE CONTEXTE TUNISIEN	59
ETUDE 2: CHARACTERIZATION OF THE PHYTOSANITARY PRACTICES OF TUNISIAN WINE VINEYARDS USING THE TREATMENT FREQUENCY INDEX AND THE QUÉBEC'S PESTICIDE RISK INDICATOR.....	87
ETUDE 3: INFLUENCE OF PHYTOSANITARY PRACTICES IN TUNISIAN VINEYARDS ON THE PRESENCE OF PESTICIDE RESIDUES IN WINEGRAPES	114
ETUDE 4 : SUIVI DES RÉSIDUS DE PESTICIDES DANS LES SOUS-PRODUITS DE LA VIGNE SUITE AUX PROCÉDÉS DE VINIFICATION ET DE SÉCHAGE.	153
DISCUSSION GÉNÉRALE, CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES.....	178
BIBLIOGRAPHIE.....	187
ANNEXES.....	219

Résumé - Summary

Résumé

La viticulture est confrontée à de nombreux problèmes phytosanitaires, ce qui conduit à l'utilisation de pesticides comme méthode de lutte chimique, malgré leurs effets néfastes sur la santé humaine et sur l'environnement. En Tunisie, il existe peu d'études sur les pratiques phytosanitaires dans les vignobles, et aucune recherche n'a examiné les procédés de vinification et de séchage utilisés dans le pays et leur impact sur le transfert de résidus de pesticides dans les produits transformés. Dans le cadre de cette thèse, notre objectif est d'identifier les pratiques agricoles et phytosanitaires dans les vignobles destinés à la production de raisins de cuve et de raisins de table destinés au séchage. Nous souhaitons également décrire les procédés de vinification et de séchage utilisés et évaluer les facteurs contribuant à la présence de résidus de pesticides dans les produits frais et transformés. Pour atteindre ces objectifs, nous avons mené des enquêtes sur le terrain lors des campagnes agricoles 2018-19 et 2019-20 auprès des viticulteurs et des caves des régions de Grombalia et de Bou Argoub, ainsi que lors de la campagne agricole 2020-21 auprès des viticulteurs de la région de Rafrat pour caractériser le procédé de séchage. Les données collectées ont été utilisées pour calculer des indicateurs tels que la fréquence de traitement (IFT) et l'indicateur de risque des pesticides du Québec (IRPeQ), qui permet d'évaluer les risques liés à l'utilisation de pesticides dans les vignobles en Tunisie. Parallèlement, des échantillons de raisins de cuve, de moût et de vins, ainsi que des raisins de table avant et après traitement et après séchage, ont été collectés lors des mêmes campagnes agricoles. Ces échantillons ont été homogénéisés, extraits et analysés dans les laboratoires de Sciensano, à l'aide de trois méthodes d'analyse multi-résidus accréditées.

L'analyse des enquêtes a révélé une grande diversité des cépages de raisins de cuve, tandis qu'un seul cépage de raisin de table était destiné au séchage. Les œnologues des caves enquêtées ont rapporté différentes techniques de vinification, en particulier pour les étapes de débourbage, de clarification et de filtration. Cette diversité a également été observée dans le processus de séchage, notamment dans l'étape de traitement précédant le séchage. Les maladies fongiques ont été les problèmes phytosanitaires les plus fréquemment mentionnés dans les vignobles de cuve et de table. En conséquence, l'utilisation fréquente de fongicides (79 %) dans les vignobles de cuve a été confirmée par le calcul de l'indicateur IFT avec des moyennes de 14,9 et 18,7 au cours des campagnes agricoles 2018-19 et 2019-20. Ces calculs n'ont pas pu être réalisés pour les vignobles de table en raison du manque d'informations fournies par les viticulteurs. Par ailleurs, l'évaluation du risque moyen à l'aide du calcul de l'IRPeQ a révélé un indicateur de risque pour la santé humaine (IRS) élevé pour les fongicides à base de thiophanate-méthyl (IRS = 295,5), de metiram (IRS = 380) et de penconazole (IRS = 276,4), et les insecticides à base de chlorpyrifos-éthyl (IRS = 274,4) et de lambda-cyhalothrine (IRS = 285). De plus, sur le plan environnemental, les insecticides présentent un risque plus élevé que les fongicides en raison de leur impact particulièrement sur les abeilles. En ce qui concerne le risque pour les consommateurs, il a été

constaté que 15% des substances actives appliquées par les viticulteurs ont également été détectées dans les échantillons de raisins de cuve. Parmi ces substances, on retrouve le thiophanate-méthyl, le fenhexamide, l'iprovalicarbe et l'imidaclopride qui ont été également détectées dans les échantillons de moût et de vins. Cependant, il est important de noter que 40 % des molécules détectées dans les échantillons de raisins de cuve n'ont pas été mentionnées dans l'enquête, telles que le boscalid et l'iprodione, mais que nous avons retrouvées dans les échantillons de moûts et de vins.

De plus, parmi l'ensemble des échantillons analysés, il a été observé un dépassement des limites maximales de résidus européennes et/ou internationales (*Codex Alimentarius*) dans 36 des 108 échantillons de raisins de cuve frais, 3 des 8 échantillons de raisins de table, 5 des 15 échantillons de vins et 2 des 8 échantillons de raisins secs. Ces non-conformités sont dues soit à l'utilisation de substances actives non approuvées dans l'Union européenne, soit au non-respect des doses recommandées (comme dans le cas du carbendazime résultant de la dégradation du thiophanate-méthyl utilisé à 2,8 fois la dose recommandée). Par conséquent, il est recommandé que les autorités tunisiennes forment les viticulteurs aux bonnes pratiques agricoles et phytosanitaires et mettent en place un programme de surveillance comprenant l'utilisation de pesticides et l'analyse des raisins de cuve et de table afin d'améliorer la qualité du vin et du raisin sec tunisiens en termes de teneur en résidus de pesticides.

Mots clés : raisin de cuve et de table, résidus de pesticides, vin, raisin sec, indicateurs

Summary

Viticulture is prone to a wide range of phytosanitary issues, and pesticide application is one of the most effective methods to manage them, despite the adverse effects of these chemicals on both human health and the environment. No previous research has been conducted to highlight the agricultural and phytosanitary practices used in Tunisian vineyards to produce wine and dried grapes. Thus, this study aims to characterize the phytosanitary practices used in Tunisian table and wine vineyards, to describe the vinification and drying processes used and evaluate the factors contributing to the presence of pesticide residues in fresh and processed products. To achieve these goals, field surveys and sampling were conducted during the 2018-2019, 2019-2020 and 2020-2021 grape growing seasons, and samples of wine grapes, must, wine, table grapes before and after treatment, and dried grapes were collected and analyzed using three accredited multi-residue analysis methods in the laboratories of Sciensano. On the other hand, the treatment frequency indices (TFI), and the risk indicators of Quebec pesticides (health (HRI) and environment (ERI)) were also assessed in Tunisian wine vineyards. The results showed a high diversity of grape varieties in wine grape vineyards, while only one grape variety was used for drying. The study also revealed different vinification techniques, particularly for the clarification and filtration steps, as reported by the winemakers. The drying process also showed a high diversity of techniques, especially in the pretreatment step. The most often mentioned phytosanitary problem in both wine and table grape vineyards was fungal diseases, leading to the frequent use of fungicides (79%) in wine grape vineyards, with average TFI values of 14.9 and 18.7 during the 2018-19 and 2019-20 agricultural campaigns, respectively. The TFI values could not be calculated for table grape vineyards due to the lack of information provided by the grape growers. The evaluation of the average risk using the Quebec pesticide risk indicator (QPRI) revealed a high risk for the fungicides thiophanate-methyl (HRI = 295.5), metiram (HRI = 380), and penconazole (HRI = 276.4), as well as for the insecticides chlorpyrifos-ethyl (HRI = 274.4) and lambda-cyhalothrin (HRI = 285) for human health. In addition, insecticides presented a higher risk than fungicides for the environment due to their impact particularly on bees. Regarding the risk for consumers, it has been observed that 15% of the active substances applied by grape growers have also been detected in the wine grape samples such as: thiophanate-methyl, fenhexamid, iprovalicarb, and imidacloprid. These substances have also been detected in the must and wines samples. However, 40 % of the molecules detected in the wine grape samples were not mentioned in the survey, such as boscalid and iprodione, but were detected in the samples of must and wines.

Furthermore, among all the analyzed samples, exceeding the maximum residue limits set by European and/or international regulations (*Codex Alimentarius*) was observed in 36 out of 108 fresh wine grape samples, 3 out of 8 table grape samples, 3 out of 15 wine samples and 2 out of 8 dried grape samples. This non-compliance was due either to the use of non-approved active substances in the European Union

or to non-compliance with recommended doses (as in the case of carbendazim resulting from the degradation of thiophanate-methyl used at 2.8 times the recommended dose). Therefore, it is recommended that Tunisian authorities train the grape growers in good agricultural practices and establish a monitoring program that includes the use of pesticides and the analysis of wine and table grapes to improve the quality of Tunisian wine and dried grapes in terms of pesticide residue content.

Keywords: Wine and table grape, pesticide residues, wine, raisin, indicators

Préambule général

Préambule général

Le recours aux pesticides dans l'agriculture suscite des inquiétudes quant à leurs impacts sur la santé humaine et l'environnement. Dans ce contexte, cette thèse de doctorat vise à mettre en évidence les pratiques agricoles et phytosanitaires ainsi que les procédés de transformation adoptés par les vinificateurs tunisiens, en évaluant leurs impacts sur la présence de résidus de pesticides dans les produits frais (raisin de cuve et de table) et transformés (vin ou raisin sec). Pour répondre à cet objectif, des enquêtes de terrain et des échantillonnages ont été conduits dans les vignobles de cuve et de table durant les campagnes agricoles 2018-2019, 2019-2020 et 2020-2021. Les échantillons sont par la suite analysés pour détecter les éventuelles traces de pesticides susceptibles d'être présents dans les divers types d'échantillons : raisin de cuve, moûts, vin, raisin de table, raisin sec. Le présent document est structuré comme suit : Après une introduction générale, nous avons exposé l'objectif principal ainsi que les objectifs spécifiques de la thèse suivi d'une revue de la littérature exposant les travaux les plus pertinents en accord avec la thématique de la thèse. Le corps de la thèse présente une section expérimentale répartie en quatre études répondant chacune à l'un des objectifs spécifiques de la thèse, suivi d'une discussion générale des principaux résultats en relation avec les travaux antérieurs et les réponses aux objectifs préfixés ainsi que les limites et les perspectives pour les prochains travaux.

Introduction générale

La vigne représente l'une des cultures fruitières les plus abondantes à l'échelle internationale avec une production mondiale moyenne estimée à 74,8 millions de tonnes en 2021 et une superficie totale estimée à 7,3 million d'hectares en 2021 (International Organisation of vine and wine, 2021a, 2022). En effet, les raisins comptent parmi les fruits les plus appréciés de par le monde tant pour leurs vertus nutritionnelles (richesse en vitamines et en sels minéraux) que pour leurs qualités organoleptiques. Selon le bilan de l'Organisation Internationale de la Vigne et du vin (International Organisation of vine and wine, 2021b), plus de la moitié de la production mondiale de raisin est destinée à l'élaboration du vin et de jus de raisin tandis que 41 % est consommée sous forme fraîche et 7 % sous forme séchée (raisin sec).

Par ailleurs, la vigne peut être sujette à des pertes économiques considérables se traduisant par une baisse de la qualité et du rendement des fruits. Cela est dû, en plus des agressions abiotiques, aux problèmes biotiques causés par les bioagresseurs tels que les ravageurs (les insectes, les acariens et les oiseaux) et les maladies fongiques représentées essentiellement par le mildiou (causé par *Plasmopara viticola*), l'oïdium dont l'agent responsable est *Uncinula necator*, la pourriture grise provoquée par *Botrytis cinerea* et la pourriture acide causée par le genre *Aspergillus* sp. (Navarro *et al.*, 2000; Otero *et al.*, 2003; González-Rodríguez *et al.*, 2009a).

Face à ces problèmes majeurs, la lutte chimique, par le biais de produits de protection des plantes (couramment appelés pesticides), a toujours été la méthode la plus adoptée par les viticulteurs (Navarro *et al.*, 2000). Toutefois, l'usage des pesticides (principalement les fongicides et insecticides) garantit une amélioration du rendement des cultures aussi bien en termes de quantité que de qualité. Par ailleurs, l'usage excessif et assez souvent non raisonné de ces produits menace significativement l'environnement et la santé humaine (Bajwa and Sandhu, 2014). Les pesticides sont largement utilisés à l'échelle mondiale pour le traitement phytosanitaire des productions végétales. Ils peuvent induire des effets néfastes tant sur l'environnement que sur la santé humaine, ils peuvent également persister dans les produits frais et être transférés, vers le produit final (vin ou raisin sec) à la suite des différentes étapes de transformation. Plusieurs études ont montré la présence de résidus de substances actives dans le raisin frais (Čuš *et al.*, 2010a; Grimalt and Dehouck, 2016; Bouagga *et al.*, 2019a). Différents facteurs contribuent à la présence de résidus de pesticides dans les produits frais, notamment les pratiques phytosanitaires adoptées (notamment le respect du délai avant récolte, la dose appliquée et la période d'application). À titre d'exemple, une étude a démontré que l'application du krésoxim-méthyl en respectant la dose recommandée a résulté en la non détection de résidus de la substance appliquée dans les raisins de cuve (Cabras *et al.*, 1998c). Il en a été de même lors de l'application de trifloxystrobine et de pyraclostrobine en respectant le délai avant récolte, soit 35 jours après le traitement. En revanche, 57 % et 65 % de ces mêmes substances sont encore quantifiables à la suite d'une application sans respect du délai avant récolte (trois jours avant la récolte en l'occurrence) (Garau *et al.*, 2009).

Plusieurs travaux de recherche ont également été menés afin de mettre en évidence le transfert des résidus de pesticides durant les différentes étapes de la transformation du raisin (la vinification et le séchage), vers le produit fini tel que le vin (Cabras *et al.*, 1998b; Navarro *et al.*, 1999; Likas and Tsiropoulos, 2011; Česnik *et al.*, 2015; Čuš *et al.*, 2022) et le raisin sec (Cabras *et al.*, 1998a; Shabeer *et al.*, 2015; Özbey *et al.*, 2017; Tang *et al.*, 2023). Ces travaux ont mis en évidence la réduction des résidus de pesticides dans le vin (jusqu'à 100 %) suite aux étapes de vinification, principalement les étapes de pressurage, de fermentation et de clarification, pour les pesticides ayant une préférence pour la phase liquide (moût) plutôt que la phase solide (Sala *et al.*, 1996; Čuš *et al.*, 2010a; González-Rodríguez *et al.*, 2011a). En revanche, le procédé de séchage pourrait augmenter la concentration des pesticides dans les raisins secs suite à l'élimination d'eau (Özbey *et al.*, 2017). Pour cette raison, il existe des réglementations fixées par les autorités ou des lignes directrices émanant d'organisation internationales en vue de limiter le risque vis-à-vis du consommateur. Il s'agit, notamment, du règlement (CE) N°396/2005 relatif aux « limites maximales de résidus » (LMR) de la Commission européenne ainsi que des LMR proposée par le *Codex Alimentarius* pour les produits phytosanitaires (Parlement européen et Conseil de l'Union européenne, 2005; Codex Alimentarius, 2022). En Tunisie, les principales réglementations régissant l'utilisation des pesticides visent à assurer la sécurité alimentaire et la protection de l'environnement. Le Décret n° 92-2246 du 28 décembre 1992 (JORT, 1993) établit les modalités et conditions pour l'obtention de l'homologation ou de l'autorisation provisoire de vente des pesticides à usage agricole, ainsi que des autorisations relatives à leur fabrication, importation, formulation, conditionnement, vente et distribution. Ce décret a été modifié par le Décret n°2010 2973 (JORT, 2010), qui a apporté des modifications aux dispositions de l'article 5, en particulier en ce qui concerne les conditions d'obtention de l'homologation et des autorisations provisoires de vente des pesticides agricoles. Par ailleurs, la norme tunisienne NT 117.03(1983) sur les Limites Maximales Tolérées en Résidus de Pesticides a été homologuée par l'Arrêté du 25 Janvier 1986 (JORT, 1986), soulignant l'importance des limites mises en place pour assurer la sécurité alimentaire et la conformité aux réglementations en matière de résidus de pesticides. Ces limites permettent de garantir une marchandise de qualité assurant ainsi la sécurité du consommateur.

Les limites maximales de résidus (LMR), qui s'étalent de quelques microgrammes à quelques milligrammes par kilo, nécessitent des méthodes analytiques sensibles, fiables, robustes et multirésidus. Les méthodes développées reposent essentiellement sur la chromatographie en phase liquide (LC) et la chromatographie en phase gazeuse (GC) chacune précédée d'une technique d'extraction adéquate (extraction en phase liquide, extraction en phase solide, micro-extraction en phase solide, etc.) (Grimalt and Dehouck, 2016; Słowik-Borowiec and Szpyrka, 2018). Le couplage de ces techniques à des détecteurs spécifiques, sélectifs et sensibles comme la spectrométrie de masse en tandem (MS-MS) a montré des résultats prometteurs et a permis d'augmenter le nombre d'analytes et de varier la nature des

matrices à analyser (Grimalt and Dehouck, 2016; Castro *et al.*, 2018; Crocoli *et al.*, 2022; Aslantas *et al.*, 2023).

Divers travaux, à l'échelle internationale, ont révélé la présence de résidus dans des échantillons de vin (Angioni *et al.*, 2011; Česnik *et al.*, 2015, 2016; Schusterova *et al.*, 2021; Dumitriu Gabur *et al.*, 2022) et de raisin sec (Özbey *et al.*, 2017; Thekkumpurath *et al.*, 2020) à des teneurs inférieures à la LMR. Toutefois, aucun travail n'a montré la situation des raisins de cuve et de table destinés au séchage, ainsi que de leurs sous-produits (vin et raisin sec) dans le contexte tunisien. De même, à l'exception du travail conduit par Bouagga *et al.* (2019) caractérisant les pratiques phytosanitaires dans les vignobles de table en Tunisie, aucune étude n'a été menée pour montrer l'influence des pratiques adoptées dans les vignobles de cuve en Tunisie, ainsi que les procédés de vinification sur la teneur des résidus de pesticides et la qualité du produit frais et transformé.

Objectifs

Les objectifs de cette étude sont de :

- Caractériser les pratiques phytosanitaires utilisées dans la culture de la vigne en Tunisie, tant pour la production de raisins de cuve que de raisins de table, ainsi que les méthodes de vinification et de séchage employées.
- Dans le cas spécifique des raisins de cuve :
 - Évaluer l'impact des pratiques phytosanitaires sur les risques sanitaires et environnementaux,
 - Étudier l'impact des pratiques phytosanitaires sur la présence de résidus de pesticides dans les raisins frais.
- Évaluer la présence de résidus de pesticides dans les sous-produits de la vigne suite aux procédés de vinification et de séchage.

.

Revue bibliographique

1. Introduction

Grapes are one of the most popular fruits worldwide because of their nutritional and sensory benefits (Golge and Kabak, 2018; Urkude *et al.*, 2019). This fruit is a good source of vitamins B1, B6, and C, manganese, and potassium. Besides, it is rich in polyphenols, especially flavonoids, which possess cardioprotective and neuroprotective properties. Grapes can be consumed fresh (table grapes) or processed (raisins, juice, or wine) (OIV-FAO, 2016), and the richness of these elements depends on the product.

However, the viticulture is prone to various phytosanitary problems such as pests (insects, mites, and birds) and fungal diseases, mainly downy mildew (*Plasmopara viticola*), powdery mildew (*Uncinula necator*), and grey mold (*Botrytis cinerea*) (Edder *et al.*, 2009; Caboni and Cabras, 2010). To assure a good quality of grapes, farmers need to apply pesticides, which remain the most conventional approach to manage pests and fungi damage until the grapes ripen (Cabras and Angioni, 2000; Golge and Kabak, 2018). However, frequent and unreasonable use of pesticides may induce pesticide residues in the processed commodities (Hou *et al.*, 2020).

Whatever agricultural production, food processing is known to influence pesticide residue content at the industrial level (involving multi-step processes) (Bajwa and Sandhu, 2014), including the winemaking and drying processes.

Field agricultural practices (the preharvest interval, the applied dose, and the treatment frequency) and food processing technologies influence critically the reduction and sometimes the removal of pesticide residues (Angioni *et al.*, 2011). This fact depends basically on many factors, including the physicochemical properties of the active substance (water solubility and octanol-water partition coefficient K_{ow}), the amount of pesticide initially detected at harvest, and the grape processing steps (Angioni *et al.*, 2011; Sen *et al.*, 2012). For instance, pesticide residues can pass throughout the winemaking process and be detected in the final product (wine), thus inducing a toxicological risk for the consumer (dos Anjos and de Andrade, 2015) and altering wine quality by either inhibiting the yeast's development and activity (Russo *et al.*, 2019; Briz-Cid *et al.*, 2021) or by affecting the wine's flavor (Xiao *et al.*, 2020). Several studies have been conducted to highlight the fate of pesticide residues during the winemaking process (Fernández *et al.*, 2005a; González-Rodríguez *et al.*, 2009b, 2011a; Likas and Tsiropoulos, 2011). The winemaking process generally reduces the content of pesticide residues in the final product (Cabras and Angioni, 2000; Čuš *et al.*, 2010a; Pazzirota *et al.*, 2013).

Furthermore, grape drying could either decrease the amount of pesticides (by evaporation or degradation) or increase their concentration (due to the moisture loss) (Cabras and Angioni, 2000). This

fact depends on the type of the applied pesticides and the drying methods employed (Cabras and Angioni, 2000).

To better understand the effect of each process on the transfer of pesticide to the final product, the processing factor (PF) is used and represented by the ratio between the quantity of pesticide residues in processed products and the quantity of residues in raw products (Scholz *et al.*, 2018), as shown in the following equation:

$$PF = \frac{\text{Pesticide residue amount in processed commodity (mg/kg)}}{\text{Pesticide residue amount in primary raw commodity (mg/kg)}} \quad (1) \quad (\text{Scholz } et al., 2018)$$

According to the PF value, we can conclude that there is a decrease of residue concentration, due to removal, degradation, or dilution, when $PF < 1$, or an increase of it, when $PF > 1$ (Scholz *et al.*, 2018).

This factor may also be included in the evaluation of dietary risk associated with exposure to pesticide residues and in the establishment of maximum residue levels for processed products (González-Rodríguez *et al.*, 2011b; Zincke *et al.*, 2022).

This review initially discusses common bioaggressors in vineyards and their management strategies. Then, it focuses on the key field factors that decrease pesticide residues in row and processed grapes as well as examining how the grapes processing stages affects pesticide residue levels in wine and raisins. Finally, the evaluation of the PF from grape to wine and raisin provides insight into the dissipation of pesticides throughout the entire grape process.

2. Main phytosanitary problems in viticulture and their management methods

2.1. Fungal diseases

The viticulture faces significant economic losses leading to a distinct reduction in fruit quality and yield. These losses are primarily attributed to various phytosanitary issues primarily caused fungal diseases, such as powdery mildew induced by *Uncinula necator*, downy mildew (caused by *Plasmopara viticola*), and gray mold induced by *Botrytis cinerea*, (Navarro *et al.*, 2000; Otero *et al.*, 2003; González-Rodríguez *et al.*, 2009a).

2.1.1. Powdery mildew

Oidium also called Powdery mildew is one of the economically most important diseases of grapevines worldwide. This disease is caused by *Erysiphe necator*, a fungus first described in the northern United States by Schweinitz in 1834 (Wilcox *et al.*, 2015a). In addition to causing quantitative

and qualitative damage to grape production, oidium can also affect the organoleptic quality of wine (Stummer *et al.*, 2003). The initial symptoms of the disease appear as spots covered with a thin layer of powdery white felt. At an advanced stage of the disease, the leaves wither and eventually fall off. On the canes, there are brown to blackish star-shaped spots. Infected berries are covered with spores, giving them a powdery appearance (Figure 1A). The berries eventually burst, dry out, and fall off. Cleistothecia, which are structures resulting from sexual reproduction, appear on the affected leaf blades. These structures also allow the pathogen to survive and remain protected in the bark of the vines and dead leaves on the ground. The cleistothecia mature in spring and release spores (ascospores) in response to rainfall and/or the presence of free water (Gadoury *et al.*, 2012). The young shoots located near the vine trunks are the first to be infected, either by ascospores produced by the dormant mycelium on plant debris or by the bursting of the cleistothecia. During summer, and under favorable conditions, secondary infections occur due to the dissemination of ascospores to healthy organs of the vine (Bettiga, 2013).

Cultural control remains one of the most recommended methods to prevent and limit the incidence of grapevine powdery mildew. Pruning, choice of trellising system, and leaf removal reduce humidity and allow for better penetration of sunlight into the canopy, thereby inhibiting disease development (Gadoury *et al.*, 2012). Selecting grapevine cultivars that are tolerant or resistant to the disease can also help reduce its impact. Additionally, the use of fungicides plays a crucial role in managing grapevine powdery mildew. Sulfur is one of the most widely applied fungicidal substances globally due to its affordability, effectiveness, and low risk of resistance development (Gadoury *et al.*, 2012). Moreover, inhibitors of ergosterol biosynthesis, benzimidazoles, and external quinone inhibitors (QoI) such as strobilurins are among the most reported fungicide groups for combating the causal agent of powdery mildew. For example, the application of trifloxystrobin at a concentration of 100 to 150 mg/L has shown better disease reduction compared to the application of sterol and sulfur inhibiting fungicides (Reuveni, 2001). However, most fungicides applied against powdery mildew have a single mode of action and are therefore prone to developing resistance in *E. necator* (the causal agent of the disease) (Gadoury *et al.*, 2012). It is, therefore, necessary to limit the number of applications per year of these molecules, as in the case of trifloxystrobin where the maximum number of applications is three per year (Reuveni, 2001). Likewise, alternating chemical families (and modes of action) helps reduce the risk of resistance. The effectiveness of a treatment program consisting of sulfur, commercial preparations based on trifloxystrobin and azoxystrobin, and a commercial product based on penconazole to manage powdery mildew damage was studied (Wicks and Hitch, 2002). Furthermore, biological control remains a significant asset in combating *E. necator*. Indeed, the combination of sulfur with three biopesticides based on microorganisms (namely *Pseudomonas fluorescens* PF-08; *Trichoderma asperellum* UBSTH-501; and *Bacillus arnyloliquefaciens* B-16; and *Bacillus subtilis*) inhibited the

disease's development while promoting grape quality and vine yield (with an increase of 2.5 to 3 times) (Malviya *et al.*, 2022).

2.1.2. Downy mildew

First described in the United States by Schweinitz in 1834, the downy mildew, caused by *Plasmopara viticola*, quickly spread to Europe following the introduction of contaminated plants and soils in 1870 (Wilcox *et al.*, 2015a). In the early 20th century, grapevine downy mildew caused significant economic losses and contributed to a reduction in agricultural land (Gessler *et al.*, 2011). Downy mildew is one of the most destructive diseases of vines, causing significant economic damage, primarily to the *Vitis vinifera* species cultivated in a temperate and humid climate (Bettiga, 2013). The first symptoms of the disease appear in spring on young leaves as yellowish oily spots, with the development of whitish downy growth on the underside of the leaf. As the disease progresses, the spots turn brown and the downy growth becomes grayish, with a risk of leaf drop. On the shoots, there are the formation of brown longitudinal superficial lesions with the possibility of deformation and the appearance of cracks. The inflorescence starts to turn yellow, then brown, and finally dry up. Finally, infected berries (Figure 1B) show purplish to blackish spots and eventually dry up.

The pathogen overwinters in the soil as oospores, which germinate in the spring to produce zoospores, leading to primary infections in young leaves and shoots (Wilcox *et al.*, 2015a). Under favorable conditions, secondary infections occur in unaffected plant parts.

Disease control involves measures such as managing plant cover aeration, irrigation especially in arid regions (Gessler *et al.*, 2011), removing plant debris that may have dormant spores. However, chemical treatments remain the most often applied method (Kennelly *et al.*, 2005). The use of multi-site fungicides, such as dithiocarbamates and phthalimides, is recommended for preventive treatment to reduce the risk of resistance. Additionally, other chemical groups, such as strobilurins, carboxylic acid amides, and phosphonates, are used for curative control. Nevertheless, the pathogen is more likely to develop resistance to these substances since they act on a single site within the fungus (uni-sites) (Wilcox *et al.*, 2015b).

2.1.3. Gray Mold

Gray mold is caused by *Botrytis cinerea*, a saprophytic and polyphagous fungus that attacks a variety of hosts including table and wine grapes (Bettiga, 2013). This disease results in a loss of vineyard yield and affects wine quality (Steel *et al.*, 2013). It is responsible for significant economic damage, particularly in countries with humid and temperate climates (König *et al.*, 2017). The symptoms of the disease are irregularly shaped, moist necrotic leaf spots on the leaf margin (observable symptom in

humid conditions). The flower clusters tend to rot and desiccate. Floral infections preserve conidia in a dormant state until veraison, then lead to the contamination of still-green berries (pre-maturation). A beige to light brown rot covered with sporulation develops on immature berries (Wilcox *et al.*, 2015a).

After maturation, the berries are directly attacked by the pathogen. The berries take on a brownish color for white grape varieties and reddish for black grape varieties (Bettiga, 2013). In humid conditions, the infection can spread to the entire cluster with the appearance of a cottony gray mycelium (Figure 1C) (Wilcox *et al.*, 2015a). In winter, *B. cinerea* persists in the form of sclerotia (a mass of compact mycelium) in dead leaves on the ground or under the bark of canes. In spring, conidia are released, leading to primary infections favored by a succession of humid periods with moderate temperatures. Conidia are dispersed by air, water splashes, animals, and insects. Secondary infections occur either via conidia on secondary wounds or through mycelium established on plant debris (Wilcox *et al.*, 2015a).

The management of gray mold is based on the choice of grape cultivar and rootstock, the planting site, orientation, and spacing between rows, the arrangement of the vegetative cover to promote light penetration and aeration, the selection of irrigation method and timing, and the rational use of nitrogen fertilization to avoid excessive vegetative growth (Wilcox *et al.*, 2015b). Chemical control is recommended in countries where damage (associated with gray mold) is more prevalent. The main chemical groups used are strobilurins, dicarboximides, strobilurins, and carboxin. Furthermore, *B. cinerea* is a pathogen susceptible to developing resistance to single-action products. Therefore, it is essential to either alternate the mode of action of pesticides to be applied or to combine the chemical method with other management methods. In this context, Elad (2004) demonstrated the effectiveness of combining the use of *Trichoderma harzianum* (a fungus often reported as a biological control agent against phytopathogenic fungi) and a fungicide based on diethofencarb and carbendazim. Indeed, this method reduced the disease incidence by 64 to 68% (Elad, 1994). Similarly, the application of a fenhexamide-based anti-botrytis in combination with leaf removal from the vine (a cultural control method allowing for vine canopy aeration) resulted in better disease reduction compared to using the anti-botrytis alone (Molitor *et al.*, 2011).

2.2. Insects

In vineyards, various insects can significantly impact grapevines, affecting both their health and productivity. Some of the insects commonly found in vineyards include the European grape moth (*Lobesia botrana*), vine mealybug (*Planococcus ficus*), citrus mealybug (*Planococcus citri*) (Caboni and Cabras, 2010) and green leafhopper (*Empoasca vitis*) (Cerutti *et al.*, 1991). These insects pose a threat to vineyards by feeding on grapevines, potentially leading to reduced grape quality and yield.

Additionally, their presence can contribute to the need for pesticide applications to manage infestations, which can have implications for pesticide residues in grapes and wine.

2.2.1. European grape vine moth

The insect *Lobesia botrana* (also called European grape vine moth) was first scientifically described in 1776 by Denis and Schiffermüller in Austria (Torres-Vila *et al.*, 1996; Lucchi and Scaramozzino, 2018). Since then, this pest has become economically more important in southern Europe and South America, affecting regions such as southern France, central and southern Spain, Portugal, Greece, Italy, the Mediterranean islands, Argentina, and Chile. Its adaptability to climate changes and polyphagous nature have contributed to its widespread distribution and establishment in various geographic regions (Altimira *et al.*, 2021).

The life cycle of *Lobesia botrana* involves several stages, including eggs, larvae, pupae, and adults. The larvae of the insect have five development stages, with the first-generation larvae attacking the vine during or near its flowering season, the second-generation larvae targeting developing grapes (Figure 1D), and the third-generation larvae causing significant damage to mature or maturing grapes. The presence of this insect in vineyards can lead to reduced production and increased susceptibility to fungal infections, such as *Botrytis cinerea* (Altimira *et al.*, 2021).

Management strategies for *Lobesia botrana* include the use of natural enemies, entomopathogenic microorganisms, mating disruption, and chemical control. The chemical management involves the use of insecticides to control the pest population in vineyards. Various neurotoxic insecticides and growth regulators are commonly used for this purpose, including chlorantraniliprole, abamectin, indoxacarb, chlorpyrifos, chlorpyrifos methyl, anthranilic diamides, emamectin, and spinosad. Some of these insecticides also have ovicidal properties. It is important to apply these chemical substances at the most vulnerable stage of the insect's development to achieve effective control. Monitoring the pest population, predicting its development cycle, and selecting the appropriate timing for chemical treatments is essential for successful pest management (Lucchi and Scaramozzino, 2018; Altimira *et al.*, 2021).

Integrated pest management (IPM) approaches that combine monitoring, mating disruption, and biological control using entomopathogenic microorganisms are recommended for effective management of this pest in vineyards. Additionally, the timing of chemical treatments is crucial, with specific thresholds for population density and damage levels guiding the application of insecticides. Selective insecticide programs, combined with pheromone traps and field monitoring of eggs, are typically effective in controlling *Lobesia botrana* populations in vineyards (Lucchi and Scaramozzino, 2018).

2.2.2. Vine mealybug

Planococcus ficus (also called vine mealybug) is described as a key pest insect in vineyards, feeding on plant sap and causing damage to crop. The life cycle of vine mealybug includes egg, nymph, and adult stages, with adult Female of this insect are capable of reproducing through parthenogenesis, leading to a rapid increase in mealybug populations (Mansour *et al.*, 2018). The infestations can weaken host plants, reduce their growth, and promote the development of sooty mold, resulting in economic losses for producers.

This pest thrives in hot and dry climates, prevalent in Mediterranean regions where vineyards are commonly situated. The warm temperatures and low precipitation in these areas create a favorable environment for the reproduction and spread of vine mealybugs. Across the Mediterranean basin, including wine regions in countries like Italy, France, Portugal, Greece, Spain, Tunisia, and Brazil, *Planococcus ficus* is found to cause damage to vine crops, highlighting the widespread impact of this pest on viticulture in these regions. Among the damages induced by this pest, the presence of live or dead mealybugs (Figure 1E), along with honeydew and sooty molds, can result in cosmetic harm to grape clusters, diminishing their market value, especially for table grape growers (Daane *et al.*, 2012).

Several management methods are used for controlling vine mealybug. Regarding pesticide treatments against vine mealybugs, it is recommended to apply pesticides during the sensitive stages of the insect, such as nymph and adult stages, when they are most susceptible to chemicals. Active substances commonly used include organophosphates, neonicotinoids (imidacloprid), buprofezin, and spirotetramat. Imidacloprid and other neuroactive insecticides are effective in controlling mealybug populations in vineyards (Mansour *et al.*, 2010). Biological control strategies involve the release of parasitoids like *Anagyrus pseudococci* to reduce mealybug populations in vineyards. Bioinsecticides containing sweet orange essential oil, borax, and organic surfactants have been successful in controlling vine mealybug nymphs without harming parasitoids. Optimizing insecticide application timing based on mealybug populations' exposure on grapevines during specific periods can improve control efforts. Semi chemicals, including pheromone-based monitoring and mating disruption, are used to enhance parasitoid performance (Mansour *et al.*, 2018). Cultural practices like selecting appropriate grapevine cultivars, hot-water immersion of dormant grape cuttings, and balanced nitrogen fertilization can also help reduce mealybug populations sustainably.

2.2.3. Green leafhopper

The grapevine leafhopper, *Empoasca vitis*, has been a major pest in European vineyards since the late 19th century, causing economic damage by feeding on grapevine leaves and impacting yield and sugar content of berries (Pavan and Picotti, 2009). Environmental conditions play a significant role,

with warm temperatures favoring the development and reproduction of these pests. In vineyards, two to four sexual generations of insects develop, with recurrent summer migrations between plots assumed. Adults and nymphs feed on phloem sap, causing leaf necrosis known as hopper burn (Figure 1E), which can lead to delayed maturity and reduced sugar content in grapes. (Decante and Helden, 2006). Knowledge of the life cycles of leafhoppers and planthoppers, including overwintering sites and dispersal patterns, is essential for predicting their appearance and implementing appropriate management strategies (Decante and Helden, 2006; Olivier *et al.*, 2012). By considering these factors and understanding the bionomics of these pests, vineyard managers can develop sustainable management programs to effectively control and mitigate the impact of leafhoppers on grapevines.

Managing green leafhopper in vineyards involves a comprehensive approach combining cultural, biological, and chemical control methods to effectively reduce their populations and minimize damage to grapevines. Cultural practices play a crucial role in leafhopper management, such as maintaining ground cover to promote beneficial insect populations, implementing proper pruning and canopy management to reduce leafhopper habitats, and regulating irrigation practices to create less favorable conditions for leafhoppers (Olivier *et al.*, 2012). Insecticide intervention may be necessary for controlling nymph populations during the summer generations, with intervention thresholds ranging from 0.5 to 4-5 nymphs per leaf depending on the authors and regions. Biological control strategies focus on encouraging natural enemies of leafhopper, including parasitoids and predators, by preserving biodiversity and introducing beneficial insects that prey on leafhoppers. For instance, *Anagrus atomus*, an egg parasitoid, has contributed to a decrease of 80% in pest incidence (Cerutti *et al.*, 1991). Besides, the application of kaolin (a white clay) either as preventive or curative application showed a significant decrease of the pest incidence, thus presenting an alternative to chemical insecticides (Tacoli *et al.*, 2017).

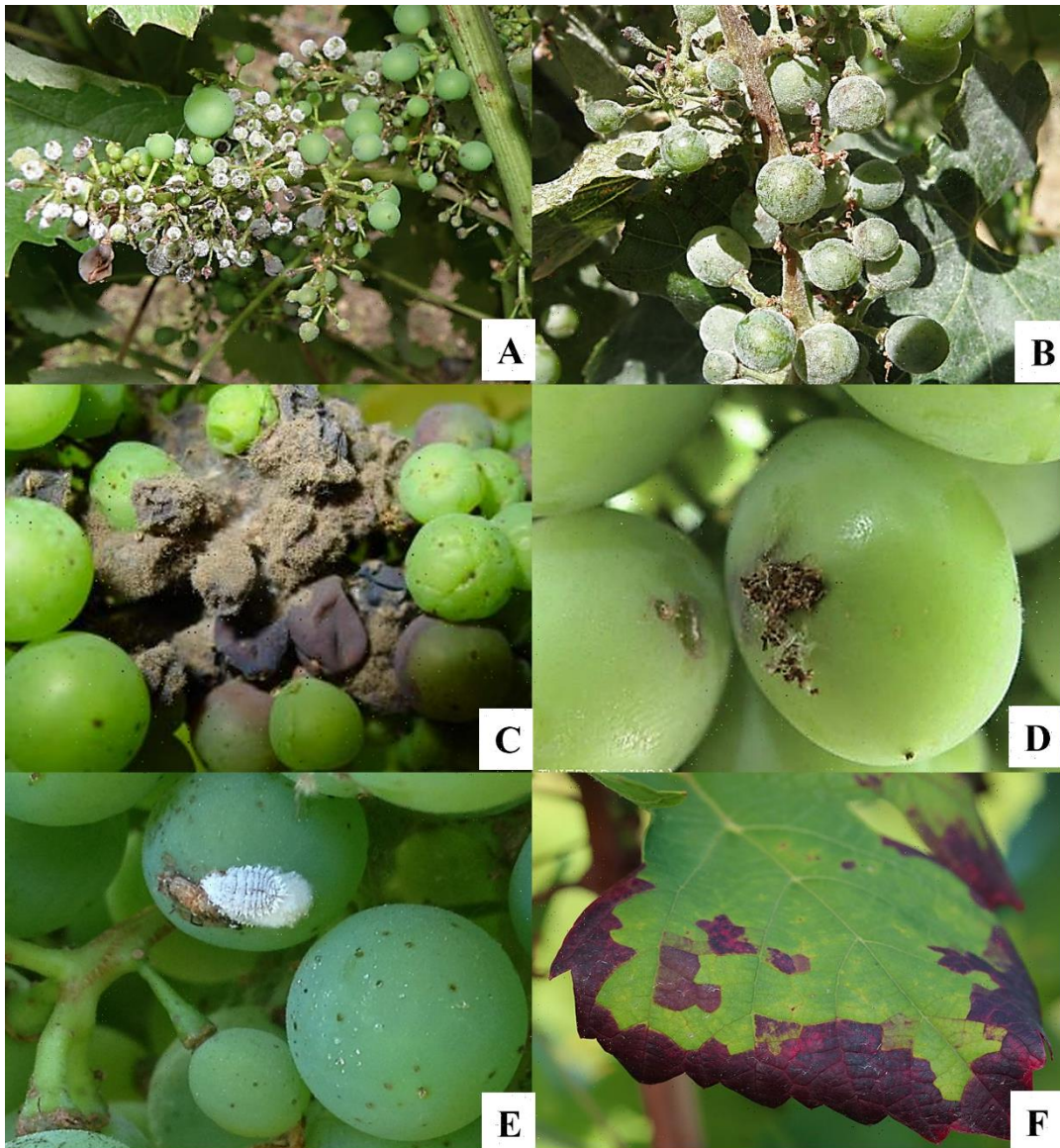


Figure 1. Damages observed on vine organs following (A) powdery mildew; (B) downy mildew; (C) grey mold; (D) grape moth; (E) vine mealybug and (F) green leafhopper attacks (Blancard, 2016, 2021; Fenio, 2024; Thiery, 2020; Taylor, 2021; Taylor and Gordon, 2021)

3. Pesticides indicators

Pesticide indicators play a crucial role in viticulture by providing valuable information on pesticide characteristics, including chemical and physical properties, toxicological effects, hazard categories, effectiveness, and importance in use (Van Bol *et al.*, 2003). These indicators serve as essential tools for assessing and managing pesticide applications in vineyards to ensure sustainable and responsible vineyard management practices. Indicators can be classified into two main categories: use indicators, which focus on the quantity of pesticide applied or the number of application, and risk

indicators that consider the exposure and hazard factors for one or more environmental compartments (such as the air, birds, farmer, and earthworms) that are evaluated individually (Van Bol *et al.*, 2003).

3.1. Pesticides use indicators

The assessment of pesticide usage evolution requires the selection of appropriate indicators. The Quantity of Active Substances (QSA) indicator quantifies the amounts of active substances in sold pesticides, although it may be influenced by differential dosage practices among products. The Number of Dose Units (NODU) indicator, developed in 2008 as part of the Ecophyto plan in France, which is focused on decreasing pesticide application while upholding the economic and social sustainability of agricultural activities, measures pesticide doses applied per hectare over a specific period, enabling a more precise tracking of changes in pesticide use and the amalgamation of different substances based on their application doses (DRAAF Grand Est, 2018). Additionally, the Treatment Frequency Indicator (TFI) evaluates the quantity of reference doses used per hectare during a crop season, assisting farmers in assessing reductions in pesticide usage, comparing their practices to regional standards, and identifying areas for improvement. Originating in Denmark in the mid-1980s to address limitations of traditional indicators in reflecting pesticide use intensity accurately (Pingault *et al.*, 2009), the TFI calculates the number of approved doses applied per hectare during a crop season, considering the intensity of pesticide use and farmers' reliance on these products (Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation, 2021).

The TFI has been employed in various countries to estimate the phytosanitary pressure in diverse crops such as, potatoes, table and wine grapes, (Bouagga *et al.*, 2019b; Simonovici, 2021; Abbou *et al.*, 2023). Recently, this index has been utilized to evaluate the effectiveness of alternative methods in reducing pesticide use, particularly in vineyards. For example, a study conducted in France examined the impact of transitioning to organic agriculture or semi-natural habitats on pesticide use, using TFI calculations (Etienne *et al.*, 2022). Similarly, the TFI has been applied to demonstrate differences in pesticide application between conventional and organic farming systems in French vineyards. In conventional farming, the average TFI was 15.3, corresponding to an average of 20.1 treatments per year, indicating a high frequency of pesticide applications. Conversely, in organic farming, synthetic chemical pesticides were replaced with copper and sulfur-based products in compliance with organic regulations. The TFI in organic farming is expected to be significantly lower than in conventional farming due to restrictions on synthetic chemical pesticide use, illustrating the shift towards reduced pesticide use in organic vineyard management (Merot *et al.*, 2020).

However, it is important to note that the TFI does not consider the toxicity and physico-chemical properties of the products applied, emphasizing the need to incorporate more specific indicators.

3.2. Pesticides risk indicators

The risk indicator is defined according to the directive 2009/128/EC of the European parliament as « the result of a method of calculation that is used to evaluate risks of pesticides on human health and/or the environment» (European Parliament, 2009). The Indicator of Risk to Human Health (IRSA) and the Indicator of Risk to the Environment (IRTE) were developed as toxicity risk indicators to assess the impacts of plant protection products on human health and the environment, respectively. Originating from the necessity for practical tools to manage plant protection risks in various regions such as Norway, Quebec, and Europe, these indicators were formulated to address the limitations of existing pressure indicators like the Treatment Frequency Index (TFI). By integrating the toxicity of pesticides on human health and biodiversity into risk evaluations, IRSA and IRTE offer a more comprehensive assessment of pesticide risks, providing valuable insights to guide decision-making in pesticide management strategies (Mghirbi *et al.*, 2015)

Furthermore, the Quebec Pesticide Risk Indicator (QPRI), primarily emphasizing the environmental aspect, was inspired by the Norway's Risk Indicator. Based on a realistic worst-case scenario and assuming cumulative effects from combined or repeated pesticide use under typical good management practices, the QPRI generates risk indices for both health and the environment. These indices serve as decision-making tools for selecting lower-risk pesticides and enable diagnostic assessments to evaluate evolving risks of pesticide use at treatment, enterprise, and regional levels in Quebec (Samuel *et al.*, 2007). The QRPI has been widely applied in African countries such as Burkina Fasso, Côte d'Ivoire, Mali, and Tunisia to study the risk induced by the applied pesticides in different crops such tomato, cotton, table grapes, and orange (Bouagga and Chaabane, 2016; Bouagga *et al.*, 2019b; Son *et al.*, 2018; Bars *et al.*, 2020).

Recently, Denmark introduced the Pesticide Load (PL) as a novel pesticide risk assessment metric, replacing the long-standing TFI. The PL functions as a comprehensive risk indicator for evaluating potential risks to human health and the environment associated with pesticide use. Comprising three sub-indicators – PL for Human Health (PL HH), PL for Ecotoxicology (PL ECO), and PL for Environmental Fate (PL FATE) – the PL collectively assesses human health risks, ecotoxicology risks, and environmental fate factors. In contrast to the TFI, which primarily focused on pesticide treatment frequency without directly assessing risks, the PL offers a more precise evaluation of pesticide risks by considering multiple dimensions of risk factors. The PL is utilized for annual monitoring of pesticide use trends, implementing new pesticide tax schemes, and setting reduction targets, underscoring a shift towards a holistic and risk-based approach in pesticide risk assessment (Kudsk *et al.*, 2018).

4. Pesticide residues in table and wine grapes

Pesticide residues have been extensively reported on fresh grapes. Once pesticides applied, the amount of pesticide residues detected in the raw commodity are especially affected by phytosanitary practices (preharvest interval (PHI), the applied dose and frequency of the plant production products (PPP)), active substance properties (physicochemical properties, half-life period ($t_{1/2}$), and mode of penetration), and environmental factors such as wind (inducing drift to neighbouring fields) and rainfall (reducing the initial amount of the applied pesticide) (González-Rodríguez *et al.*, 2011b; Bouagga *et al.*, 2018; Dumitriu Gabur *et al.*, 2022).

The PHI refers to the time required for initial quantity of pesticide residues present in grapes to be eliminated, and it can vary depending on the specific pesticide used and environmental conditions (Heshmati *et al.*, 2020). Several studies reported that the concentration of pesticide residues in grapes was depending on the PHI. For instance, spiroxamine exhibited a 50% reduction in concentration after 7 days, while only 10% of the applied dose remained in the wine grape after 42 days (Tsiropoulos *et al.*, 2005). On the other hand, trifloxystrobin and pyraclostrobin remained in the raw products when applied 3 days before harvest, while both compounds were not detected when applied 35 days prior to harvest (Garau *et al.*, 2009). Fenamidone, however, decreased during the first 21 days but remained unchanged until the harvest period (35 days) (Garau *et al.*, 2009). In a study conducted by González-Álvarez *et al.* (2012), the researchers investigated the presence and concentration of various pesticides in wine grapes after applying different PHI. The study revealed that when pesticides, such as valifenalate, cyazofamid, cymoxanil, and famoxadone, were applied 3 days before harvest, their presence in the grapes exceeded or reached the maximum residue level (MRL). In contrast, when proquinazid, metrafenone, boscalid, cyprodinil, and fludioxonil were applied in accordance with the recommended PHI (35 days), their concentrations were below the MRL (González-Álvarez *et al.*, 2012).

The degradation of active substances also varies based on their half-life period ($t_{1/2}$), which refers to the time it takes for half of the applied dose to degrade by several mechanisms such as photolysis, hydrolysis, metabolism... (Helfrich, 2009; Hanson *et al.*, 2015). Trifloxystrobin, pyraclostrobin, and fenamidone exhibited $t_{1/2}$ values of 14, 5.4, and 12.2 days, respectively, while cyprodinil, mepanipyrim, fluazinam, and fludioxonil displayed $t_{1/2}$ values ranging from 4.3 to 24 days (Cabras *et al.*, 1998).

The amount of pesticide residues detected can also be linked to the applied doses. The absence of penconazole, tetraconazole and kresoxim methyl in the raw product during the grape harvest period was attributed to the application of these chemicals at the recommended doses as mentioned by the manufacturers (Cabras *et al.*, 1997; Cabras *et al.*, 1998).

On the other hand, regarding the frequency of pesticide use, Česník *et al.* (2008) showed that the most often detected active substances were folpet (97.9%), active substances belonging dithiocarbamate chemical family (44.7%), cyprodinil, and pyrimethanil, which were used two to three times per year to fight fungal damage in wine vineyards (Česník *et al.*, 2008). The same researchers assessed pesticide residues in white and red wine grapes in 2015 and 2016 and found out that folpet was the most reported fungicide because of its frequent use (Česník *et al.*, 2015 and 2016). These applications were justified by its low price, affordable for all the winegrowers (Česník *et al.*, 2016). Besides, an exceedance was observed for pyrimethanil due to its application during two consecutive treatments, resulting in its accumulation in the grapes (Gabriolotto *et al.*, 2009).

Overall, these findings highlight the importance of considering the proper PHI, pesticide half-life, applied doses and the frequency of application when applying pesticides to grapes.

5. Alternative methods reducing pesticide residues in the raw and processed grapes

5.1. The respect of the good agricultural practices

Applying pesticides according to the good agricultural practices (GAP) could be useful to reduce pesticide residues in table and wine grapes and their processed products. For instance, actives substances such as mandipropamid, metrafenone, boscalid, cyprodinil... were detected at level below the EU MRL when applied according to the GAP (González-Rodríguez *et al.*, 2011a). In the study by González-Álvarez *et al.* (2012), it was observed that the application of fungicides under GAP conditions led to residue levels in grapes and wine that were within acceptable limits. Indian table grapes showed MRL exceedances due to non-compliance with GAP, while Chinese table grapes (applied under GAP conditions) exhibited non-compliance with active substances that present a low MRL values (Yadav *et al.*, 2020; Zhang *et al.*, 2021). Besides, Bouagga and co-workers (2019b) showed that Tunisian table grapes exhibited EU MRL exceedances in 94% of the samples for 14 active substances, including bifenthrin, carbofuran, chlorpyrifos, deltamethrin, dimethoate, malathion, omethoate, and fungicides such as carbendazim, thiophanate-methyl, triadimefon, and fluazinam. These findings were attributed to most farmers not adhering to GAP (Bouagga *et al.*, 2019b).

5.2. Integrated pest management program

The integrated pest management (IPM) is described as « the careful consideration of all available plant protection methods and subsequent integration of appropriate measures that discourage the development of populations of harmful organisms and keep the use of plant protection products and other forms of intervention to levels that are economically and ecologically justified and reduce or minimize risks to human health and the environment» (European Parliament, 2009). Numerous studies conducted

worldwide have investigated the impact of IPM practices on reducing pesticide residues in grapes and wine. For instance, Turkish table grapes cultivated under an IPM program had lower instances of MRL exceedances compared to conventionally grown grapes (Bakırcı *et al.*, 2014; Golge and Kabak, 2018; Zengin and Karaca, 2018). In the case of wine grapes, Slovenian wine vineyards managed under an IPM program had no MRL exceedances in all analyses samples (raw and processed wine grape), highlighting the effectiveness of sustainable practices (Česnik *et al.*, 2015, 2016). However, Česnik *et al.* (2008) reported that MRL exceedances for cyprodinil (38.3%) and fludioxonil (2.1%) were found in wine grape samples, despite being collected from vineyards implementing an IPM program. This observation suggests a potential non-compliance issue with pesticides that have low national MRL.

5.3. The organic farming method

The organic farming is a method of production that follows strict standards and regulations governing the controlled use of chemicals. It aims to protect the environment and reduce the presence of unwanted chemical residues in the final products, such as organic wines (Čepo *et al.*, 2018). A study conducted in Croatia (Čepo *et al.*, 2018) comparing pesticide residues in organically and conventionally produced wines revealed significant differences between the two types of wines. Out of a total of 26 samples analyzed, with fourteen being organic wines and twelve conventional wines, traces of pesticides such as iprodione, zoxamide, flusilazole, myclobutanil, and kresoxim-methyl were found mainly in organic red wines. The specific pesticides detected in conventional wines were not explicitly mentioned. Significantly lower total pesticide concentrations and average number of pesticides per sample were observed in organic wines compared to conventional wines (Čepo *et al.*, 2018).

Besides, a study conducted among 14 organic and conventional wines from the Canary Islands (Alonso González *et al.*, 2022) showed no MRL exceedances in either organic or conventional wine samples. Detected pesticides in the wines included mefenoxam, tebuconazole, fluopyram, and boscalid. The average concentration of pesticide residues in conventional wines was 8.2 µg/kg, while organic wines had an average concentration of 0.25 µg/kg. Conventional wines exhibited higher average pesticide residue concentrations, with certain samples exceeding 100 µg/kg. Boscalid, phtalimide, and fenhexamid were those found at elevated levels (Alonso González *et al.*, 2022). Similarly, a study about organic Slovenian wines (Čuš *et al.*, 2022) showed that pesticide residues were not detected in approximately 80% of samples, and the remaining 20%, only one residue per sample was detected. In contrast, conventional wines had at least one pesticide residue in 95% of the samples assessed (Čuš *et al.*, 2022). Organic wines generally displayed lower pesticide residue levels compared to conventional wines, although all the above-mentioned studies revealed traces of non-permitted active substances in organic wines, such as pyrimethanil, iprodione (reported in two studies), dimethomorph, zoxamide,

myclobutanol. These results were attributed to either cross-contamination or drift from neighboring farms (Alonso González *et al.*, 2022, Čuš *et al.*, 2022).

To prevent cross or drift contamination in organic farming, a comprehensive approach is essential. This includes implementing enhanced monitoring programs to detect and prevent non-permitted substances in organic products through rigorous surveillance. Establishing wider buffer zones between organic and conventional vineyards is crucial to reduce the risk of contamination. Increasing education and awareness among farmers about the dangers of cross-contamination and drift, along with promoting best practices, can help minimize these risks (Alonso González *et al.*, 2022).

6. Winemaking process and pesticide residues

The winemaking process consists of many stages, such as crushing, pressing, maceration, alcoholic fermentation (and malolactic fermentation in red winemaking), clarification, filtration, ageing, and bottling.

The pressing process, alcoholic fermentation, and clarification in the case of white winemaking, and alcoholic fermentation, pressing from pomace, and malolactic fermentation in the case of red winemaking, are the key vinification phases impacting pesticide residues (Alister *et al.*, 2014) (Figure 2).

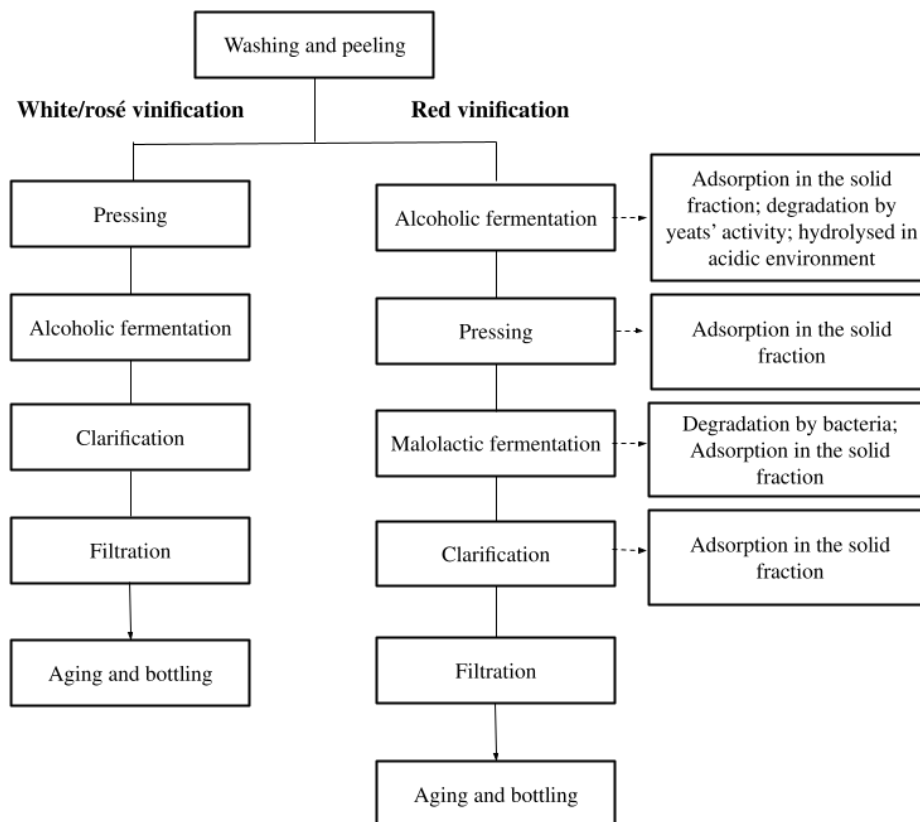


Figure 2. Main steps in white/rosé and red winemaking process identified from the literature review (Alister *et al.*, 2014)

6.1. Washing and peeling steps

Washing and peeling are one of the most effective ways to reduce pesticides during food processing. Pesticide removal during both stages is mainly related to their physicochemical properties (water solubility, K_{ow} , etc.) (Table S1) and their mode of penetration (contact or systemic) (Bajwa and Sandhu, 2014; Yigit and Velioglu, 2020). This finding has been illustrated in several studies. It has been proven that active substances that are non-systemic and have high water solubility are likely to be eliminated after the washing process (Yigit and Velioglu, 2020). For instance, washing grapes with tap water for 10 minutes reduced both cyazofamid and its metabolite CCIM (4-chloro-5-(4-methylphenyl)-1H-imidazole-2-carbonitrile) by 37 and 31%, respectively, due to their water solubility. Whereas, peeling allowed the decrease of both substances by 95 and 78%, respectively, as this step ensured the elimination of pesticides that entered the grape skin (Yang *et al.*, 2020). For metalaxyl-M, it was reduced by 79% following grape's dipping treatment due to its solubility in water (26.000 mg/L) (Table S1) (Hou *et al.*, 2020). However, for other pesticides such as boscalid, picoxystrobin, fluopicolide, pyraclostrobin,

and mandipropamid, the decrease was not so high, it ranged between 20 and 41% (Table 1) (Hou *et al.*, 2020).

The washing solution used also plays a key role in pesticide removal. For instance, washing grapes with NaCl solution (5%) completely removed the residues of both acephate and its metabolite methamidophos that remained on the surface but did not affect those present in the pulp, which were removed by hydrogen peroxide (5%) (An *et al.*, 2018). This fact is dependent on the penetration ability of the solution into the internal part of the grape (An *et al.*, 2018).

New technologies have been increasingly utilized to improve the efficacy of washing processes in reducing pesticide residues on fruits like grapes. One notable technology that has been shown to be promising is ultrasonic cleaning. Several studies have consistently demonstrated the effectiveness of ultrasonic cleaning in reducing pesticide residues on grape samples. For instance, Polat (2021), showed that on day 0, significant reductions of 71% for chlorpyrifos-methyl and 68% for lambda-cyhalothrin (Table 1) were achieved with just a 5-minute treatment using ultrasonic cleaning. However, as time progressed, the reduction rates decreased, with only 29% and 33% reductions observed for chlorpyrifos-methyl and lambda-cyhalothrin, respectively, by day 7. This reduction in efficacy over time was attributed to the increasing PHI (Polat, 2021). Additionally, researchers like Zhou *et al.* (2019) have corroborated the higher efficiency of ultrasonic washing when compared to traditional tap water treatment methods. Most pesticides showed removal rates above 60%, with a notable increase in abamectin removal from tap water washing to dishwasher. Specifically, the removal rates of difenoconazole and azoxystrobin increased more from tap water washing to dishwasher compared to thiamethoxam and tebuconazole, suggesting that difenoconazole and azoxystrobin were more challenging to remove from grapes (Zhou *et al.*, 2019). Besides, in the study on the dissipation of pesticide residues on grapes using plasma activated water (PAW), it was found that the reduction of chlorpyrifos residues was 79% and 86% for grapes treated with PAW (Table 1), while the reduction of carbaryl residues was 69% and 73% for strawberries treated with PAW. The reactive species in PAW interact with the pesticide molecules, leading to the degradation of the pesticides and reduction in their residues on the fruit surfaces. The effectiveness of this technic in reducing pesticide residues on grapes is attributed to the oxidative reactions initiated by the reactive species present in the plasma-activated water. These reactions break down the pesticide molecules, leading to their dissipation from the fruit surfaces. Additionally, the study showed that PAW treatment did not significantly alter the key physical attributes of the grapes, indicating that the process is effective in reducing pesticide residues while maintaining the quality of the fruit (Sarangapani *et al.*, 2020).

The ozone water showed a removal effect ranging between 10 and 80% for pesticides such as acetamiprid, dinotefuran, imidacloprid, triadimenol, azoxystrobin, fluxapyroxad, tebuconazole,

pydiflumetofen, pyraclostrobin difenoconazole (Table 1) due to the presence of microbubbles during ozone washing led to an acceleration in the removal of pesticides from grapes. This acceleration was attributed to the mechanical force generated by the collapse of microbubbles, facilitating a more efficient mass transfer between the grape matrix and water, and thereby increasing the removal rates (Liu *et al.*, 2023).

The same study showed a different effect of the peeling step according to the $\log k_{ow}$ of the active substances. In fact, the removal rate was higher for active substances with a $\log k_{ow} > 2$ such as azoxystrobin, pyraclostrobin, difenoconazole... (Table 1).

6.2. Pressing step

The pressing step is considered one of the main processes that significantly reduces pesticide residues (by 50 to 100%) (Table 1) during vinification (Čuš *et al.*, 2010a). Pressing removal efficiency is related especially to the physicochemical properties of pesticide residues, namely the $\log K_{ow}$ and the water solubility (Table S1). The highest pesticide removal was observed for hydrophobic molecules with a high $\log K_{ow}$ (> 3). Indeed, the insecticides lambda-cyhalothrin and chlorpyrifos were removed by 100 and 98%, respectively, because of their high $\log K_{ow}$ (5.5 and 4.96, respectively) (Navarro *et al.*, 2001; Alister *et al.*, 2014). The fungicides belonging to the triazole group were decreased by 63% (tetraconazole) (Briz-Cid *et al.*, 2021) to 80% (penconazole) (Navarro *et al.*, 2001; González-Rodríguez *et al.*, 2009b) ($\log K_{ow}$ of 3.56 to 3.72) (Table S1). Similarly, pyraclostrobin, benalaxyl-M, benalaxyl, and mepanipyrim were highly reduced (by 70 to 80%) due to their adsorption in the solid fraction (pomace) (González-Rodríguez *et al.*, 2009a, 2011a). Cyprodinil reduction during pressing (by 60 to 90%) was also reported by several studies, probably due also to its high $\log K_{ow}$ value ($\log K_{ow} = 4$) (Cabras *et al.*, 1997; Edder *et al.*, 2009; González-Rodríguez *et al.*, 2009a, 2011a).

However, residues of boscalid, cyazofamid, folpet, famoxadone, fludioxonil, mandipropamid, and valifenalate were transferred equally between the solid (pomace) and liquid (must) fractions, despite their high $\log K_{ow}$ (up to 4.56) (González-Rodríguez *et al.*, 2009a, 2011a). Similarly, iprovalicarb was reduced by only 37 to 50%. while its $\log K_{ow}$ is about 3.12 (González-Rodríguez *et al.*, 2011a; Briz-Cid *et al.*, 2021).

For water-soluble pesticides, the pressing step did not show a significant removal. For instance, 80% of cymoxanil and 64% of metalaxyl residues were still detected in the must after pressing because of their water solubility (780 and 8400 mg/L, respectively) (Table S1) (Navarro *et al.*, 2001; González-Rodríguez *et al.*, 2011a). However, pressing did not show a great removal effect on acephate and methamidophos as most of residues remain in the grape' surface (An *et al.*, 2018).

6.3. Fermentation step

Pesticide residues are generally reduced after the fermentation stage, except for those that do not have a preferential distribution between the solid and liquid phases (Čuš *et al.*, 2010a).

The first impact of the vinification process on pesticide residue removal was highlighted during the alcoholic fermentation (Painter *et al.*, 1963). Painter *et al.* (1963) showed that chlordane, DDT, diazinon, ethion, endrin, tedion and kelthane were not detected in wine, either because they were adsorbed in lees or hydrolyzed in acid solution (in the case of diazinon).

Angioni *et al.* (2005) assessed the fermentation effect on zoxamid residues in wine, a fungicide used to control downy mildew. They highlighted the decrease in pesticide amounts during alcoholic fermentation. A higher decrease rate was noted at high initial concentrations of zoxamid. The yeasts used during the fermentation step can reduce pesticide concentrations efficiently, either by degradation, absorption, or adsorption. Both microorganisms, *Kloeckera apiculata* and *Saccharomyces cerevisiae*, induced the decrease of zoxamid, with a higher efficacy of *K. apiculata* (Angioni *et al.*, 2005). Alcoholic fermentation can also induce the formation of pesticide by-products. Angioni *et al.* (2003) illustrated the degradation of captan to its metabolite, tetrahydrophthalimide (THPI), during winemaking. Only the metabolite remained in the final product at the end of the fermentation process. Acephate was reduced by 58.9% during alcoholic fermentation, with increasing concentrations of its metabolite, methamidophos (Table 1). This result illustrates the degradation of acephate throughout the fermentation step (An *et al.*, 2018). The 52.6% decrease in pyrimethanil amount was also explained by the effects of both yeast degradation and adsorption in grape skins and lees (Vaquero-Fernández *et al.*, 2013). Similarly, Lu *et al.* (2016) studied the chiral stability and the degradation of the two enantiomers of benalaxyl following winemaking. The evaluation was performed by adding the two molecules before winemaking. The analyses showed that fermentation does not affect the two enantiomers of benalaxyl. These two molecules remain stable throughout the whole stage and, hence, could be found in wine (Lu *et al.*, 2016). These results highlight the increasing need for assessing pesticide metabolites. Hou *et al.* (2020) assessed the fate of six pesticides (metalaxyl-M, boscalid, picoxystrobin, fluopicolide, pyraclostrobin, and mandipropamid) during the winemaking process. This study showed that metalaxyl-M was the least affected active substance because of its high-water solubility (26.000 mg/L) (Table S1), unlike the other assessed substances, which were detected in pomace (Hou *et al.*, 2020).

Moreover, fermentation can occur either with or without maceration. In this case, numerous studies highlighted the reduction of pesticides with high potential to be adsorbed on the solid fraction, such as tebufenozide, lufenuron, and fludioxonil (Fernández *et al.*, 2005a; Likas and Tsiropoulos, 2011). For pyraclostrobin and fenamidone, they were not detected in wine due to their adsorption in the lees (Garau *et al.*, 2009). The amounts of spiroxamine residues were higher in wine following winemaking with

maceration (Tsiropoulos *et al.*, 2005). However, famoxadone was reduced by 85 and 92% during the vinification with or without maceration, respectively (De Melo Abreu *et al.*, 2006; González-Rodríguez *et al.*, 2011a). Despite this, there were few studies on the dissipation of pesticide residues during malolactic fermentation. The enzymatic transformation of L (-) malic acid to L (-) lactic acid is carried out by lactic acid bacteria such as *Lactobacillus*, *Oenococcus*, and *Pediococcus* (Bajwa and Sandhu, 2014). Chlorpyrifos was reduced significantly (70%) during the malolactic fermentation as compared to dicofol, chlorothalonil, and procymidone, which were slightly reduced (less than 30%) (Table 1) (Ruediger *et al.*, 2005). Similarly, fludioxonil was reduced significantly during the alcoholic and malolactic fermentations (Edder *et al.*, 2009). Malolactic fermentation contributed to the reduction of pyrimethanil by 41.9% (Vaquero-Fernández *et al.*, 2013). It also contributed to the decrease of imidacloprid and tebuconazole by 44 to 76%, respectively (Alister *et al.*, 2014), even if González-Rodríguez *et al.* (2009) found that this step did not significantly affect the residues of tebuconazole (González-Rodríguez *et al.*, 2009b). In some cases, such as the study reported by Alister *et al.* (2014), malolactic fermentation could account for the higher dissipation rate of pesticide residues during red winemaking compared to white winemaking.

6.4. Clarification step

Clarification is among the most important stages of the winemaking process. It contributes to the elimination of undesirable contents (suspended materials, colloidal particles, unstable proteins) that could alter wine clarity and turbidity (Mierczynska-Vasilev and Smith, 2015) and enhances the aroma, flavor, color, stability, and/or clarity of the final product (Doulia *et al.*, 2018). Wine can be clarified through fining, centrifuging, refrigeration, or settling (in cold conditions or with pectolytic enzymes) (Urkude *et al.*, 2019). The highest removal rate during vinification occurs following the separation between the solid (cake) and liquid fractions (must and wine). The less soluble pesticides in water are likely to concentrate in the cake rather than in the must and wine. Indeed, Doulia *et al.* (2018) mentioned that the effectiveness of clarification is associated with the physicochemical properties of the target pesticide, especially their polarity. Clarification by settling using pectolytic enzymes induced a loss of 80–95% of cyazofamid, boscalid, fludioxonil, famoxadone, mandipropamid, proquinazid, and metrafenone (Table 1) owing to their adsorption to the solid phase (deposits from the must). However, cymoxanil and valifenalate did not show significant adsorption in the solid fraction and were still detected in the clarified wine (González-Rodríguez *et al.*, 2011a). Another study showed the complete disappearance of chlorpyrifos and the removal of both dichlofluanid and chlozolinate by 85 and 70%, respectively (Sala *et al.*, 1996).

According to their nature, clarifying agents can be grouped into earth (bentonite), animal proteins (egg albumin, gelatin, isinglass, and caseins), wood charcoal (carbons), and synthetic polymers

(polyvinylpolypyrrolidone (PVPP)) (Doulia *et al.*, 2018). Activated carbons, bentonite, PVPP, charcoal, casein, and blood albumin were among the frequently reported clarifying agents.

The activated carbon showed the highest effectiveness (64–90%) to remove pesticide residues (such as fenhexamid, penconazole, myclobutanil, folpet, chlorpyrifos, deltamethrin, chlorothalonil, and diclofop) compared to the other assessed clarifying agents (PVPP, etc.) (Table 1) (Ruediger *et al.*, 2004; Doulia *et al.*, 2017 and 2018). Moreover, it completely removes tetrafidon, nuarimol, α -endosulfan, penconazole, and vinclozolin and reduced imazalil by 92.9% (Sen *et al.*, 2012). Similarly, Philipp *et al.* (2021) showed a greater effect of activated carbon on pesticide removal as compared to gelatin (Philipp *et al.*, 2021). Despite its effectiveness to remove pesticides, a significant amount of activated carbon could alter the color and organoleptic quality of wine (Ruediger *et al.*, 2004; Sen *et al.*, 2012). Furthermore, this clarifying agent does not have any effect on pesticides with high solubility (Sen *et al.*, 2012).

On the other hand, bentonite, a fining agent, is used to remove positively charged proteins from wine (Sen *et al.*, 2012). This product showed a great effect on several pesticide residues, such as imazalil (96.2–98.1%), α -endosulfan (81.4–87.2%), penconazole (84.3–95.5%) (Table 1) (Sen *et al.*, 2012) and both carbendazim and chlorothalonil at low concentrations (Ruediger *et al.*, 2004). At the pH level of the wine (around 3), carbendazim becomes positively charged, thus helping its elimination by bentonite (negatively charged). Bentonite also reduced cyprodinil and famoxadone by 93 and 73%, respectively (González-Rodríguez *et al.*, 2011a). Similarly, iprovalicarb was completely adsorbed by bentonite; both indoxacarb and boscalid were reduced only by 50%, while the amount of tebufenozide remained unchanged (Angioni *et al.*, 2011; González-Rodríguez *et al.*, 2011a).

The combination of clarifying agents (bentonite, PVPP, potassium caseinate, and diatomaceous earth) was more effective in reducing boscalid at higher concentrations compared to only bentonite (Čuš *et al.*, 2010a). The combination of bentonite and gelatin contributed to the decrease of mepanipyrim by 14 to 23% (González-Rodríguez *et al.*, 2011a). Fernández *et al.* (2005) mentioned that blood albumin has the greatest elimination effect on cyprodinil, pyrimethanil, and fludioxonil as compared to PVPP, which was the less effective product due to its insolubility in hydroalcoholic solutions (Fernández *et al.*, 2005b). However, Oliva PVPP completely removed both famoxadone and trifloxystrobin when applied in low quantities (Oliva *et al.*, 2007). Similarly, PVPP removed greatly α -endosulfan (98.3 - 100%), penconazole (71.7 - 80-2%) and imazalil (51.5 - 60.7%) (Sala *et al.*, 1996).

Besides, Ruediger *et al.* (2004) evaluated the impact of the concentration of both pesticide residues and the fining agents (bentonite, PVPP, and activated carbon). For instance, PVPP was more efficient in reducing chlorpyrifos by 55 to 85% at high concentrations, while bentonite removed significantly carbendazim and chlorothalonil at low concentrations (Table 1) (Ruediger *et al.*, 2004). The same study

also showed the higher efficiency of the fining agents during the white vinification process as compared to the red vinification. The preferential adsorption of polyphenols (found in red wine) on the fining agents could explain this finding, resulting in a change in the surface availability of these products (Doulia *et al.*, 2018). Both casein 20 and casein 50 (milk proteins) completely removed iprovalicarb and indoxacarb. About 50% of boscalid amounts were reduced by casein 50 and gelatin (Table 1) (Angioni *et al.*, 2011). It should be noted that highly soluble pesticides such as dimethoate and dichlorvos were not decreased following the clarification (Cabras and Angioni, 2000).

6.5. Filtration step

Filtration is considered as a stabilization step, as it removes remaining substances that may alter the wine's quality after the clarification process (Jose Oliva *et al.*, 2007). Microfiltration's effectiveness to remove pesticide residues was correlated with the type of membrane and the physicochemical properties of the target pesticides ($\log K_{ow}$ and the solubility of water) (Doulia *et al.*, 2016).

The most reported filtration method is using a fiber glass filter (Alister *et al.*, 2014) or a nylon filter (Navarro *et al.*, 1999; Jose Oliva *et al.*, 2007). For many active substances, this step has little impact on their reduction in terms of their inability to be retained by the membrane filter. For example, the nylon filter (0.45 μm) was ineffective in reducing pesticide residues, quinoxifen and pyrimethanil, because of their $\log K_{ow}$ (less than 4). However, it is more efficient to reduce cyprodinil and fludioxonil ($\log K_{ow}$ of 4 and 4.12, respectively). Filtration with glass fiber had no removal effect on buprofezin, tebuconazole, pyrimethanil, and imidacloprid due to their low $\log K_{ow}$ (Table S1) (Alister *et al.*, 2014).

Doulia *et al.* (2016) assessed the effectiveness of microfiltration using six membranes with pore sizes of 0.45 μm (cellulose nitrate, cellulose acetate, nylon polyamide, polyethersulfane, and regenerated cellulose). For less hydrophobic pesticides such as fenhexamid, hexaconazole, and myclobutanil, the membranes exhibited low effectiveness, with a minimal reduction percentage of 5% in adsorption. Medium hydrophobic pesticides like procymidone and vinclozolin showed better removal rates, particularly with cellulose acetate membranes achieving a mean reduction percentage of 42%, compared to 12% with other membranes. In contrast, more hydrophobic pesticides including pyrethroids (bifenthrin, cyfluthrin and deltamethrin) and organophosphorus compounds demonstrated higher removal efficiency, with membranes achieving a substantial 57% reduction in adsorption from red wine (Table 1) (Doulia *et al.*, 2016).

On the other hand, the filtration could also be affected by the clarifying agent applied previously. The filtration was more effective following a clarification by charcoal agent (Fernández *et al.*, 2005b). In the same way, filtration by a nylon filter, after clarification by PVPP and gel silica, was less efficient in

reducing famoxadone, fluquinconazole, and trifloxystrobin due to the lower solubility of both compounds in the hydro-alcoholic solutions (Jose Oliva *et al.*, 2007).

Given its low percentage reduction (between 1.6 and 28%), the filtration step presents the least impact on the transfer of pesticide residues.

6.6. Aging and bottling steps

Aging is a crucial part of the winemaking process, as it enhances the wine's flavor over time (An *et al.*, 2018). While few studies dealt with the effect of the aging and bottling steps on pesticide residue dissipation during winemaking, some of them mentioned the positive effect of reducing pesticide amounts in the final product.

After a wine bottling period of 180 days, metalaxyl, penconazole, and vinclozolin residues were reduced by 26.3 and 37% respectively (Table 1) (Navarro *et al.*, 1999). In both dark and light conditions, methidathion and pyrazophos were reduced during white and red wine bottling with a DT_{50} (time required for the dissipation of 50% of the initial amount (Beulke and Brown, 2001) between 20.1 and 34.5 days (Stavropoulos *et al.*, 2001). In the same context, imidacloprid, pyrimethanil, buprofezin, and tebuconazole were decreased by more than 70% following white and red wine bottling (Alister *et al.*, 2014). An *et al.* (2018) reported a significant reduction in both acephate and its metabolite methamidophos, with decreases of 43.2 and 30.6%, respectively (Table 1). This decrease could be attributed to the presence of undesirable microorganisms, including *Brettanomyces* and *Dekkera* yeast, in contaminated wine (Suárez *et al.*, 2007). These microorganisms have the ability to degrade pesticide residues through the production of H_2S and SO_2 (Angioni *et al.*, 2005). However, it is worth noting that more persistent pesticides such as procymidone, vinclozolin, and iprodione may still be detected in bottled wine without significant reduction (10 to 25%) at this stage (Sala *et al.*, 1996).

Table 1. The effect of the winemaking steps on pesticide residues amounts as reported in the literature.

Winemaking process	Active substance	Pesticide residue reduction	Reference
Washing	Acephate	100% after washing with NaCl solution (5%)	An <i>et al.</i> , 2018
	Methamidophos		
	Cyazofamid	37%	Yang <i>et al.</i> , 2020
	CCIM	31%	
	Metalaxyl-M	79%	Hou <i>et al.</i> , 2020
	Boscalid	30 to 41%	
	Mandipropamid		
	Pyraclostrobin	30 to 78%	Hou <i>et al.</i> , 2020 ; Liu <i>et al.</i> , 2023
	Acetamiprid, dinotefuran, imidacloprid, triadimenol, azoxystrobin, fluxapyroxad, tebuconazole, pydiflumetofen, pyraclostrobin difenoconazole	9-69% (tap water)	Liu <i>et al.</i> , 2023

	Acetamiprid, dinotefuran, imidacloprid, triadimenol, azoxystrobin, fluxapyroxad, tebuconazole, pydiflumetofen, pyraclostrobin difenoconazole	10-80 % (ozone water)	
Peeling	Cyazofamid	95%	Yang <i>et al.</i> , 2020
	CCIM	78%	
	Acetamiprid, dinotefuran, imidacloprid, triadimenol	< 50%	Liu <i>et al.</i> , 2023
	Azoxystrobin, fluxapyroxad, tebuconazole, pydiflumetofen, pyraclostrobin difenoconazole	> 78%	
Pressing	Benalaxyl-M	70 to 80%	Gonzalez-Rodriguez <i>et al.</i> , 2009
	Boscalid	50%	Gonzalez-Rodriguez <i>et al.</i> , 2011
	Chlorpyrifos	80 to 98%	Navarro <i>et al.</i> , 2001
	Cyazofamid	50%	Gonzalez-Rodriguez <i>et al.</i> , 2011

Cymoxanil	20%	Gonzalez-Rodriguez <i>et al.</i> , 2011
Cyprodinil	60 to 75%	Edder <i>et al.</i> , 2009
	70 to 80%	Gonzalez-Rodriguez <i>et al.</i> , 2009
	70 to 90%	Gonzalez-Rodriguez <i>et al.</i> , 2011
Famoxadone	50%	Gonzalez-Rodriguez <i>et al.</i> , 2009
	70 to 90%	Gonzalez-Rodriguez <i>et al.</i> , 2011
Fludioxonil	50%	Gonzalez-Rodriguez <i>et al.</i> , 2011
Folpet	50%	Gonzalez-Rodriguez <i>et al.</i> , 2009
Iprovalicarb	50%	Gonzalez-Rodriguez <i>et al.</i> , 2009
	34-37%	Briz-Cid <i>et al.</i> , 2021
Lambda-cyhalothrin	100%	Alister <i>et al.</i> , 2014
Mandipropamid	50%	Gonzalez-Rodriguez <i>et al.</i> , 2011
Mepanipyrim	69%	Briz-Cid <i>et al.</i> , 2021
Metrafenone	70 to 90%	Gonzalez-Rodriguez <i>et al.</i> , 2011
Penconazole	80 to 98%	Navarro <i>et al.</i> , 2001
	70 to 80%	Gonzalez-Rodriguez <i>et al.</i> , 2009
Proquinazid	70 to 90%	Gonzalez-Rodriguez <i>et al.</i> , 2011
Pyraclostrobin	70 to 80%	Gonzalez-Rodriguez <i>et al.</i> , 2009

	Tetraconazole	0,63	Briz-Cid <i>et al.</i> , 2021
	Valifenalate	0,5	Gonzalez-Rodriguez <i>et al.</i> , 2011
Alcoholic fermentation (with or without maceration)	Chlorpyrifos	100%	Sala <i>et al.</i> , 1996 ; Navarro <i>et al.</i> , 2001
	Acephate	59%	Tsiropoulos <i>et al.</i> , 2005
	Boscalid	68 to 93%	Fernandez <i>et al.</i> , 2005
	CCIM	88%	Fernandez <i>et al.</i> , 2005
	Cyazofamid	Reduction by 85 and 92%	De Melo Abreu <i>et al.</i> , 2006
		95%	Garau <i>et al.</i> , 2009
	Cyprodinil	High decrease following carbonic maceration	Gonzalez-Rodriguez <i>et al.</i> , 2011
	Famoxadone	Reduction by 85% and 92%	Gonzalez-Rodriguez <i>et al.</i> , 2011
			Likas <i>et al.</i> , 2011
	Fludioxonil	Reduction rapidly without maceration	Likas <i>et al.</i> , 2011
	Kreoxim methyl	68 to 93%	Vaquero-Fernández <i>et al.</i> , 2013
	Lufenuron	A removal of part of the residual with the solid fraction	Noguerol-Pato <i>et al.</i> , 2016
	Methamidophos	An increase with two time the amount	Noguerol-Pato <i>et al.</i> , 2016
	Metrafenone	68 to 93%	Noguerol-Pato <i>et al.</i> , 2016
Pyraclostrobin	Not detected following a winemaking process without maceration	An <i>et al.</i> , 2018	

	Pyrimethanil	53%	An <i>et al.</i> , 2018
	Spiroxamine	A higher concentration following winemaking with maceration than winemaking without maceration	Yang <i>et al.</i> , 2020
	Tebuconazole	A reduction during fermentation without maceration	Yang <i>et al.</i> , 2020
Malolactic fermentation	Chlorpyrifos	70%	Ruediger <i>et al.</i> , 2005
	Diclofop	30%	
	Chlorothalonil	A slight decrease	
	Pyrimethanil	42%	Alister <i>et al.</i> , 2014
	Imidacloprid	44 - 76%	
	Tebuconazole		
Clarification by settling	Boscalid	80-95%	Gonzalez-Rodriguez <i>et al.</i> , 2011
	Cyazofamid		
	Famoxadone		
	Fludioxonil		
	Mandipropamid		
	Metrafenone		
	Proquinazid		
	Cyprodinil	50%	Sala <i>et al.</i> , 1996
	Chlorpyrifos	100%	
	Dichlofluanid	87%	
	Chlozolate	70%	
Clarification by activated carbon	Chlorothalonil	90%	Ruediger <i>et al.</i> , 2004
	Diclofop		
	α -endosulfan	100%	Sen <i>et al.</i> , 2012
	Nuarimol		

	Tetrafidon		Doulia <i>et al.</i> , 2017; 2018
	Penconazole		
	Vinclozolin		
	Imazalil	92%	
	Fenhexamid		
	Chlorpyrifos		
	Deltamethrin	64%	
	Folpet		
	Penconazole		
	Clarification by Bentonite	Iprovalicarb	
Indoxacarb		50%	
Boscalid		50%	
Cyprodinil		93%	Gonzalez-Rodriguez <i>et al.</i> , 2011
Famoxadone		73%	
Tebufozide		Unchanged	Likas <i>et al.</i> , 2011
Imazalil		96 - 98%	Sen <i>et al.</i> , 2012
α -endosulfan		81 - 87%	
Penconazole		84 - 96%	
Clarification by bentonite/gelatin	Lindane	60%	Jimenez <i>et al.</i> , 2007
	Acetamiprid		Pazzirota <i>et al.</i> , 2013
	Azoxystrobin		
	Carbaryl		
	Carbendazim		
	Cyprodinil		
	Dimethoate		
	Dimethomorph		
	Imazalil		
	Imidacloprid		
	Kresoxim methyl		
	0.2 to 50%		

	Penconazole		
	Procymidone		
	Thiabendazol		
	Mepanipyrim	14 to 23%	Briz-Cid <i>et al.</i> , 2021
Clarification by PVPP	α -endosulfan	98 to 100%	Sala <i>et al.</i> , 1996
	Imazalil	52 to 61%	
	Penconazole	72 to 80%	Ruediger <i>et al.</i> , 2004
	Chlorpyrifos	55 to 85%	
	Famoxadone	100%	
Trifloxystrobin			
Clarification by casein 20	Indoxacarb	100%	Gonzalez-Rodriguez <i>et al.</i> , 2011
	Iprovalicarb		
Clarification by casein 50	Boscalid	50%	Gonzalez-Rodriguez <i>et al.</i> , 2011
Filtration	Fenhexamid, hexaconazole, myclobutanil	5%	Doulia <i>et al.</i> , 2016
	Procymidone, vinclozolin	12-42%	
	Bifenthrin, cyfluthrin, deltamethrin	57%	
Aging and bottling	Metalaxyl	26%	Navarro <i>et al.</i> , 1999
	Penconazole	31%	
	Vinclozolin	37%	
	Buprofezin	70%	Alister <i>et al.</i> , 2014
	Imidacloprid		
	Pyrimethanil		

	Tebuconazole		
	Acephate	43%	<i>An et al., 2018</i>
	Methamidophos	31%	

7. Effect of the drying process on pesticide residue amounts

The drying process is a commonly used method for conserving agricultural products, including grapes. The traditional sun-drying method is the most applied drying method in arid and semi-arid areas with favorable climatic conditions, particularly high sunshine. The grape berries are spread on the ground (on plastic trays) or on a platform to be directly exposed to the sun (Bhourri *et al.*, 2016). Other methods that are noteworthy include shade drying and mechanical drying, which can be carried out in temperature-controlled chambers, ovens, or dryers that have a heat pump (Ferradji *et al.*, 2008; Nguyen, 2015; Wang *et al.*, 2016).

Various studies have considered the impact of the drying process on pesticide residue' content in dried table grapes. The study of Lentza-Rizos and co-workers (2006) showed a reduction after alkali treatment (during 3 min) followed by drying of $69 \pm 13\%$ for the seedless variety and 66% for the variety with seeds. This reduction closely aligns with the percentage loss of 75% observed after alkali treatment of the harvested grapes, suggesting that the reduction occurred during this step. This conclusion is further supported by the finding that the drying process alone resulted in only a 25% reduction in residues (Table 2) (Lentza-Rizos *et al.*, 2006).

Sabale *et al.* (2014) and Shabeer *et al.* (2015) assessed the transfer of kresoxim methyl, dimethomorph, famoxadone, and cymoxanil, residues during grape washing, dipping in an alkali solution, and drying under shade for 15 days. The washing and dipping steps reduced kresoxim methyl, dimethomorph, cymoxanil, and famoxadone by 80, 60, and 15%, respectively (Table 2) (Sabale *et al.*, 2014; Shabeer *et al.*, 2015). The high removal effect of this stage, particularly for kresoxim methyl, dimethomorph, and cymoxanil, is likely due to their hydrolysis in the alkali solution. Despite this, famoxadone was the pesticide that was less affected by the washing and dipping process, as it is a systemic fungicide. All the pesticides mentioned get concentrated after the shade drying process because of the weight loss during the process (Sabale *et al.*, 2014; Shabeer *et al.*, 2015).

A study, performed in Turkey, investigated two drying processes: solar and oven drying. According to this study, 73, 92 and 39% of chlorpyrifos, diazinon, and dimethoate (Table 2) were removed, respectively, following solar drying. On the other hand, drying in the oven (at temperatures ranging from 70 to 80°C) removed about 90% of the abovementioned residues (Özbey *et al.*, 2017). The impact of drying methods on pesticide residues concentrations showed a highest reduction following sun-drying process, in which ethion, phosalone, penconazole, diazinon, and hexaconazole decreased by 68.4, 69.5, 72.7, 76.6, and 82.2%, respectively (based on dry weight) (Table 2) (Rahimi *et al.*, 2022). The use of a solar hot air dryer exhibited a better effect than hot air drying. A reduction of lufenuron (by 39.9%), bifenthrin (by 72.8%), chlorpyrifos (by 74.1%), and cymoxanil (by 45.5%) residues was reported

(Nadeem *et al.*, 2019). The greatest reduction of pesticides observed during sun-drying is probably due to evaporation, volatilization, and solar radiation (Nadeem *et al.*, 2019).

Following sun-drying, the residue levels in raisins were similar to those in fresh fruits for benalaxyl, metalaxyl, and phosalone, but differed for iprodione, vinclozolin, and dimethoate. Prior to oven-drying, a washing using hot water (99°C for 5 to 10 min) caused a notable reduction in residues for iprodione and procymidone, while the levels of other pesticides remained unchanged (Table 2) (Cabras *et al.*, 1998a). Upon oven-drying (70°C for 24h), the residue levels in raisins relative to fresh fruits increased for phosalone, remained constant for benalaxyl, metalaxyl, and procymidone, and decreased for vinclozolin and dimethoate. Sun-drying demonstrated greater efficacy for phosalone and vinclozolin, while oven-drying was more effective for iprodione and procymidone, primarily influenced by the washing process rather than dehydration (Cabras *et al.*, 1998a). Experimental results from a model system suggested that the decrease in dimethoate was a result of heat exposure, whereas for benalaxyl, procymidone, and phosalone, it was linked to co-distillation (Cabras *et al.*, 1998a).

However, the lowest effect of the shade-drying method on residue reduction could be explained by the lack of sunlight, lower temperature, and less airflow during shade-drying (Rahimi *et al.*, 2022). Additionally, the physicochemical properties of pesticides can also influence their elimination during drying (Sabale *et al.*, 2014; Zhao *et al.*, 2018). For instance, the greater reduction of diazinon during oven drying could be related to its high vapor pressure (Heshmati *et al.*, 2020).

Table 2. Influence of the table grapes' pretreatment and drying on pesticide residue levels.

Drying process	Active substance	Pesticide residue reduction	Reference
Pretreatment by washing with tap water	Metalaxyl-M	79%	Hou <i>et al.</i> , 2020
	Boscalid, picoxystrobin, fluopicolide, pyraclostrobin and mandipropamid	20-40%	
Pretreatment by washing with hot water	Iprodione, procymidone	A notable reduction	Cabras <i>et al.</i> , 1998a
Pretreatment by washing with tap water and dipping in 1% dipping oil and 3% potassium carbonate	Kresoxim methyl	Reduction by more than 80%	Sabale <i>et al.</i> , 2014
	Cymoxanil	60%	Shabeer <i>et al.</i> , 2015
	Dimethomorph	80%	
	Famoxadone	15%	
	Hexythiazox, bifenazate	80%	Thekkumpurath <i>et al.</i> , 2020
Pretreatment by dipping in 1% ethyl oleate and 3% of potassium carbonate	Azoxystrobin	75%	Lentza-Rizos <i>et al.</i> , 2006
Drying by sunlight (21 days)	Iprodione	Increased	Cabras <i>et al.</i> , 1998a
	Azoxystrobin	Reduction by 66% (following dipping in alkaline solution) and by 25% following only sun-drying	Lentza-Rizos <i>et al.</i> , 2006
	Chlorpyrifos	73%	Cabras <i>et al.</i> , 1998a; Özbey <i>et al.</i> , 2017
	Diazinon	92%	
	Dimethoate	39%	
	Ethion	68%	Rahimi <i>et al.</i> , 2022
	Phosalone	70%	
	Penconazole	73%	

	Diazinon	77%	
	Hexaconazole	82%	
Drying in the shade (15 days)	Kresoxim methyl	Concentration with a PF> 1	Sabale <i>et al.</i> , 2014
	Cymoxanil	Concentration with a PF> 1	Shabeer <i>et al.</i> , 2015
	Dimethomorph	Concentration with a PF> 1	
	Famoxadone	Concentration with a PF> 1	
	Hexythiazox, bifenazate	Concentration with a PF> 1	Thekkumpurath <i>et al.</i> , 2020
Drying in oven	Benalaxyl, procimydone and metalaxyl	Unchanged	Cabras <i>et al.</i> , 1998a
	Phosalone	Increased	
	Vinclozolin and dimethoate	Decreased	
	Chlorpyrifos	90%	Özbey <i>et al.</i> , 2017
	Diazinon	90%	
	Dimethoate	90%	
	Acetamiprid	Transfer to the dried grapes by 84%	Liu <i>et al.</i> , 2023
	Difenoconazole	Transfer to the dried grapes by 94%	
	Azoxystrobin	Transfer to the dried grapes by 105%	
	Pyraclostrobin	Transfer to the dried grapes by 63%	
Solar hot dryer	Lufenuron	a reduction by 39.9%	Nadeem <i>et al.</i> , 2019
	Bifenthrin	72%	
	Chlorpyrifos	74.1%	

8. Evaluation of the processing factor during winemaking and table grapes drying

The processing factor (PF) estimates the transfer of pesticide residues from raw agricultural commodities (RAC) to processed food products. The risk for the consumer health is linked to pesticide residue exposure and assessed using PF, regrading processed food products (Reddy *et al.*, 2022)

A database of processing techniques and factors of pesticides residues is supported by the EFSA (European Food Safety Authority) (Scholz *et al.*, 2018). The published mean processing factors ranged between 0.003 and 1.8 for the winemaking process and between 0.5 and 8 for the drying process (Zincke *et al.*, 2022). Similarly, several studies have used the processing factor as a tool to focus on pesticide residue removal throughout the winemaking and drying process as highlighted in the Table 3. These studies are essential to understand pesticide residue behavior during grape processing while highlighting the risk of dietary exposure (González-Rodríguez *et al.*, 2011b). The PF values may be influenced by the processed step. As illustrated in the table 3, drying methods enhance the concentration of some pesticides, while all the winemaking steps reduces the level of residues in wine. A slight difference is also observed among the red and white making steps with a higher removal effect during the red winemaking steps that could be explained by malolactic fermentation in the case Alister *et al.* (2014).

For instance, in the case of the winemaking process, the PF values of spiroxamine, tebuconazole, lufenuron, and tebufenozide were 0.26-0.55, 0.14, 0.43-0.45, and 0.45, respectively, thus indicating the decrease of these active ingredients during the process (Tsiropoulos *et al.*, 2005; González-Rodríguez *et al.*, 2009a, 2011a). Moreover, both cyazofamid and its metabolite CCIM showed a PF value < 1 (0.003-0.025 and 0.039-0.067, respectively) (Yang *et al.*, 2020). In the same context, the PF values of prochloraz and its metabolites (BTS44186, BTS44595, BTS40348 and BTS44596) ranged between 0.03 and 0.19, showing the decrease of those substances during all the winemaking steps (Tian *et al.*, 2022). The PF value of acephate was lower than 1 during the fermentation process, while the PF value of its metabolite methamidophos was higher than 1, due to acephate degradation by the yeast's activity (An *et al.*, 2018). Furthermore, the PF reported by Pazzirota *et al.* (2013) ranged from 0.0057 (for cyprodinil) to 0.67 (for dimethoate).

However, Shabeer *et al.* (2015) assessed the PF during grapes' drying in the shade. All the PF values were higher than 1 (1.03-1.14 for dimethomorph, 1.95-2.09 for famoxadone and 1.35-1.99 for cymoxanil, when applied at single or double doses, respectively). This finding highlights the concentration of the active substances mentioned during the drying process. The PF values of kresoxim methyl were 1.19 (after drying in shade) and 1.09 (after drying by a raisin dryer) (Sabale *et al.*, 2014). Furthermore, Nadeem *et al.* (2019) showed that non-systemic pesticides such as chlorpyrifos, bifenthrin, and difenoconazole had PFs below 1, while systemic pesticides such as acetamiprid (2.13 and 1.56) and cymoxanil (1.68 and 2.51) had PFs higher than 1, following both hot air and solar air dryers. Following

sun-drying, diazinon, chlorpyrifos, methidathion and dimethoate had PFs under 1 (from 0.08 to 0.6) (Özbeý *et al.*, 2017), showing the great effect of this drying method to decrease pesticide residues in raisins. However, oven drying induced PF values ranging between 2.5 and 4.2 for pyraclostrobin, azoxystrobin, difenoconazole and imidacloprid, respectively (Liu *et al.*, 2023).

Table 3. The processing factor values following the winemaking and drying process according to the literature

Active substance	Grape process	Processions factor	Reference
Acephate	Drying	-	-
	Winemaking	> 1	An <i>et al.</i> , 2018
Acétamiprides	Drying	1.99-3.4	Nadeem <i>et al.</i> , 2019; Liu <i>et al.</i> , 2023
	Winemaking	0.6-0.8	Liu <i>et al.</i> , 2023
Methoctramine	Drying	-	-
	Winemaking	0.03	Kittelman <i>et al.</i> , 2022
Amisulbrom	Drying	-	-
	Winemaking	0.13	Kittelman <i>et al.</i> , 2022
Azoxystrobin	Drying	3.3	Liu <i>et al.</i> , 2023
	Winemaking	0.2-0.4	Pezzirota <i>et al.</i> , 2013 ; Kittelman <i>et al.</i> , 2022; Liu <i>et al.</i> , 2023
Benzovindiflupyr	Drying	-	-
	Winemaking	0.08	Kittelman <i>et al.</i> , 2022
Bifenthrin	Drying	1.09-1.20	Nadeem <i>et al.</i> , 2019
	Winemaking	-	-
Boscalid	Drying	0.58	Liu <i>et al.</i> , 2023
	Winemaking	0.19	Liu <i>et al.</i> , 2023
Carbaryl	Drying	-	-
	Winemaking	0.28	Pazzirota <i>et al.</i> , 2013
Carbendazim	Drying	-	-
	Winemaking	0.38	Pazzirota <i>et al.</i> , 2013
CCIM	Drying	-	-
	Winemaking	0.039-0.067	Yang <i>et al.</i> , 2020
Chlorpyrifos	Drying	0.04-1.13	Ozbeý <i>et al.</i> , 2017; Nadeem <i>et al.</i> , 2019
	Winemaking	-	-
Cyazofamid	Drying	-	-
Cyazofamid	Winemaking	0.003-0.025	Yang <i>et al.</i> , 2020
Cymoxanil	Drying	1.99-2.51	Shabeer <i>et al.</i> , 2015; Nadeem <i>et al.</i> , 2019
	Winemaking	-	-
Cyprodinil	Drying	-	-
	Winemaking	0.0057	Pazzirota <i>et al.</i> , 2013
Diazinon	Winemaking	-	-
	Drying	0.08-1.09	Ozbeý <i>et al.</i> , 2017; Rahimi <i>et al.</i> , 2022
Difenoconazole	Drying	1.28-3.7	Nadeem <i>et al.</i> , 2019; Liu <i>et al.</i> , 2023

	Winemaking	> 0.1	Liu <i>et al.</i> , 2023
Dimethoate	Drying	0-0.60	Ozbey <i>et al.</i> , 2017
	Winemaking	0.67	Pazzirota <i>et al.</i> , 2013
Dimethomorph	Drying	1.03	Shabeer <i>et al.</i> , 2015
	Winemaking	0.2	Pazzirota <i>et al.</i> , 2013
Dinotefuran	Drying	3.3	Liu <i>et al.</i> , 2023
	Winemaking	0.8	Liu <i>et al.</i> , 2023
Ethion	Drying	1.30-2.79	Rahimi <i>et al.</i> , 2022
	Winemaking	-	-
Famoxadone	Drying	1.95	Shabeer <i>et al.</i> , 2015
	Winemaking	-	-
Fenpyrazamine	Drying	-	-
	Winemaking	0.4	Kittelmann <i>et al.</i> , 2022
Flufenoxuron	Drying	-	-
	Winemaking	0.48-0.52	Likas and Tsiropoulos., 2011
Fluopicolide	Drying	0.56	Hou <i>et al.</i> , 2020
	Winemaking	0.19-0.31	Hou <i>et al.</i> , 2020; Kittelmann <i>et al.</i> , 2022
Fluopyram	Drying	-	-
	Winemaking	0.18	Kittelmann <i>et al.</i> , 2022
Fluxapyroxad	Drying	4.1	Liu <i>et al.</i> , 2023
	Winemaking	0.2-0.3	Kittelmann <i>et al.</i> , 2022 ; Liu <i>et al.</i> , 2023
Hexoconazole	Drying	0.62-2.05	Rahimi <i>et al.</i> , 2022
	Winemaking	-	-
Imazalil	Drying	-	-
	Winemaking	0.055	Pazzirota <i>et al.</i> , 2013
Imidacloprid	Drying	4.2	Liu <i>et al.</i> , 2023
	Winemaking	0.4-1	Pazzirota <i>et al.</i> , 2013; Kittelmann <i>et al.</i> , 2022; Liu <i>et al.</i> , 2023
Iprodione	Drying	-	-
	Winemaking	0.37	Kittelmann <i>et al.</i> , 2022
Iprovalicarb	Drying	-	-
	Winemaking	0.55	Kittelmann <i>et al.</i> , 2022
Kresoxim methyl	Drying	1.09-1.24	Sabale <i>et al.</i> , 2014)
	Winemaking	0.055	Pazzirota <i>et al.</i> , 2013
Lufenuron	Drying	2.38-2.63	Nadeem <i>et al.</i> , 2019
	Winemaking	< 0.08	Likas and Tsiropoulos., 2011
Mandipropamid	Drying	0.55-1.57	Nadeem <i>et al.</i> , 2019; Hou <i>et al.</i> , 2020
	Winemaking	0.19-0.32	Hou <i>et al.</i> , 2020; Kittelmann <i>et al.</i> , 2022
Mepanipyrim	Drying	-	-
	Winemaking	0.02	Kittelmann <i>et al.</i> , 2022
Metalaxy1-M	Drying	0.97	Hou <i>et al.</i> , 2020
	Winemaking	0.048	Hou <i>et al.</i> , 2020
Methamidophos	Drying	-	-
	Winemaking	< 1	An <i>et al.</i> , 2018

Penconazole	Drying	0.74-1.38	Rahimi <i>et al.</i> , 2022
	Winemaking	0.06-0.13	Pazzirota <i>et al.</i> , 2013; Kittelmann <i>et al.</i> , 2022
Phosalone	Drying	1.21-2.79	Rahimi <i>et al.</i> , 2022
	Winemaking	-	-
Picoxystrobin	Drying	0.35	Hou <i>et al.</i> , 2020
	Winemaking	0.079	Hou <i>et al.</i> , 2020
Procymidone	Drying	-	-
	Winemaking	0.053	Pazzirota <i>et al.</i> , 2013
Pydiflumetofen	Drying	4.1	Liu <i>et al.</i> , 2023
	Winemaking	0.3	Liu <i>et al.</i> , 2023
Pyraclostrobin	Drying	0.41-2.5	Hou <i>et al.</i> , 2020; Liu <i>et al.</i> , 2023
	Winemaking	> 0.1-0.013	Hou <i>et al.</i> , 2020; Liu <i>et al.</i> , 2023
Spiroxamine	Drying	-	-
	Winemaking	0.26-0.96	Tsiropoulos <i>et al.</i> , 2005; Kittelmann <i>et al.</i> , 2022
Tebuconazole	Drying	2.4	Liu <i>et al.</i> , 2023
	Winemaking	0.2	Liu <i>et al.</i> , 2023
Tebufenozide	Drying	-	-
	Winemaking	0.31-0.45	Likas and Tsiropoulos., 2011; Kittelmann <i>et al.</i> , 2022
Tebufenpyrad	Drying	-	-
	Winemaking	0.03	Kittelmann <i>et al.</i> , 2022
Thiophanate-methyl	Drying	-	-
	Winemaking	0.75	Kittelmann <i>et al.</i> , 2022
Triadimenol	Drying	3.6	Liu <i>et al.</i> , 2023
	Winemaking	0.7	Liu <i>et al.</i> , 2023
Valifenalate	Drying	-	-
	Winemaking	0.82	Kittelmann <i>et al.</i> , 2022

This factor is also dependent on the pesticide's physicochemical properties, mainly the log K_{ow} . For instance, Pazzirota *et al.* (2013) showed a linear correlation between PF and log K_{ow} values for all target pesticides except dimethoate, due to its high-water solubility. In the same context, Schusterova *et al.* (2021) showed that the processing factor was about 0.008 (for the less polar pesticides, as they can be retained in lees and thus eliminated during the different steps) to 1.6 for the polar pesticides. Therefore, the physicochemical properties of pesticides should be incorporated into a predictive model of processing factors which could help for better understanding the behavior of pesticides during food processing (Kittelmann *et al.*, 2022).

9. Conclusion

This review presented the main phytosanitary problems that cause significant damage in vineyards worldwide, along with the methods employed to manage them. Pesticides are commonly applied to face these challenges. Considering their potential impact on human health and the environment, the use of pesticide indicators allows the evaluation of pesticide usage intensity, productivity, and associated risks in agricultural contexts.

At the end of this review, we can conclude that the quality of the initial product is very important to guarantee the quality of the final product whatever steps of winemaking or drying process. To reduce the risk of exceeding maximum residue limits (MRLs) in grapes and their by-products, adherence to Good agricultural practices plays a key role. Indeed, compliance with pre-harvest intervals (PHIs) and recommended doses as indicated by the manufacturer is important in preventing non-compliance of pesticide residues in wine and raisins. Studies have shown that adherence to GAPs, the implementation of the IPM program or the organic farming can reduce the presence of pesticide residues in grapes and their by-products.

Besides, the winemaking process contributes to pesticide residue dissipation in the final product. However, the effectiveness of this process is linked to the pesticides' physicochemical properties. Some pesticides were more persistent and were quantified in the final product, such as imidacloprid, fenhexamid, boscalid, iprodione, etc. Among the reported vinification steps, pressing, clarification and fermentation showed the greatest influence on pesticide 'dissipation depending on the type of the pesticide and its physicochemical proprieties. Polar pesticides were easily reduced during the washing step while the apolar pesticides were retained in the solid fraction, thus facilitating their removal either during the pressuring, fermentation, or clarification. Clarifying agents contributed significantly to reducing pesticide residues, depending on their concentrations and the pesticides' physicochemical properties. Alcoholic fermentation enhances the degradation of pesticides, either by the yeast's activity or due to the acidic environment (in the case of captan and folpet), which induces the appearance of their by-products. Regarding the pesticide proprieties, the drying process may induce the concentration of these chemicals due to the loss of moisture content. Thus, these findings should be considered while choosing the PHI and the applied doses of those products to limit the risk of exposure.

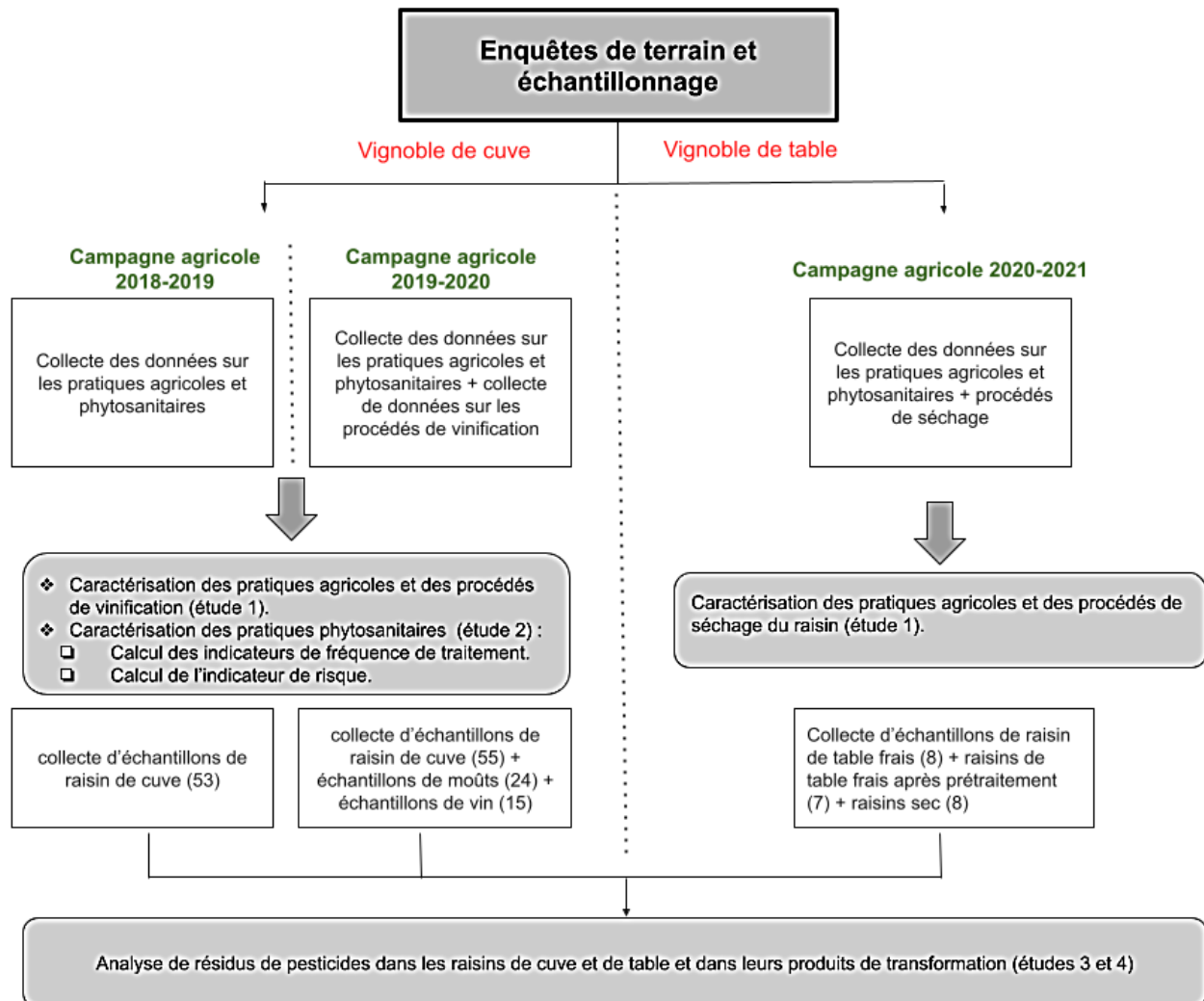
Supplemental Data

Table S1. Physicochemical proprieties ($\log K_{ow}$ and water solubility) of the active substances mentioned in the literature review.

Class	Chemical family	Active substance	$\log K_{ow}$	Water solubility (mg/L)
Fungicides				
	Acylalanine	Metalaxyl-M	1.71	26000
		Metalaxyl	1.75	8400
		Benalaxyl-M	3.68	33
	Anilino-pyrimidine	Pyrimethanil	2.89	110
		Cyprodinil	4	16
		Mepanipyrim	3.28	2.08
	Benzimidazole	Carbendazim	1.48	8
		Thiabendazol	2.39	30
	Benzophenone	Metrafenone	4.3	0.5
	Carboxamide	Boscalid	2.96	4.6
	Chloronitrile	Chlorothalonil	2.94	0.81
	Cinnamic acid amide	Dimethomorph	2.7	28.95
	Cyanoacetamid-oxime	Cymoxanil	0.67	780
	Cyano-imidazole	CCIM	3	1.2
		Cyazofamid	3.2	0.107
	Dicarboxymide	Chlozolate	3.3	32
		Procymidone	3.14	4.5
		Vinclozolin	3.02	3.4
	Hydroxyanilide	Fenhexamid	3.51	24
	Imidazole	Imazalil	2.56	184
	Imidazolinone	Fenamidon	2.8	7.8
	Mandelic acid amid	Mandipropamid	3.2	4.2
	Methoxy-acrylate	Azoxystrobin	2.5	6
	Methoxy-carbamate	Pyraclostrobin	3.99	1.9
	Oxazolidine-dione	Famoxadone	4.65	0.059
	Oximino-acetate	Kresoxim methyl	3.4	2
		Trifloxystrobin	4.5	0.61
	Phenylpyrrole	Fludioxonil	4.12	1.8
	Phosphoro-thiolate	Pyrazophos	3.8	4.2
	Pyrimidine	Nuarimol	3.18	26
	Quinazolinone	Proquinazid	5.5	0.93
	Spiroketal-amine	Spiroxamine	2.89	405
	Sulfamid	Dichlofluanid	3.7	1.3
	Triazole	Tetraconazole	3.56	156.6
		Penconazole	3.72	73
		Tebuconazole	3.7	36

	Valinamide carbamate	Valifenalate	3.11	24.1
		Iprovalicarb	3.2	17.8
Insecticides				
	Benzoylurea	Lufenuron	5.12	0.046
	Carbamate	Carbaryl	2.36	9.1
	Diacylhydrazine	Tebufenozide	4.25	0.83
	Buprofezin	Buprofezin	4.5	0.64
	Neonicotinoid	Acetamiprid	0.8	4250
		Imidacloprid	0.57	610
	Organochlorine	Lindane	3.5	8.52
		α -endosulfan	4.74	0.32
		Tetrafidon	4.17	0.078
	Organophosphate	Acephate	-0.85	790000
		Methamidophos	-0.79	200000
		Methidathion	2.57	240
		Dimethoate	0.7	23.8
		Chlorpyrifos	4.96	1.4
	Oxadiazine	Indoxacarb	4.65	0.2
	Pyrethroid	Lambda-cyhalothrin	5.5	0.005
		Deltamethrin	4.6	0.0002
Herbicide				
	Aryloxyphenoxypropionate	Diclofop	1.62	122700

Section expérimentale



Stratégie expérimentale adoptée dans la présente étude

Section expérimentale

Etude 1 : Caractérisation des pratiques agricoles dans les vignobles et des procédés de transformation dans le contexte tunisien

.

Préambule

L'objectif de cette première étude est de caractériser les pratiques agricoles et phytosanitaires ainsi que les procédés de transformation adoptés par les vinificateurs tunisiens, au moyen des enquêtes de terrain. Pour cela, la caractérisation des pratiques agricoles et phytosanitaires des vignobles de cuve dans les régions de Grombalia et Bou Argoub, ainsi que de table dans la région de Rafrat, a été réalisée dans une première partie. Dans une deuxième partie, les procédés de vinification et de séchage connus, tels que rapportés par les œnologues des caves visitées et par les viticulteurs de raisin de table, ont été décrits.

1. Introduction

La Tunisie bénéficie d'un climat favorable, d'un ensoleillement généreux et de terres fertiles, ce qui en fait un lieu propice à la culture de la vigne (GIFruits, 2018a). La superficie consacrée à la culture de raisins de table en Tunisie est d'environ 11.550 hectares (GIFruits, 2021a). La production nationale de raisins de table a connu quelques variations au fil des années, principalement en raison de facteurs abiotiques et biotiques notamment les maladies de la vigne. La Tunisie compte une diversité de cépages de raisins de table parmi lesquelles nous retrouvons des cépages autochtones telles que le Beldi et le Tounsi, ainsi que des cépages internationaux tels que le Red Globe et le Muscat d'Italie (GIFruits, 2021a).

D'autre part, la superficie des vignobles de cuve en Tunisie s'étend sur 9.296 ha, dont 75 % se trouvent dans le gouvernorat de Nabeul, suivi par le gouvernorat de Sousse avec 612 ha et le gouvernorat de Manouba avec une superficie estimée à 485 ha. Divers cépages de raisins de cuve sont produits, tels que le Carignan (47 %), le Syrah (8 %), le Marselan, le Merlot, le Grenache noir, le Pinot (cépage noir) et le Chardonnay (7 %), le Grenache Blanc, le Razzegui Tounsi, le Sauvignon Blanc, etc. (GIFruit, 2019 Communication personnelle). Parmi les procédés de transformation, la vinification est une pratique ancienne en Tunisie, qui remonte à l'époque des Phéniciens et ayant connu son apogée pendant le protectorat, avec une technicité avancée, une superficie cultivée importante et une production pouvant atteindre un million d'hectolitres (GIFruits, 2018a; Znaien, 2015). Les territoires de qualité et les conditions climatiques favorables ont contribué à la production de vins de qualité très recherchée. Depuis 1942, la Tunisie compte sept zones d'appellation d'origine contrôlée (AOC), telles que l'AOC "Morneg", l'AOC "Grand Cru de Morneg", l'AOC "Sidi Salem", l'AOC "Kélibia", l'AOC "Thibar" et l'AOC "côteaux d'Utique" selon la loi n°99-57 (JORT, 1999). La Tunisie bénéficie également d'investissements étrangers grâce à des partenariats avec des sociétés internationales visant à moderniser le secteur viticole national. Nous recensons ainsi huit sociétés, dont trois tuniso-françaises, deux tuniso-allemandes, deux tuniso-italiennes et une société tuniso-autrichienne (GIFruits, 2018a).

D'un autre côté, les raisins de table frais sont riches en eau et en sucre d'où leur sensibilité vis-à-vis d'une large gamme de bioagresseurs (champignons et insectes) (Khiari *et al.*, 2019). Cela induit, conséquemment, une perte au niveau de la production et une limitation de la durée de vie du produit. Dans cette optique, le procédé de séchage est l'un des moyens les plus employés pour la conservation des produits agricoles dont le raisin. Il s'agit d'un processus physiologique assurant la réduction de l'activité de l'eau jusqu'à une teneur préservant les caractéristiques organoleptiques et nutritionnelles de ce fruit (Wang *et al.*, 2016). C'est une opération de transfert de chaleur qui requiert un apport d'énergie qui provient dans la majorité des cas des rayons solaires. Elle assure également la

commercialisation des raisins pendant toute l'année et facilite leur stockage en quantité importante suite à la réduction du poids par perte d'eau (Nguyen, 2015).

En Tunisie, nous n'avons pas recensé de travaux antérieurs ayant mis en évidence la relation entre les pratiques agricoles et les procédés de transformation soit du raisin de cuve ou de table, à l'exception d'une étude menée par Bouagga et al. (2019) qui a dressé les pratiques agricoles adoptées par les viticulteurs tunisiens dans les vignobles à cépage de table.

En effet, les pratiques agricoles et phytosanitaires, telles que la gestion de la parcelle en termes d'irrigation, de taille et de traitements phytosanitaires adoptés, ainsi que les facteurs environnementaux, tels que les conditions climatiques et le type de sol, agissent significativement sur la qualité du raisin frais et en conséquence le produit transformé fini (Reynolds, 2010).

Cette étude vise à mettre en lumière les pratiques agricoles et les processus de transformation adoptés dans les vignobles de cuve et de table. Dans un premier temps, les pratiques agricoles, telles que la gestion de la parcelle (irrigation et taille) et les traitements phytosanitaires adoptés dans les régions de Grombalia et Bou Argoub (vigne de cuve) et la région de Rafrat (vigne de table), seront caractérisées. Dans un deuxième temps, les processus de transformation des raisins, notamment la vinification et le séchage, seront caractérisés afin de mieux comprendre leurs influences sur la présence de résidus de pesticides dans les produits frais et transformés (voir études 3 et 4).

2. Matériels et méthodes

2.1. Enquête de terrain dans les vignobles de cuve

Une prospection a été menée principalement dans les régions de Grombalia et Bou Argoub, situées au nord-est du pays et réputées comme étant les deux zones majeures de production de raisin de cuve en Tunisie (Figure 1). Ces régions sont localisées au nord-est du pays. L'objectif de cette prospection était de déterminer la typologie des vignobles tunisiens selon les pratiques agricoles, phytosanitaires et œnologiques dans le contexte tunisien.

Afin de caractériser les pratiques agricoles et phytosanitaires dans les vignobles de raisin de cuve, une enquête de terrain (Annexe 1) a été menée au cours des campagnes viticoles 2018-19 et 2019-20 auprès de 41 et 43 viticulteurs, respectivement, sélectionnés de manière aléatoire. Cette enquête s'est déroulée pendant la période des vendanges en Tunisie (c'est-à-dire les mois d'août et septembre). Quatre-vingt-quatorze pourcents des viticulteurs interrogés collaborent avec trois caves (dont deux caves étatiques qui étaient des coopératives (caves 1 et 2) et une cave privée (cave 5)). Les 6 % restants correspondent à deux caves privées (caves 3 et 4), qui possèdent leurs propres parcelles de raisin de cuve. Ces 5 caves étaient également incluses dans l'enquête afin de caractériser les procédés de vinification (Annexe 2).

La collecte d'informations a été réalisée moyennant un entretien avec les viticulteurs. Le questionnaire utilisé dans ce cadre se compose de deux volets. Une première partie est dédiée aux aspects liés à la culture notamment les cépages cultivés, la superficie, la production, la densité de plantation, la conduite de la culture, le mode et la source d'irrigation. Un deuxième volet de l'enquête comprend les pratiques phytosanitaires adoptées notamment les préparations commerciales utilisées, les doses d'application et le délai avant récolte. Une enquête (présentée dans l'annexe 1) a été menée également auprès des œnologues associés à chacune des 5 caves visitées, afin de déterminer les procédés de vinification adoptés.

Les données obtenues ont ensuite été organisées dans un fichier Excel, avec des codes spécifiques attribués à chaque viticulteur et à chaque cave pour faciliter l'analyse statistique.

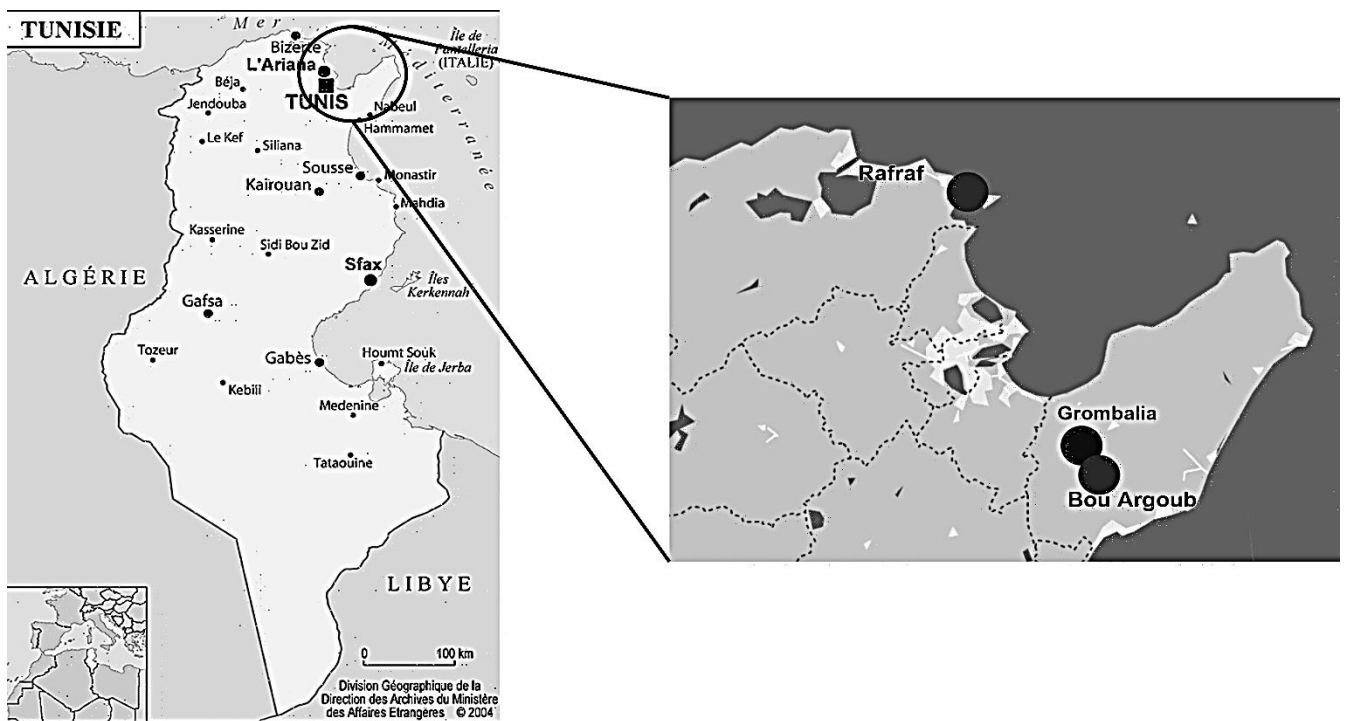


Figure 1. Carte de Tunisie et localisation géographique des zones d'enquêtes : Grombalia et Bou Argoub (raisin de cuve) et Rafrat (raisin de table)

2.2. Enquête de terrain dans les vignobles de table

La détermination des pratiques phytosanitaires adoptées dans les vignobles dont la production est destinée au séchage des raisins de table revêt une importance primordiale pour comprendre les facteurs associés à la contamination éventuelle des raisins frais et de leurs sous-produits par les pesticides. Dans cette optique, une enquête de terrain a été menée en collaboration avec la Cellule Territoriale de Vulgarisation de Ras Jebel, située dans le gouvernorat de Bizerte à proximité de la région de Rafrat,

réputée pour sa production du cépage « Muscat d’Alexandrie » destiné principalement à la production de raisin sec (Figure 1).

L'enquête (présentée dans l’Annexe 3) a principalement ciblé les viticulteurs qui produisent eux-mêmes les raisins secs, dans le but de déterminer les pratiques phytosanitaires adoptées et les différentes étapes de transformation, notamment le prétraitement et le séchage. Au total, sept viticulteurs, sélectionnés aléatoirement, ont été interrogés durant la campagne agricole 2020-21.

La première partie de l'enquête a porté sur les pratiques phytosanitaires utilisées pour remédier aux problèmes phytosanitaires rencontrés, en accordant une attention particulière aux types de produits phytosanitaires utilisés, à la période, la dose et la fréquence d'application des produits. La deuxième partie du questionnaire a été dédiée aux procédés de séchage adoptés par les viticulteurs de la région, avec une enquête complémentaire menée auprès d'une industrie spécialisée dans le séchage du raisin. Au total, l'enquête sur les pratiques phytosanitaires a été réalisée auprès de 7 opérateurs, les 7 viticulteurs de la région de Rafraf, tandis que l'étude sur les procédés de séchage a inclus 8 opérateurs, comprenant les 7 viticulteurs ainsi que l'industrie spécialisée.

2.3. Analyse statistique

Une analyse statistique utilisant le logiciel SPSS (IBM SPSS Statistics version 22, 2021) a été effectuée pour déterminer la relation entre les pratiques culturales (telles que la conduite de la parcelle, le système d'irrigation, la diversité culturale et la densité de plantation) et les pratiques phytosanitaires (en l'occurrence, la fréquence de traitement par an). À cette fin, le test du chi-deux (χ^2) a été réalisé à un degré de significativité de 0,05 %. Le degré d'association entre les deux paramètres a été par la suite vérifié moyennant le test V de Cramer pour les pratiques phytosanitaires et culturales ayant une relation de dépendance significative ($p < 0,05$).

3. Résultats et discussion

3.1. Caractérisation des pratiques agricoles et phytosanitaires dans les vignobles à cépage de cuve

3.1.1. Les pratiques agricoles dans les vignobles de cuve

L'enquête a été menée auprès de 84 viticulteurs durant les campagnes agricoles 2018-19 et 2019-20, situés dans les délégations de Bou Argoub et Grombalia, dans le gouvernorat de Nabeul, au nord-est de la Tunisie. Certains viticulteurs possédant plus d'une parcelle, 108 parcelles au total ont fait l'objet de la présente enquête.

Dans 43,5 % des cas, les viticulteurs enquêtés possèdent de petites parcelles, d'une superficie variant entre 1 et 5 hectares par viticulteur. En revanche, près de 34 % des viticulteurs possèdent des parcelles de grande taille dépassant 10 hectares (Figure 2).

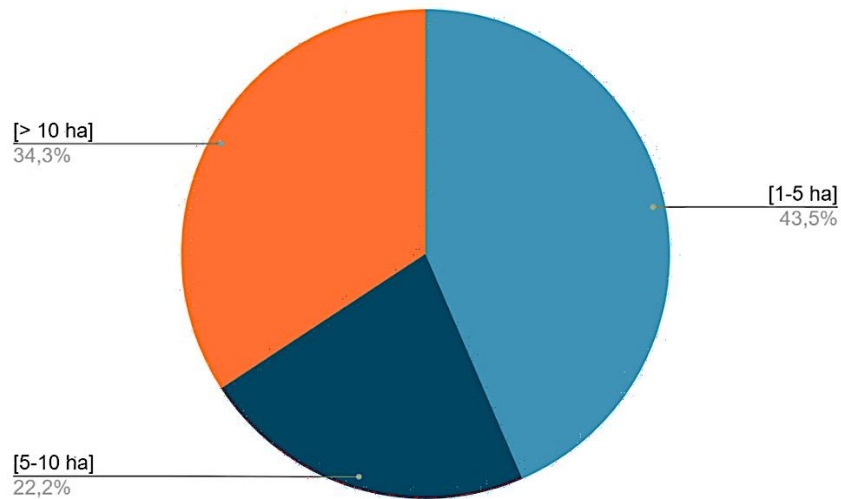


Figure 2. Répartition des parcelles selon la superficie (n=108)

Environ 49 % des viticulteurs interrogés cultivent des parcelles avec un seul cépage, principalement du Carignan ou du Syrah pour 83 % d'entre eux. En revanche, 51 % des viticulteurs possèdent au moins deux parcelles présentant une diversité significative de cépages, allant jusqu'à 5 cépages pour ceux ayant leur propre domaine viticole. Au total, 19 cépages différents ont été identifiés, avec 83 % des 108 parcelles étudiées cultivant des cépages noirs, parmi lesquels le syrah (35 %) et le carignan (24 %) comme étant les plus prédominants au cours des deux campagnes agricoles (Figure 3A). Les cépages blancs tels que le chardonnay, la clairette, le muscat, le cabernet sauvignon et le cépage autochtone rezzegui représentent seulement 17 % des cépages cultivés dans les parcelles étudiées, les trois cépages blancs les plus fréquents étant le rezzegui, le muscat et le pedro (Figure 3B).

Ces résultats mettent en évidence une prédominance des cépages noirs, en particulier le Syrah et le Carignan dans les vignobles étudiés dans le contexte de cette étude. Cette tendance est cohérente avec les travaux menés à l'échelle internationale, où le Syrah est largement cultivé dans de nombreuses régions viticoles notamment l'Australie, l'Argentine, l'Afrique du Sud, les Etats-Unis et le Chili (OIV, 2017). En Tunisie, le cépage Syrah représente 8 % des superficies de raisins de cuve cultivés alors que le Carignan détient la première position avec une part de 43 % des cépages de raisins de cuve cultivés (communication personnelle obtenue auprès du Groupement Professionnel des Fruits, 2019).

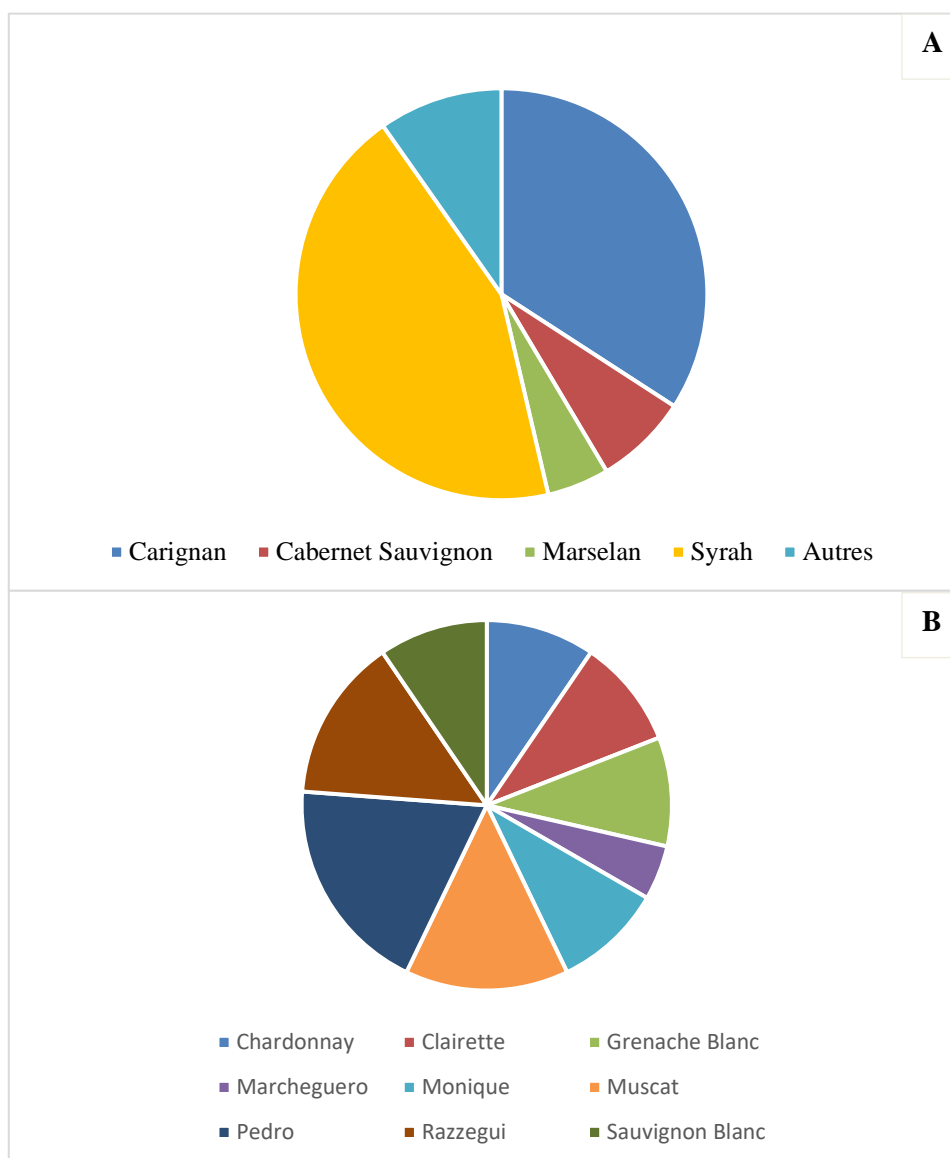


Figure 3. Répartition des cépages recensés en cépages noirs (A) et en cépages blancs (B), durant les enquêtes de terrain réalisées durant les campagnes agricoles 2018-19 et 2019-20

Les caractéristiques générales des parcelles montrent que dans 58 % des cas, la texture du sol dominante est la texture argilo-limoneuse (Données supplémentaires : Tableau S1).

La densité de plantation observée tout au long de l'enquête varie entre 200 et 2000 pieds/ha dans 7 % des cas et entre 2000 et 4000 pieds/ha dans 93 % des cas (Données supplémentaires : Tableau S1). Dans le cadre des pratiques viticoles courantes, les viticulteurs enquêtés effectuent le travail du sol immédiatement après la vendange, accompagné d'opérations de chausage et de déchausage en automne, souvent associées à des techniques de désherbage mécanique.

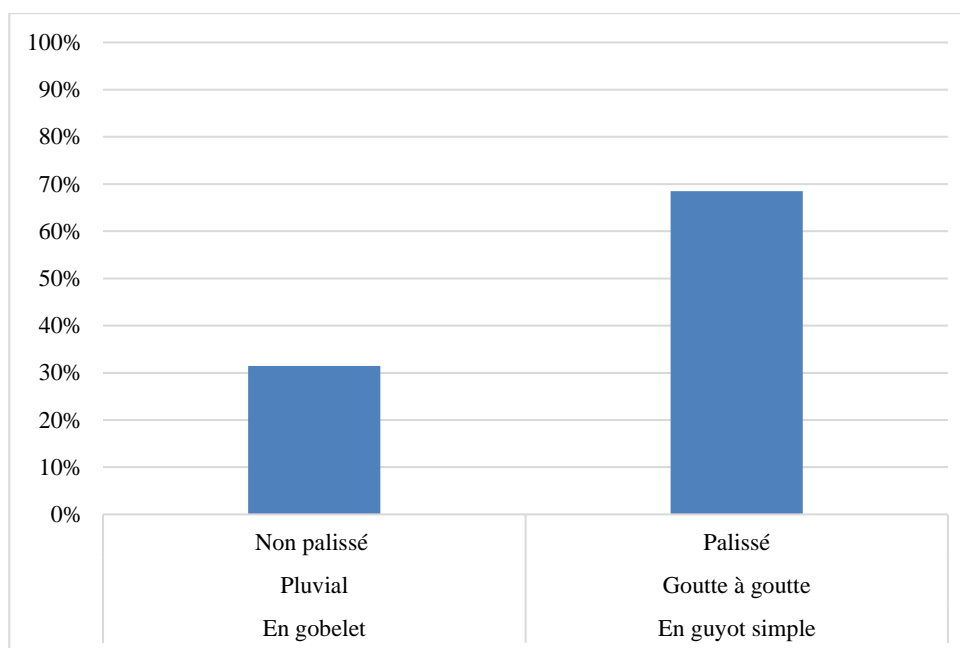


Figure 4. La conduite agricole, le système de taille et le mode d'irrigation adoptés dans les parcelles de vigne de cuve enquêtées

La figure 4 montre la répartition des viticulteurs enquêtés durant les campagnes agricoles 2018-19 et 2019-20 selon la conduite agricole, le système de taille et le mode d'irrigation. Soixante-neuf pourcent des viticulteurs adoptent une taille en guyot simple (figure 5A) avec un système de palissage sur fil de fer. En outre, ces derniers pratiquent l'irrigation goutte à goutte, principalement alimentée par l'oued Medjerda et d'autres sondages locaux. Les 31 % des parcelles restantes sont conduites sous irrigation pluviale et en mode gobelet (figure 5B) sans avoir recours à un palissage. Des études antérieures ont montré que le choix du système de taille (en Guyot ou en Cordon) ainsi que les pratiques telles que l'effeuillage et la taille en vert peuvent affecter la qualité du vin en termes de teneur en sucre (augmentation) et en acide tartrique (réduction) (Khrapov *et al.*, 2021).



Figure 5. Système de taille en guyot simple (A) et en gobelet (B)

Il est donc important d'étudier ces facteurs, en particulier dans les vignobles tunisiens où ils n'ont pas été étudiés auparavant. Des études ont également montré l'importance du choix du système de taille pour atteindre un même rendement en une période plus courte (Murisier and Zufferey, 2005).

3.1.2. Problèmes phytosanitaires et méthode de gestion dans les vignobles à cépage de cuve

Durant les deux campagnes agricoles, les problèmes phytosanitaires identifiés sont principalement liés aux maladies fongiques telles que le mildiou, l'oïdium et la pourriture grise. Les ravageurs signalés comprennent la cicadelle *Empoasca vitis*, la cochenille farineuse *Planococcus ficus* et *P. citri*, ainsi que la tordeuse de la grappe *Lobesia botrana*.

Face à ces bioagresseurs, la lutte chimique est la seule méthode de contrôle utilisée par les viticulteurs enquêtés.

Au cours des deux campagnes agricoles, nous avons observé que 100 % et 93 % des viticulteurs enquêtés (campagnes agricoles 2018-19 et 2019-20 respectivement) ont suivi un programme de traitement établi par un conseiller agricole associé aux caves avec lesquelles ils sont en collaboration (dans le cas des deux coopératives et d'une cave privée). Dans le cas des caves privées 3 et 4, ce sont des ingénieurs agronomes qui se chargent du programme de traitement des différentes parcelles. Il convient de noter qu'une grande similarité a été observée en ce qui concerne le choix des produits et la période d'application, conformément aux recommandations des conseillers agricoles associés à chaque cave.

En effet, un traitement hivernal a été réalisé par tous les viticulteurs enquêtés au mois de février, utilisant des produits tels que l'huile minérale, le cuivre ou la bouillie bordelaise. Le contrôle des maladies fongiques débute au stade de trois feuilles, au mois de mars, par l'application d'un traitement préventif de contact contenant du mancozèbe (dithiocarbamate) associé au soufre mouillable (substance inorganique) pour lutter respectivement contre le mildiou et l'oïdium. Les fongicides les plus couramment utilisés pour lutter contre l'oïdium dans les vignobles appartiennent à la famille des triazoles, tels que le triadiménol, le difénoconazole et le myclobutanil. Ces produits ont été largement documentés dans la littérature scientifique en tant que moyens efficaces de contrôle de l'oïdium de la vigne (Gadoury *et al.*, 2012; Essling *et al.*, 2021). Le soufre est également fréquemment utilisé pour lutter contre l'oïdium en raison de son efficacité, de son coût relativement faible et de sa perception en tant que substance naturelle (Gadoury *et al.*, 2012). Pour la lutte contre le mildiou de la vigne, les viticulteurs utilisent souvent des fongicides appartenant aux familles chimiques des dithiocarbamates (mancozèbe et propinèbe), des phtalimides (folpet) et des carbamates (iprovalicarbe). Ces substances actives ont également été largement étudiées et rapportées dans la littérature scientifique internationale

en tant que moyens efficaces de lutte contre le mildiou (Gisi and Sierotzki, 2008; Gessler *et al.*, 2011; Rusjan, 2012).

Le traitement phytosanitaire contre ces maladies est planifié en fonction de l'état phytosanitaire des vignes et des conditions climatiques. Par exemple, des traitements curatifs supplémentaires à base de soufre mouillable et de mancozèbe ont été appliqués pour lutter contre l'oïdium et le mildiou en considérant les événements pluvieux survenus durant le mois de mars et d'avril 2020 (avec une humidité mensuelle de l'ordre 80 %) de la deuxième campagne agricole (Figure 6). En effet, une pluviométrie supérieure à 10 mm et une humidité de l'ordre de 85 % (dans le cas de l'oïdium) ou une forte pluviométrie (cas du mildiou) peut favoriser le développement de ces maladies (Kennelly *et al.*, 2007; Gadoury *et al.*, 2012).

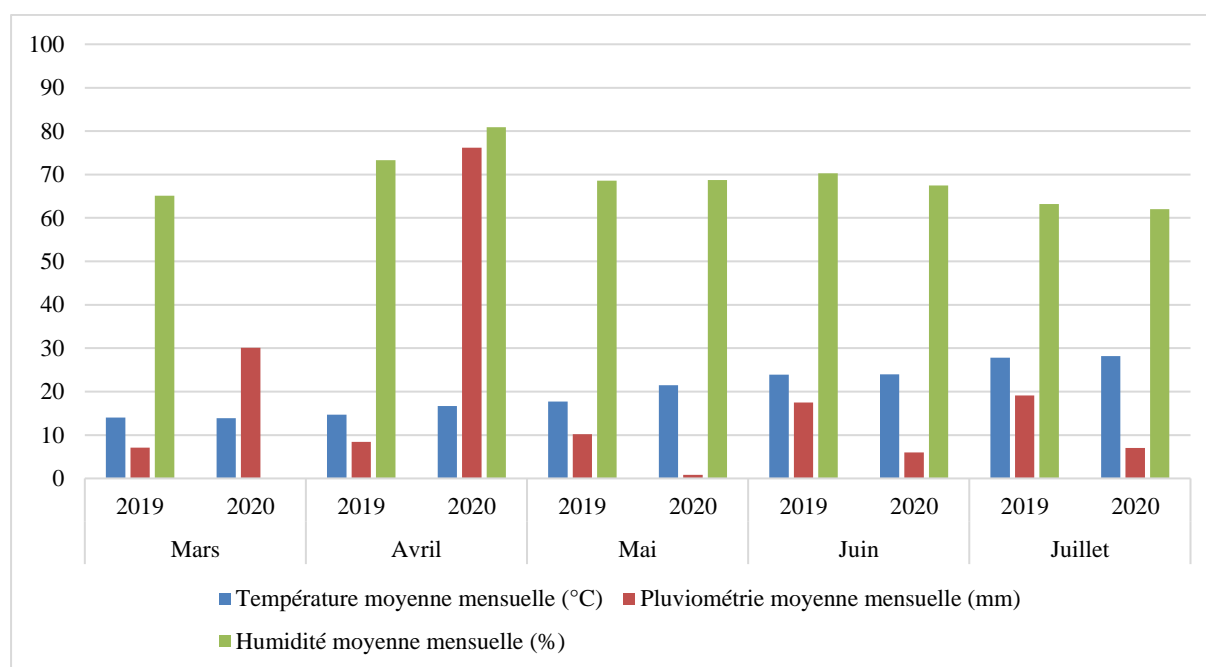


Figure 6. Données climatiques de la station de Nabeul (AgriDATA, 2022) durant les campagnes agricoles 2018-19 et 2019-20

Le contrôle de la pourriture grise est effectué vers le mois de juin, au stade de fermeture de la grappe, en utilisant un traitement curatif à base du fenhexamide (durant la première campagne) et deux traitements à base du fenhexamide et du thiophanate-méthyl (durant la deuxième campagne). Des insecticides tels que l'imidaclopride (néonicotinoïde) et le chlorpyrifos-éthyl (organophosphoré) sont appliqués à partir du stade de floraison période propice à l'attaque des insectes tel que le ver de la grappe (*Lobesia botrana*) (Altimira *et al.*, 2021). Le dernier traitement, réalisé par la majorité des viticulteurs, est à base de soufre mouillable et est effectué entre 21 et 30 jours avant la récolte, bien que certains viticulteurs effectuent ce traitement entre 3 et 10 jours avant la récolte.

Au total, entre 3 et 15 applications par an ont été effectuées durant les deux campagnes agricoles. Environ 79 % des traitements appliqués sont des fongicides avec des moyennes de 3 à 3,5 et 3,4 à 4,5 des traitements dédiés à la lutte contre le mildiou et l'oïdium, respectivement (Figure 7). La figure 7 montre également que la moyenne de traitement insecticide est très faible de l'ordre de 1,4 à 1,5 traitements/an, durant les deux campagnes agricoles respectivement. Ce résultat illustre l'incidence du mildiou et de l'oïdium sur le recours fréquent à l'usage des pesticides par rapport aux autres problèmes phytosanitaires tels que la pourriture grise (1 à 2 traitements/an appliqués par 63 et 70 % des viticulteurs) et les ravageurs (1 à deux traitements par an appliqués par 83 et 72 % des viticulteurs, respectivement).

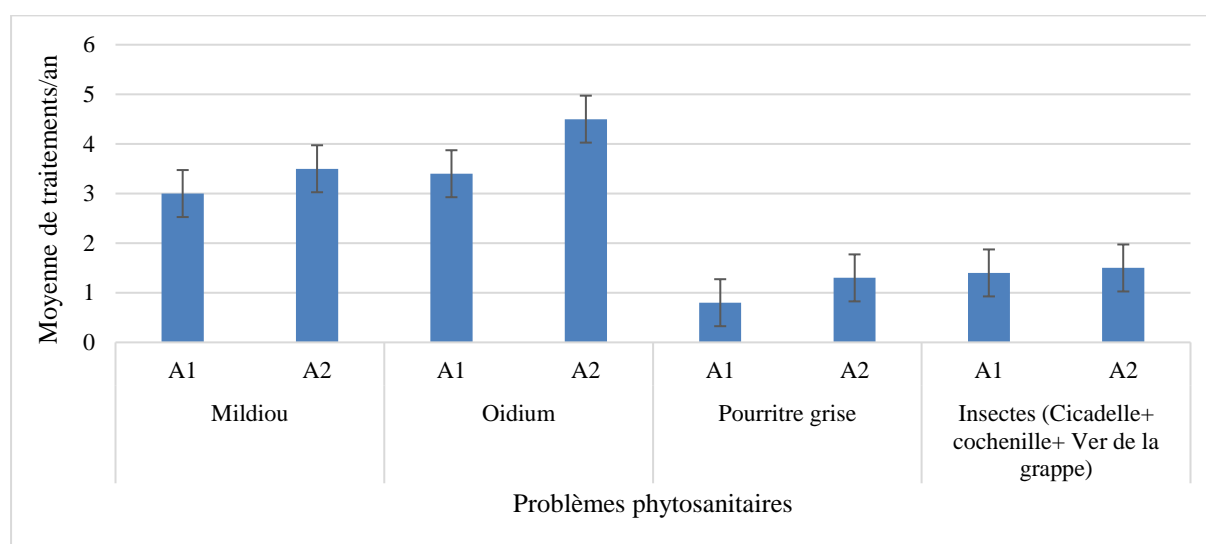


Figure 7. Moyenne des traitements appliqués par an dans les 108 parcelles enquêtées en fonction des problèmes phytosanitaires mentionnés durant l'enquête de terrain (A1 : campagne 2018-19 et A2 : campagne 2019-20)

Ces résultats ne sont pas surprenants compte tenu des nombreuses études menées à travers le monde qui ont démontré l'ampleur significative de l'utilisation des traitements fongicides dans les vignobles. En France, les traitements fongicides peuvent atteindre jusqu'à 30 applications par an en cas d'infestation sévère (Pertot *et al.*, 2017). C'est également le cas en Italie où 87,5 % des traitements appliqués sont des fongicides (Istituto Nazionale Di Statistica, 2011).

La pression de l'oïdium et du mildiou est également observable sur la base du nombre de substances actives appliquées pour la gestion des deux maladies d'une façon préventive et curative (lors de l'apparition des symptômes), avec 14 et 12 substances actives différentes (parmi les 33 mentionnées par les viticulteurs durant l'enquête, voir étude 2) (Figure 8).

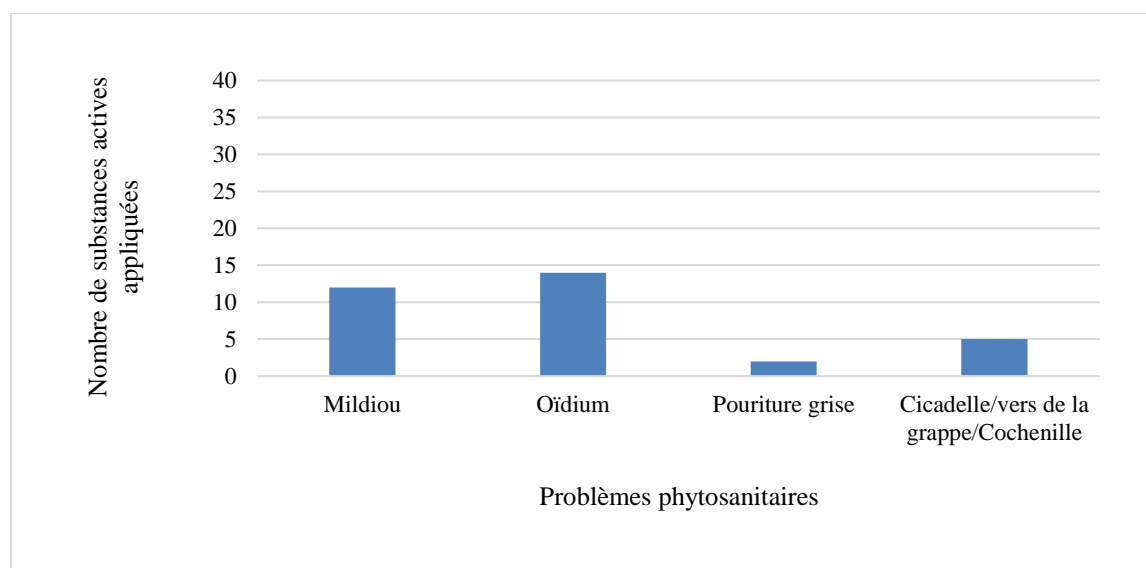


Figure 8. Nombre de substances actives mentionnées par les 84 viticulteurs de vigne de cuve durant l'enquête (campagnes 2018-2019 et 2019-2020) en fonction des problèmes phytosanitaires

3.2. Description des pratiques agricoles et phytosanitaires dans les vignobles à cépage de table

3.2.1. Les pratiques agricoles adoptées dans les parcelles de vigne de table

Dans le cas des sept parcelles de vignes de table visitées au cours de cette enquête, très peu d'informations ont été fournies quant à la conduite agricole. Toutefois, nous avons pu collecter des données concernant les cépages cultivés dans la région. En effet, le Muscat d'Alexandrie est le seul cépage rencontré durant notre enquête, avec une conduite en mode gobelet sans palissage et en pluvial. Les parcelles visitées présentent des superficies faibles, variant entre 0,5 et 2 ha, avec une texture de sol sablo-limoneuse. Tous les viticulteurs utilisent le désherbage mécanique, à l'exception d'un vigneron qui applique un désherbage chimique à base de glyphosate.

3.2.2. Les pratiques phytosanitaires adoptées dans les parcelles de vigne de table

Six des sept viticulteurs appliquent des produits phytopharmaceutiques pour remédier aux divers problèmes phytosanitaires, tels que le mildiou de la vigne, l'oïdium (maladies fongiques) et les ravageurs tels que la cicadelle. Quatre des viticulteurs appliquant les pesticides consultent le revendeur de produits phytopharmaceutiques de la région pour le choix du produit à appliquer ainsi que la dose de traitement alors que les trois autres se fient à leur expérience personnelle. La fréquence de traitement varie entre 2 et 9 traitements par an (Figure 9), principalement contre les maladies fongiques telles que le mildiou et l'oïdium. Aucun traitement contre la pourriture grise n'a été rapporté par les viticulteurs de la région. Dans ce cas, et contrairement à ce qui a été rapporté pour la vigne de cuve, la variabilité du nombre de traitements appliqués par les 7 viticulteurs enquêtés dépend de la rentabilité de la culture en

question et de l'intérêt associé. La fréquence de traitement notée (2 à 9 traitements par an) est comparable aux fréquences rapportées dans les vignobles de cuve, avec une moyenne de 8 traitements par an (étude 3). Cependant, cette valeur reste de loin inférieure à celle mentionnée par Bouagga *et al.* (2019) ayant noté une fréquence allant jusqu'à 35 traitements par an dans les vignobles de table tunisiens.

Les substances actives rapportées sont le difénoconazole (triazole), le mancozèbe (dithiocarbamate) et le thiophanate-méthyl (thiophanate) appliquées en alternance avec des substances inorganiques, notamment le soufre mouillable pour le contrôle des maladies fongiques comme le mildiou, l'oïdium et la pourriture grise. Pour contrôler les dégâts relatifs aux ravageurs, le chlorpyrifos-éthyl et le diméthoate (organophosphorés), ainsi que la deltaméthrine (pyréthrianoïde de synthèse) sont les trois substances actives insecticides recensées. Deux viticulteurs utilisent principalement les substances actives difénoconazole comme fongicide (en alternance avec le soufre mouillable et le cuivre) pour contrôler les maladies fongiques et la deltaméthrine pour lutter contre la cicadelle. Cependant, un viticulteur applique seulement deux traitements par an (Figure 9) au moyen de produits inorganiques à base de soufre (mouillable ou trituré) et de cuivre.

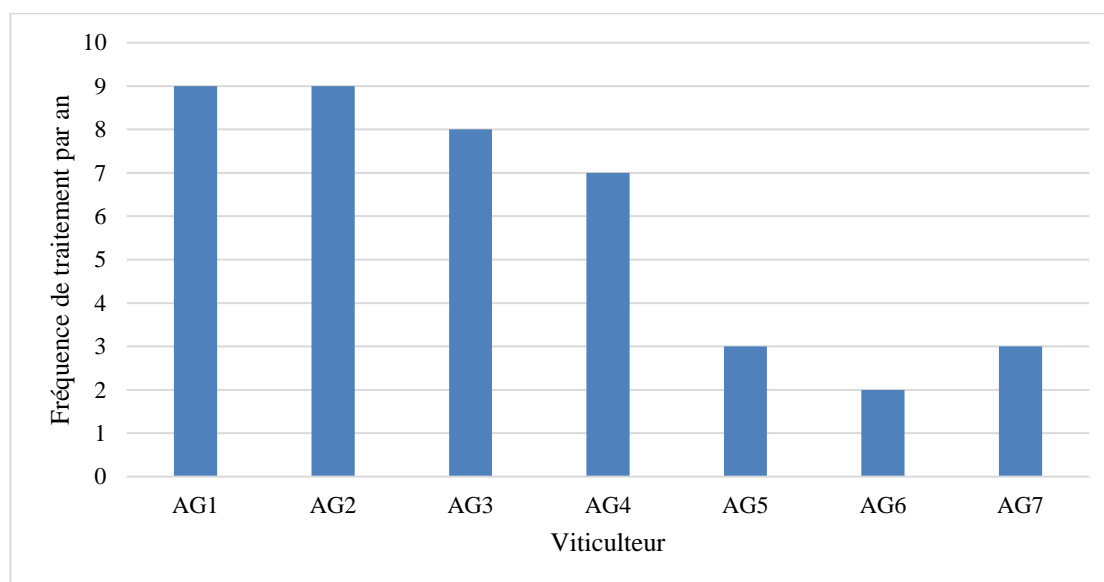


Figure 9 Fréquence d'application des produits phytopharmaceutiques dans les vignobles de table enquêtés, avec AG : Agriculteur

Pour l'ensemble des viticulteurs, le délai avant récolte est de 10 à 30 jours avant la vendange : 4 viticulteurs traitent jusqu'à 30 jours avant la récolte et deux viticulteurs traitent 10 à 15 jours avant la récolte.

Toutefois, nous avons noté un manque d'informations concernant le risque lié à l'exposition des viticulteurs aux pesticides. En effet, les sept viticulteurs ne portent pas d'équipements de protection

individuels pendant le traitement. Ils ne tiennent également pas compte de la dose d'application mentionnée sur l'emballage du produit. Ces mauvaises habitudes peuvent entraîner des conséquences négatives sur la santé de l'applicateur, la qualité du produit et de l'environnement.

3.3. Corrélation entre les pratiques culturales adoptées dans les vignobles en Tunisie et les traitements phytosanitaires appliqués

L'étude de la relation entre les différentes pratiques culturales (densité de plantation, type de cépage, système de conduite de la parcelle, système d'irrigation) et la fréquence des traitements phytosanitaires (données de l'étude 2) a été réalisée à l'aide du test chi-deux. Les résultats des analyses ont révélé qu'il n'y a aucune influence significative de la densité de plantation et du type de cépage sur le nombre de traitements appliqués ($p = 0,749$ et $p = 0,549 > 0,05$). Cependant, il est important de mentionner qu'un viticulteur a appliqué un nombre plus élevé de traitements contre l'oïdium (7 traitements par an) pour le cépage Carignan, qui est plus sensible à cette maladie que les autres cépages cultivés, selon ce viticulteur. Effectivement, les cépages Carignan, Cabernet Sauvignon et Chardonnay sont connus pour être plus sensibles à l'oïdium que d'autres cépages. Toutefois, il convient de noter que lors d'une forte infestation, tous les cépages peuvent être touchés et subir des pertes importantes (Bettiga, 2013).

Le nombre de traitements phytosanitaires est significativement influencé par la conduite agricole et le système d'irrigation ($p < 0,05$). Toutefois, ces résultats nécessitent d'être démontrés à l'échelle expérimentale pour mettre en évidence le type de relation entre les deux paramètres. Pour évaluer la force de cette relation, nous nous sommes concentrés sur le coefficient V de Carmer, dont la valeur était de 0,278, indiquant une relation d'importance moyenne. Par exemple, l'adoption de la taille en guyot (taille longue) peut contribuer à limiter les attaques de *Botrytis cinerea* (agent causal de la pourriture grise) par rapport à d'autres systèmes de conduite tels que le cordon (Egger *et al.*, 1982). Des études ont également montré que le système de conduite en double cordon horizontal peut réduire l'incidence du mildiou par rapport au système en cordon horizontal quadruple, en raison de la faible densité du couvert végétal (Somkuwar *et al.*, 2019). En effet, l'adoption de pratiques agricoles visant à réduire la densité du couvert végétal et à favoriser la pénétration des rayons solaires peut contribuer à limiter l'incidence de maladies fongiques telles que l'oïdium (Austin et Wilcox, 2012). De même, l'effet du système d'irrigation pourrait impacter le développement de la maladie telle que le mildiou. Une étude a démontré que les vignes qui ont reçu le double du volume d'eau standard en irrigation ont montré une incidence plus importante du mildiou sur les feuilles par rapport à celles recevant le régime d'irrigation habituel, au cours de deux saisons consécutives. Cela suggère que l'irrigation peut influencer le développement des pathogènes directement en modifiant le microclimat du feuillage ou indirectement par le biais d'une réponse physiologique de la vigne (Austin et Wilcox, 2011).

3.4. Typologie des procédés de transformation des raisins adoptés en Tunisie

3.4.1. Description des pratiques œnologiques adoptées dans les caves en Tunisie

L'enquête relative aux pratiques œnologiques a été conduite auprès des œnologues collaborant avec les 5 caves visitées. Différentes questions ont été abordées concernant les techniques utilisées lors de la vinification des vins rouges, rosés et blancs. Les étapes clés telles que le débouillage, la fermentation alcoolique, la fermentation malolactique et la clarification ont été examinées (Figure 10).

Le dépouillement de l'enquête a révélé une diversité des techniques utilisées lors de l'étape de débouillage pour les vins blancs et rosés (Figure 10B). Deux des cinq caves interrogées ont opté pour un débouillage naturel en refroidissant la cuve pendant 48 heures, tandis que les trois autres caves ont utilisé des enzymes pectolytiques pour favoriser l'élimination du moût et des débris de feuilles et de pépins, avec une durée de 12 à 16 heures.

Concernant la fermentation alcoolique, cette étape est initiée par l'ajout de levures, plus précisément *Saccharomyces cerevisiae*, avec des doses adaptées à chaque type de vinification. Cette fermentation se déroule à une température comprise entre 16 et 20 °C. Tout au long de cette phase, un suivi quotidien du taux de sucre et de la densité du vin est effectué afin d'évaluer la progression de cette étape.

Dans le cas de la vinification des vins rouges, la fermentation alcoolique est immédiatement suivie d'une fermentation malolactique (transformation de l'acide malique en acide lactique et libération du dioxyde de carbone grâce à la bactérie *Oenococcus oeni*) (Figure 10A), réalisée par l'ajout de bactéries lactiques. Cette étape vise à réduire l'acidité et à stabiliser le vin (Navarre et Langlade, 2010). En revanche, pour la vinification des vins blancs et rosés, la fermentation alcoolique est suivie d'un sulfitage visant à éliminer les levures et les microorganismes restants, afin d'arrêter la fermentation alcoolique (Figure 10B). L'étape de sulfitage se traduit par l'apport d'une quantité adéquate de dioxyde de soufre (SO₂) au moment de la vendange et dans le vin (Navarre et Langlade, 2010).

Dans le processus de vinification, la clarification du vin est une étape importante pour favoriser sa stabilité protéique et sa clarté. La méthode la plus couramment utilisée par la majorité des caves enquêtées est l'ajout de bentonite, une argile à action absorbante chargée négativement. Cet agent clarifiant est communément appliqué dans la clarification du vin en éliminant les protéines chargées positivement (Kemp *et al.*, 2022). Cependant, l'une des caves prospectées a tendance à varier les méthodes de clarification en utilisant d'autres agents clarifiants tels que le PVPP (polyvinylpolypyrrolidone), une colle de synthèse, ainsi que de la gélatine.

En ce qui concerne l'étape de filtration, qui précède la mise en bouteille, différentes méthodes ont été mentionnées par les œnologues interrogés. Ces méthodes comprennent l'utilisation d'un filtre rotatif sous-vide, d'un filtre à cartouche et d'un filtre sur terre de diatomée. De plus, trois des cinq caves utilisent un filtre tangentiel, qui permet de clarifier le vin en un seul passage tout en favorisant la rétention des micro-organismes.

Ces variations dans les techniques de clarification et de filtration peuvent influencer aussi bien la qualité que les caractéristiques du produit fini, notamment sa clarté, sa stabilité et sa composition microbiologique. Il est donc essentiel de comprendre et de maîtriser ces différentes méthodes pour garantir la qualité et la cohérence des vins produits.

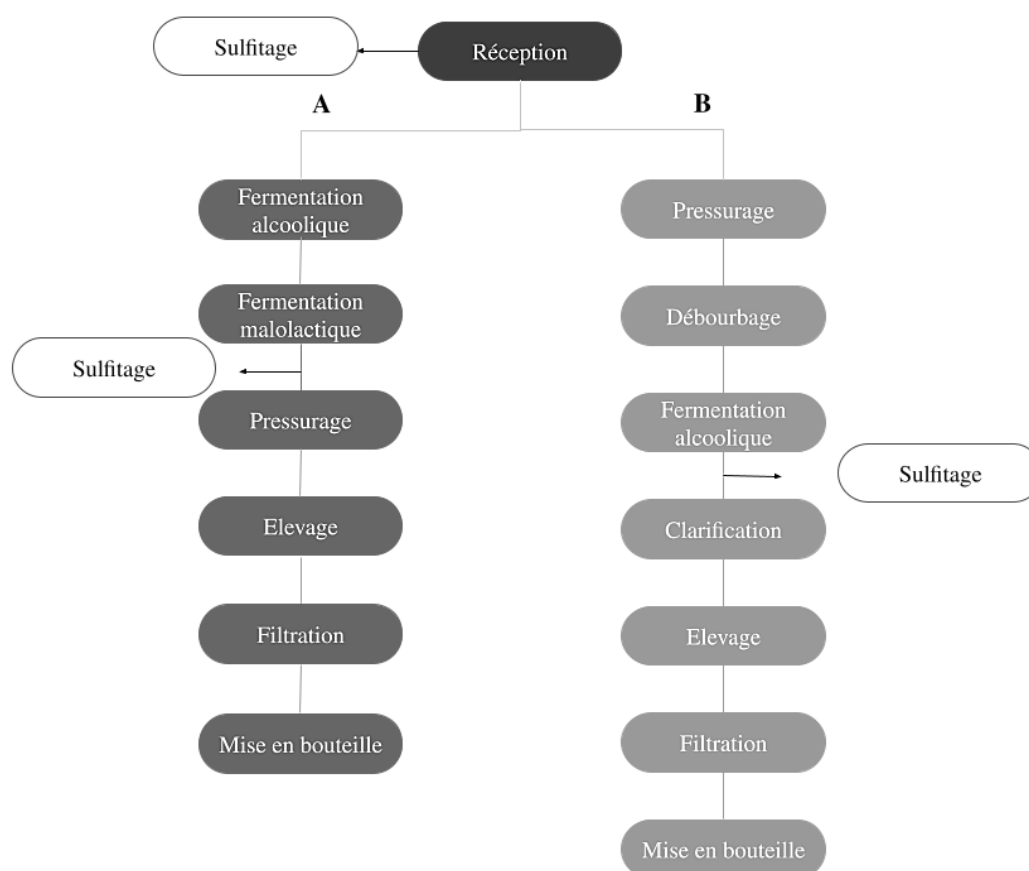


Figure 10. Les étapes de vinification en rouge (A) et en rosé et blanc (B) comme rapportées par les œnologues des caves enquêtées.

3.4.2. Description du procédé de séchage dans le contexte tunisien

L'enquête a été menée auprès de sept viticulteurs et une industrie. Le séchage du raisin, en particulier du cépage Muscat d'Alexandrie Rafraf, est une pratique ancrée dans les traditions familiales de la région. Cependant, la diminution des superficies consacrées à la culture du cépage Muscat d'Alexandrie Rafraf, ainsi que le désintérêt des jeunes générations à perpétuer cette tradition de séchage, ont entraîné une diminution progressive de la production de raisins secs dans la région.

L'enquête a révélé que tous les viticulteurs visités utilisent la méthode de séchage au soleil. Cette technique est la plus adoptée en Tunisie. En effet il s'agit d'une méthode de séchage traditionnelle

largement employés notamment dans les pays en développement vue son faible coût (Wang *et al.*, 2016). Elle nécessite une période de séchage de 2 à 3 semaines et elle est souvent précédée par un trempage dans l'eau chaude (87 – 97 °C). Par ailleurs, elle requiert une durée de séchage assez longue par rapport aux autres procédés de séchage (quelques heures pour le séchage au four à titre d'exemple) et un contrôle permanent en plus de l'exposition des fruits aux polluants présents dans l'atmosphère ambiante et aux bioagresseurs pouvant altérer la qualité du produit final (Bhourri *et al.*, 2016).

Six des sept viticulteurs appliquent une étape préliminaire de prétraitement, c'est-à-dire une étape induisant des craquelures au niveau de la cuticule du raisin et facilitant de ce fait, le transfert d'eau (Esmaili *et al.*, 2007). Deux méthodes de prétraitement ont été utilisées dans cette étude. La première méthode est appliquée par un seul viticulteur. Elle consistait à rincer (à l'eau de distribution) les baies de raisin, puis à les couper en deux et à les étaler sur une bâche en plastique en plein soleil pour une première étape de séchage pendant 24 heures. Ensuite, les baies étaient récupérées, les pépins étaient enlevés, et les baies étaient à nouveau rincées, essorées, puis étalées sur une autre bâche en plastique pour un séchage au soleil pendant 7 à 10 jours (Figure 11). Cette méthode est traditionnellement adoptée par les viticulteurs de la région de Rafraf (Khiari *et al.*, 2021). La deuxième méthode, utilisée par cinq viticulteurs, repose sur un prétraitement chimique par blanchiment. Les baies de raisin étaient trempées dans de l'eau (de distribution) chaude (environ 90 °C) contenant du carbonate de sodium pendant quelques secondes, puis rincées à l'eau froide. Cette étape nécessite un rinçage rapide à l'eau fraîche pour éviter l'altération de la qualité des raisins (Esmaili *et al.*, 2007; Ferradji *et al.*, 2008). Ensuite, les baies étaient essorées et séchées en plein soleil pendant 7 à 10 jours (Figure 11). L'utilisation du carbonate de sodium en combinaison avec de l'huile d'olive dans le prétraitement des raisins peut non seulement améliorer le taux de séchage, mais aussi avoir un impact positif sur la qualité des raisins secs en facilitant l'élimination de l'humidité grâce à l'élimination de la couche cireuse (Vázquez *et al.*, 2000). Dans le cas de la présente étude, l'usage d'une huile d'émersion (telle que l'huile d'olive) n'a pas été mentionné mais pourrait être suggéré aux producteurs de la région pour l'amélioration de la qualité du produit.

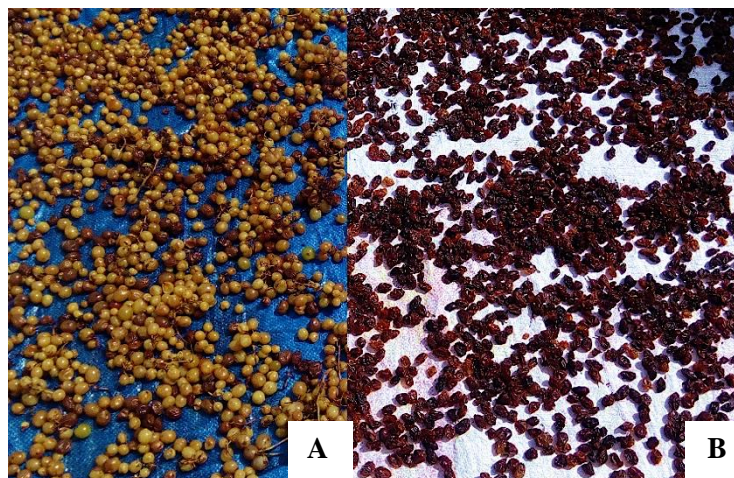


Figure 11. Les raisins de table avant (A) et après séchage (B)

Par ailleurs, pour le viticulteur n'ayant pas effectué de prétraitement, les grappes collectées sont directement exposées au soleil avec la même durée que celle mentionnée précédemment.

Enfin, l'industrie enquêtée adopte un séchage au four à une température de 80°C précédée d'une étape de prétraitement chimique. Cette étape implique le trempage des grappes de raisins dans une solution alcaline à base de 3% de carbonate de potassium (Table 1).

Tableau 1. Méthodes de prétraitement et de séchage des raisins rapportées par 8 producteurs de raisins secs de la région de Rafrat (dont 1 à 7 = entreprises familiales de petite taille et 8 = industrie)

Viticulteur	Prétraitement	Méthode de séchage
1	Trempage eau chaude + carbonate de sodium	
2	Trempage eau chaude + carbonate de sodium	
3	Trempage eau chaude + carbonate de sodium	
4	Rinçage	Séchage au soleil
5	Trempage eau chaude + carbonate de sodium	
6	Pas de traitement	
7	Trempage eau chaude + carbonate de sodium	
8	Trempage dans une solution alcaline (3 % de carbonate de potassium)	Séchage au four

La méthode de prétraitement, la température et la technique de séchage utilisées ont un impact significatif sur les caractéristiques des raisins secs obtenus (Khiari *et al.*, 2021). À titre d'exemple, Zemni et collaborateurs (2017) ont montré que le séchage des raisins au four a donné des raisins secs avec des taux d'humidité et d'acidité faible par rapport aux échantillons séchés sous serre ou au soleil. L'évaluation physique a révélé des raisins secs de grande taille, de couleur rougeâtre à brun foncé. En effet, quel que soit le prétraitement, la déshydratation au four a permis d'obtenir des raisins secs de bonne qualité en termes d'évaluation des composants proximaux et phénoliques (Zemni *et al.*, 2017).

4. Conclusion

En conclusion, cette première étude a révélé une diversité notable des cépages de vigne de cuve et de la conduite agricole adoptée, contrairement à ce qui est observé la vigne de table. Les maladies fongiques notamment le mildiou et l'oïdium ont le plus d'incidence dans les parcelles de vignes de cuve visitées. Cela a été illustré par la fréquence d'application et les produits phytosanitaires appliqués pour la gestion de ces maladies. De même, une grande diversité de procédés de transformation de raisins de cuve et de table a été mise en évidence dans cette partie. Cette étude a permis une meilleure connaissance de l'itinéraire technique et des procédés de vinification et de séchage des raisins utilisés dans le contexte tunisien. Par la suite, cela permettra de mieux appréhender les éventuels risques de contamination par les pesticides dans les raisins et leurs sous-produits.

Des études supplémentaires devraient être conduites à l'échelle nationale pour l'identification des pratiques agricoles (comme l'usage de cépages résistants ou les pratiques qui améliorent l'aération du couvert végétal) afin de limiter l'impact des bioagresseurs dans les vignobles tunisiens et de raisonner l'usage des pesticides.

Données supplémentaires

Tableau S1. Données relatives aux 108 parcelles ayant fait l'objet d'une enquête pendant les campagnes agricoles 2018-2019 (année 1) et 2019-2020 (année 2). Ces 108 parcelles (numérotées de 1 à 41 pour l'année 1 et de 1 à 43 pour l'année 2), appartiennent à 84 viticulteurs, dont 41 ont été interrogés en année 1 et 43 en année 2, et ces 84 viticulteurs correspondent à 5 caves.

Cave	Parcelle	Viticulteur	Année	Région	Cépage	Production (t/ha)	Superficie (ha)	Densité de plantation (ped/ha)	Texture du sol	Irrigation	Source d'irrigation	Conduite de la parcelle	Palissage
1	1	1	1	Turki	Syrah	3	1	3000	Argileux-limoneux	Pluvial	Pluie	En gobelet	Non
1	2	2	1	Kharouba	Carignan	1,5	1	3000	Argileux-limoneux	Pluvial	Pluie	En gobelet	Non
2	3	3	1	Noual	Carignan	7	3	3000	Sableux-limoneux	Goutte à goutte	Oued Medjerda	En guyot simple	Oui
1	4	4	1	Sammach	Grenache noir	7	1	3000	Argileux-limoneux	Goutte à goutte	Oued Medjerda	En guyot simple	Oui
4	5	5	1	Khanguet el Hojej	Carignan	4,5	20	3000	Argileux calcaire	Pluvial	Pluie	En gobelet	Non
4	6	5	1	Khanguet el Hojej	Pedro	4,5	20	3000	Argileux calcaire	Goutte à goutte	Oued Medjerda	En guyot simple	Oui
1	7	6	1	Turki	Carignan	5	3	3000	Argileux-limoneux	Goutte à goutte	Oued Medjerda	En guyot simple	Oui

1	8	7	1	Grombalia	Syrah	2,5	15	3000	Argileux	Goutte à goutte	Oued Medjerda	En guyot simple	Oui
1	9	8	1	Galet Slimane	Syrah	15	2,5	3000	Argileux-limoneux	Goutte à goutte	Oued Medjerda	En guyot simple	Oui
1	10	9	1	Kharouba	Carignan	5,5	4	2200	Limoneux-sableux	Pluvial	Pluie	En gobelet	Non
2	11	10	1	Turki	Syrah	8	8	3000	Argileux	Goutte à goutte	Sondage	En guyot simple	Oui
2	12	10	1	Turki	Grenache Blanc	9	1	500	Argileux	Goutte à goutte	Sondage	En guyot simple	Oui
2	13	10	1	Turki	Marselan	9	4	3000	Argileux	Goutte à goutte	Sondage	En guyot simple	Oui
1	14	11	1	Route Nabeul	Marselan	12	3	2200	Sableux-limoneux	Pluvial	Pluie	En gobelet	Non
1	15	12	1	Mhadhba	Razzequi	6,5	2	2200	Argileux-limoneux	Goutte à goutte	Oued Medjerda	En guyot simple	Oui
1	16	12	1	Mhadhba	Carignan	8	4	2200	Argileux-limoneux	Goutte à goutte	Oued Medjerda	En guyot simple	Oui
2	17	13	1	Grombalia	Carignan	4	3	3000	Argileux	Goutte à goutte	Oued Medjerda	En guyot simple	Oui
1	18	14	1	Sammach	Syrah	5	5	3000	Argileux-limoneux	Goutte à goutte	Oued Medjerda	En guyot simple	Oui
1	19	15	1	Turki	Chardonnay	7	5	3000	Argileux	Goutte à goutte	Oued Medjerda	En guyot simple	Oui
2	20	16	1	Mhadhba	Syrah	12	3	2200	Argileux-limoneux	Goutte à goutte	Oued Medjerda	En guyot simple	Oui
1	21	17	1	Turki	Syrah	8	3	3000	Argileux	Pluvial	Pluie	En gobelet	Non
2	22	18	1	Turki	Syrah	8	1	3000	Argileux	Pluvial	Pluie	En gobelet	Non

1	23	19	1	Mhadhba	Sauvignon Blanc	8	1	2200	Argileux-limoneux	Goutte à goutte	Sondage	En guyot simple	Oui
1	24	20	1	Turki	Syrah	14	8	3000	Argileux	Goutte à goutte	Sondage	En guyot simple	Oui
1	25	21	1	Kharouba	Razzegui	4,5	1	2200	Limoneux-sableux	Pluvial	Pluie	En gobelet	Non
1	26	22	1	Grombalia	Marselan	8	5	3000	Argileux	Goutte à goutte	Oued Medjerda	En guyot simple	Oui
1	27	23	1	Sammach	Carignan	7	3	3000	Argileux-limoneux	Pluvial	Pluie	En gobelet	Non
1	28	24	1	Turki	Syrah	15	2	3000	Argileux-limoneux	Goutte à goutte	Oued Medjerda	En guyot simple	Oui
2	29	25	1	Bir Bouragba	Monique	15	4	2200	Sableux-limoneux	Goutte à goutte	Barrage oued Kamel	En guyot simple	Oui
1	30	26	1	Turki	Syrah	13	2	3000	Argileux-limoneux	Goutte à goutte	Oued Medjerda	En guyot simple	Oui
2	31	27	1	Jedida	Carignan	10	2	2200	Argileux	Goutte à goutte	Sondage	En guyot simple	Oui
1	32	28	1	Noual	Carignan	10	3	3000	Argileux-limoneux	Goutte à goutte	Oued Medjerda	En guyot simple	Oui
1	33	29	1	Noual	Syrah	10	3	3000	Argileux-limoneux	Goutte à goutte	Oued Medjerda	En guyot simple	Oui
1	34	29	1	Turki	Marselan	12	4	3000	Argileux	Goutte à goutte	Oued Medjerda	En guyot simple	Oui
2	35	30	1	Kharouba	Carignan	5	1	2200	Limoneux-sableux	Pluvial	Pluie	En gobelet	Non
1	36	31	1	Turki	Carignan	4	1,5	3000	Argileux	Pluvial	Pluie	En gobelet	Non

3	37	32	1	Grombalia	Carignan	10	10	300	Argileux	Goutte à goutte	Sondage	En guyot simple	Oui
1	38	33	1	Grombalia	Cabernet Sauvignon	14	8	2083	Argileux	Goutte à goutte	Sondage	En guyot simple	Oui
3	39	33	1	Grombalia	Clairette	9	5	2083	Argileux	Goutte à goutte	Sondage	En guyot simple	Oui
3	40	33	1	El karmia	Syrah	1	30	3000	Argileux-limoneux	Goutte à goutte	Sondage	En guyot simple	Oui
1	41	34	1	Gobba	Chardonnay	3	11,7	3000	Argileux-limoneux	Goutte à goutte	Sondage	En guyot simple	Oui
1	42	35	1	Gobba	Cabernet Sauvignon	2	13,9	3000	Argileux-limoneux	Goutte à goutte	Sondage	En guyot simple	Oui
1	43	35	1	Gobba	Merlot	3,5	54,6	3000	Argileux-limoneux	Goutte à goutte	Sondage	En guyot simple	Oui
1	44	35	1	Gobba	Pinot	4	58,5	3000	Argileux-limoneux	Goutte à goutte	Sondage	En guyot simple	Oui
1	45	36	1	El Kharouba	Carignan	2	9,5	2000	Argileux-limoneux	Pluvial	Pluie	En gobelet	Non
1	46	37	1	Khanguet el Hojej	Carignan	40	8	942	Sableux	Pluvial	Pluie	En gobelet	Non
1	47	37	1	Khanguet el Hojej	Cinsault	10	11,5	1225	Sableux	Pluvial	Pluie	En gobelet	Non
1	48	37	1	Khanguet el Hojej	Marcheguero	13	6	1023	Sableux	Pluvial	Pluie	En gobelet	Non
1	49	37	1	Khanguet el Hojej	Pedro	3,5	2	1796	Sableux	Pluvial	Pluie	En gobelet	Non
1	50	38	1	Grombalia	Syrah	14	5	2380	Argileux-limoneux	Goutte à goutte	Oued Medjerda	En guyot simple	Oui

1	51	39	1	Turki	Syrah	20	2	3000	Argileux-limoneux	Goutte à goutte	Oued Medjerda	En guyot simple	Oui
1	52	40	1	Turki	Syrah	8	1	3000	Argileux	Pluvial	Pluie	En gobelet	Non
1	53	41	1	Turki	Carignan	7	1	3000	Argileux	Pluvial	Pluie	En gobelet	Non
1	1	1	2	El argoub	Syrah	3	12	3000	Argileux-limoneux	Goutte à goutte	Oued Medjerda	En guyot simple	Oui
1	2	2	2	Turki	Carignan	2	3	3000	Argileux-limoneux	Pluvial	Pluie	En gobelet	Non
1	3	3	2	Khowina	Carignan	1	1	3000	Argileux-limoneux	Pluvial	Pluie	En gobelet	Non
1	4	3	2	Khowina	Syrah	1	1	3000	Argileux-limoneux	Pluvial	Pluie	En gobelet	Non
1	5	4	2	Nouel	Syrah	8,5	13	3000	Argileux-limoneux	Pluvial	Pluie	En gobelet	Non
1	6	5	2	Turki	Syrah	1	7	3000	Argileux-limoneux	Pluvial	Pluie	En gobelet	Non
4	7	6	2	Khanguet el Hojej	Carignan	7	4,5	3000	Argileux-calcaire	Pluvial	Pluie	En gobelet	Non
4	8	5	2	Khanguet el Hojej	Pedro	20	4,5	3000	Argileux-calcaire	Goutte à goutte	Oued Medjerda	En guyot simple	Oui
2	9	7	2	Turki	Syrah	3	11	3000	Argileux-limoneux	Goutte à goutte	Oued Medjerda	En guyot simple	Oui
1	10	8	2	Grombalia	Syrah	2,5	15	3000	Argileux-limoneux	Goutte à goutte	Oued Medjerda	En guyot simple	Oui
1	11	9	2	Bir Bouragba	Muscat	3	40	2200	Sableux-limoneux	Goutte à goutte	Sondage	En guyot simple	Oui
1	12	10	2	Turki	Syrah	2	7	3000	Argileux-limoneux	Goutte à goutte	Oued Medjerda	En guyot simple	Oui

1	13	11	2	Bouficha	Carignan	2	10	3000	Argileux-limoneux	Goutte à goutte	Barrage Oud Kamel	En guyot simple	Oui
1	14	12	2	Turki	Syrah	1,5	4	3000	Argileux-limoneux	Goutte à goutte	Oued Medjerda	En guyot simple	Oui
2	15	13	2	Bou Argoub	Syrah	1,8	10	3000	Argileux-limoneux	Goutte à goutte	Oued Medjerda	En guyot simple	Oui
1	16	14	2	Rtiba	Cabernet Sauvignon	6	13	4830	Sableux-limoneux	Goutte à goutte	Sondage	En guyot simple	Oui
5	17	14	2	Rtiba	Syrah	4,5	15	4385	Sableux-limoneux	Goutte à goutte	Sondage	En guyot simple	Oui
5	18	15	2	Turki	Grenache blanc	1,5	8	3000	Argileux-limoneux	Goutte à goutte	Oued Medjerda	En guyot simple	Oui
1	19	15	2	Turki	Syrah	8	9	3000	Argileux-limoneux	Goutte à goutte	Oued Medjerda	En guyot simple	Oui
1	20	15	2	Turki	Marselan	4	9	3000	Argileux-limoneux	Goutte à goutte	Oued Medjerda	En guyot simple	Oui
1	21	16	2	Rue Nabeul	Cinsault	1	1	2200	Sableux-limoneux	Goutte à goutte	Oued Medjerda	En guyot simple	Oui
2	22	17	2	Machrouha	Sauvignon Blanc	1	8	2200	Sableux-limoneux	Goutte à goutte	Sondage	En guyot simple	Oui
2	23	18	2	Mhadhba	Carignan	4	20	2200	Argileux-limoneux	Goutte à goutte	Oued Medjerda	En guyot simple	Oui
1	24	19	2	Nouel	Syrah	3	15	3000	Argileux-limoneux	Goutte à goutte	Oued Medjerda	En guyot simple	Oui
2	25	20	2	Sammach	Syrah	4	8	3000	Argileux	Goutte à goutte	Oued Medjerda	En guyot simple	Oui
2	26	21	2	Bouficha	Carignan	4	30	2200	Argileux-limoneux	Goutte à goutte	Barrage	En guyot simple	Oui

1	27	22	2	Bouficha	Razzegui	0,5	4,5	2200	Argileux-limoneux	Pluvial	Pluie	En gobelet	Non
1	28	23	2	Turki	Syrah	2	6	3000	Argileux-limoneux	Goutte à goutte	Oued Medjerda	En guyot simple	Oui
1	29	24	2	Turki	Syrah	1	7	3000	Argileux-limoneux	Goutte à goutte	Oued Medjerda	En guyot simple	Oui
1	30	25	2	Nouel	Grenache Gris	5	10	200	Argileux-limoneux	Goutte à goutte	Puits	En guyot simple	Oui
1	31	26	2	Bouficha	Muscat	1,5	15	2200	Sableux-limoneux	Pluvial	Pluie	En gobelet	Non
1	32	27	2	Bouficha	Carignan	25	76	2200	Argileux-limoneux	Pluvial	Pluie	En gobelet	Non
1	33	28	2	Nouel	Grenache noir	2,5	16	3000	Argileux-limoneux	Goutte à goutte	Oued Medjerda	En guyot simple	Oui
1	34	28	2	Nouel	Syrah	8	13	3000	Argileux-limoneux	Goutte à goutte	Oued Medjerda	En guyot simple	Oui
1	35	28	2	Turki	Syrah	2	15	3000	Argileux-limoneux	Goutte à goutte	Oued Medjerda	En guyot simple	Oui
2	36	29	2	Bir Bouragba	Marselan	3	30	2200	Argileux-limoneux	Goutte à goutte	Barrage Oud Kamel	En guyot simple	Oui
1	37	30	2	Bir Bouragba	Muscat	3	50	2200	Argileux-limoneux	Goutte à goutte	Barrage Oud Kamel	En guyot simple	Oui
2	38	31	2	Grombalia	Pedro	1	3,5	3000	Argileux	Pluvial	Pluie	En gobelet	Non
2	39	32	2	Grombalia	Monique	1	3	3000	Argileux	Pluvial	Pluie	En gobelet	Non
1	40	32	2	Grombalia	Cinsault	2	2	3000	Argileux	Pluvial	Pluie	En gobelet	Non
1	41	33	2	Turki	Carignan	1,5	3	3000	Argileux-limoneux	Pluvial	Pluie	En guyot simple	Oui

2	42	34	2	Sammach	Syrah	2	13	3000	Argileux-limoneux	Goutte à goutte	Oued Medjerda	En guyot simple	Oui
5	43	35	2	Nouel	Syrah	2	13	3000	Argileux-limoneux	Goutte à goutte	Oued Medjerda	En guyot simple	Oui
2	44	36	2	Bou Argoub	Carignan	2	6	3000	Argileux-limoneux	Goutte à goutte	Oued Medjerda	En guyot simple	Oui
1	45	37	2	Turki	Carignan	1	6	3000	Argileux-limoneux	Goutte à goutte	Oued Medjerda	En guyot simple	Oui
1	46	37	2	Turki	Carignan	1,5	4	3000	Argileux-limoneux	Pluvial	Pluie	En gobelet	Non
1	47	38	2	Grombalia	Clairette	5	9,5	2083	Argileux-limoneux	Goutte à goutte	Sondage	En guyot simple	Oui
3	48	38	2	Grombalia	Cabernet Sauvignon	4	11	2083	Argileux-limoneux	Goutte à goutte	Sondage	En guyot simple	Oui
3	49	38	2	Grombalia	Carignan	10	12,5	300	Argileux-limoneux	Goutte à goutte	Sondage	En guyot simple	Oui
3	50	39	2	Touta	Syrah	15	10	3000	Argileux-limoneux	Goutte à goutte	Oued Medjerda	En guyot simple	Oui
1	51	40	2	Nouel	Syrah	3	12	3000	Argileux-limoneux	Goutte à goutte	Oued Medjerda	En guyot simple	Oui
1	52	41	2	Khanguet el Hojej	Carignan	9,5	2	3000	Sableux	Pluvial	Pluie	En gobelet	Non
1	53	42	2	Khanguet el Hojej	Carignan	40	3	3000	Sableux	Pluvial	Pluie	En gobelet	Non
1	54	43	2	Grombalia	Syrah	5	14	3000	Argileux-limoneux	Goutte à goutte	Oued Medjerda	En guyot simple	Oui
1	55	43	2	Turki	Syrah	2	20	3000	Argileux-limoneux	Goutte à goutte	Oued Medjerda	En guyot simple	Oui

Section expérimentale

Etude 2: Characterization of the phytosanitary practices of Tunisian wine vineyards using the treatment frequency index and the Québec's pesticide risk indicator

Préambule

À la lumière des pratiques phytosanitaires rapportées dans la partie précédente, cette étude met l'accent sur les produits appliqués par les viticulteurs de cuve, en considérant la fréquence de traitement (calcul de l'indicateur de fréquence de traitement IFT) et le risque encouru sur le plan sanitaire et environnemental (calcul de l'indicateur de risque des pesticides du Québec IRPeQ). En effet, en raison de nombre limités et de l'imprécision des données obtenues suite à l'enquête conduite dans les vignobles de table, nous nous sommes focalisées sur les vignobles de cuve. Les résultats obtenus devraient permettre de mieux orienter les viticulteurs dans le choix des produits à utiliser, afin de limiter les risques pour l'environnement et pour le consommateur, liés aux résidus de pesticides.

Abstract

The management of phytosanitary issues by pesticides is one of the most widespread methods for viticulture. Indeed, a preliminary study, conducted on table vines in Tunisia, demonstrated the excessive use of pesticides to remedy various pests. Consequently, the present work aims to highlight the treatment frequency index (TFI) and risk indicators of Quebec pesticides (health (HRI) and environment (ERI)) in Tunisian wine vineyards. To this end, a field survey was conducted on ninety-one winegrowers located in the Grombalia and Bou Argoub regions during the 2018-19 and 2019-20 growing seasons. About 79% of the pesticides mentioned in the survey belong to the fungicide class, inducing a high $TFI_{\text{fungicide}}$ demonstrating the pressure of fungal diseases. Besides, the evaluation of the health risk indicator showed that metiram (HRI = 380) and thiophanate methyl (HRI = 295.5) fungicides are likely to threaten human health. Whereas chlorpyrifos (ERI = 219.6) and imidacloprid (ERI = 216.4) insecticides pose an environmental risk mainly because of their toxicity to bees. Quebec's pesticide risk indicator could be a tool to support Tunisian wine growers' decisions about the applied pesticides while preserving human health and the environment.

Keywords: pesticides, viticulture, Quebec's pesticide risk indicator

1. Introduction

The viticulture is intensively cultivated worldwide, thus involving a considerable amount of plant protection products to fight phytosanitary issues (Magistà *et al.*, 2021). Although the chemical method increases the productivity and quality of grapes, the irrational use of pesticides is associated with several adverse effects on both human health and the environment (Costa and Aschner, 2014). Regarding the public health, the risk of exposure could be either direct (during pesticide manipulation) by dermal exposure or through inhalation or indirect by the ingestion of contaminated foodstuffs. The major adverse effects linked to pesticide exposure cover acute (headache, skin irritation, dizziness, nausea, breathing difficulties, coma and death) and chronic (cancer, neurotoxic diseases (such as Parkinson) ...) toxicities (Shah, 2021). Pesticides can be classified according to their toxicity to human health. The WHO has suggested a classification system to distinguish between more and less harmful versions of selected pesticides based on acute risk to human health (World Health Organization, 2020). Acute toxicity refers to a chemical's ability to cause harm to a human or animal after a single, brief exposure. Pesticides are classified into two categories based on their lethal dosage (LD_{50}), namely acute dermal toxicity and acute oral toxicity.

Environmentally, the long-term persistent pesticides (such as organochlorine) may be a source of soil, air, and water (surface and ground water) contamination. Moreover, insecticides may affect adversely the non-target organisms, such as worm, predators and pollinors (bees, etc.) (Yadav and Devi, 2017).

Different studies have already focused on phytosanitary risk assessment in several crops, based on the Quebec Pesticide Risk Indicator (QPRI), including citrus (Bouagga and Chaabane, 2016), table grapes (Bouagga *et al.*, 2018), tomato (Son *et al.*, 2018), cotton (Bars *et al.*, 2020) and cashew (Koffi *et al.*, 2022). QPRI considers both a health effect (acute and chronic toxicity) and an environmental impact (fate, behavior in the environment including persistence, bioaccumulation and ecotoxic potential. It can be used in assessing the risks related to the application of plant protection products at different levels (producer, company, sector, etc.) (Samuel *et al.*, 2007). The QPRI indicator is easier to use and has been applied at a national level on table grape vineyards (which could already provide us with an idea of the toxicity of the products used in both types of vineyards) and at a continental level on various crops. Besides, the pesticide application should be characterized as well. The treatment frequency index (TFI) highlights the phytosanitary pressure exerted by all the treatments applied during a crop year. It indirectly reflects the dependence of winegrowers on chemical treatments. This index was developed in 2006 in France by the National Institute for Agricultural Research (INRA) and the Ministry of Agriculture, based on a Danish model created in 1980 (Brunet *et al.*, 2008). Different studies have already been carried out on TFI assessment in viticulture, mainly in France (Donnet, 2019; Pujol, 2017) and Tunisia (Bouagga *et al.*, 2019).

However, there are no national data concerning the risk due to the plant protection products (PPP) applied in the Tunisian wine-growing areas. Besides, there are no national program to raise the awareness of farmers about the pesticides misuse hazards. Hence, this paper aimed to characterize (i) the phytosanitary practices using the treatment frequency index and (ii) the phytosanitary risks through the pesticide risk indicators (QPRI) assessment to give better recommendations for pesticides management.

2. Materials and methods

2.1. Study design

A survey was conducted among eighty-four winegrowers (41 and 43, during the growing seasons 2018-19 and 2019-20, respectively) recruited among five wineries to collect their plant protection practices. Data were gathered over the 2018-19 and 2019-20 growing seasons in two major wine regions, Grombalia and Bou Argoub, part of the governorate of Nabeul in northeastern Tunisia, a region known for its wine production. The questionnaire focused on phytosanitary practices, principally the phytosanitary issues, the applied PPP and their related active substances, formulations, and applied doses (Appendix 3).

2.2. Determination of Treatment Frequency Index

Data collected from the survey were compiled in an Excel file to calculate the treatment frequency index (TFI). According to the methodological guideline published on the website of the French agronomic ministry, the TFI is calculated using Eq (1) (Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation, 2021).

$$TFI_{\text{field}} = \sum \left[\left(\frac{\text{applied dose per hectare}}{\text{approved dose per hectare}} \right) \times \text{PST} \right], \quad (1)$$

where PST is the proportion of surface area treated. During the survey, the winegrower reported the 'applied dose per hectare' while the 'approved doses per hectare' referred to the 2019 Tunisian phytosanitary guide (Association Tunisienne pour la protection des plantes, 2019). As all winegrowers applied plant protection products to the whole surface area, the PST value was always equal to 1. In this instance, TFI values refer to the ratio between the applied dose and the approved dose. Each type of pesticide (e.g., fungicides, insecticides, and herbicides) was considered separately ($TFI_{\text{fungicide}}$, $TFI_{\text{insecticide}}$...) and together (TFI_{field}).

2.3. The Quebec Pesticide Risk Indicator (QPRI)

QPRI is a decision support tool for the optimisation and management of plant protection products and was developed jointly by the Quebec Ministry for Agriculture, Fisheries and Food (MAPAQ), the Quebec Ministry for Sustainable Development, the Environment, and the Parks (MDDEP) and Quebec National Institute of Public Health (INSPQ) (Samuel *et al.*, 2007). There is a health component (QPRI-Health) and an environmental component (QPRI-Environment). The QPRI tool was fully described by Samuel *et al.*, 2007.

Briefly, the QPRI-Health calculates a health risk index of an active substance ($HRI_{\text{active substance}}$) in each commercial product according to its use. $HRI_{\text{active substance}}$ assesses both acute and chronic toxicities of the applied pesticides, the persistence potential in the environment, and the bioaccumulation potential in the human body. $HRI_{\text{active substance}}$ is:

$$HRI_{\text{active substance}} = \frac{(TRI \times Wf_f \times Wf_a)}{10} \quad (2)$$

where TRI is the toxicological risk index of an active substance, Wf_f is the weighting factor related to the product formulation indicated on the product's label, and Wf_a is the weighting factor related to the application rate and amount of active substance in the end-use product.

TRI is defined as:

$$TRI = [\sum \text{acute risks} + (\sum \text{chronic risks} \times FPer)]^2, \quad (3)$$

where FPer is the persistence factor (ranging between 1 and 2.5) considering the bioaccumulation potential in living tissues.

The $HRI_{\text{commercial product}}$ is the cumulative HRI of the active substance included in the commercial product ($\sum HRI_{\text{active substance}}$).

The QPRI-Environment calculates a risk index for the environment (ERI), thereby considering the physicochemical properties and ecotoxicological indicators of the active substance and the applied doses associated with the commercial product. $ERI_{\text{active substance}}$ is:

$$ERI_{\text{active substance}} = [1.75 \times (T + O) + A + M + B + P]^2, \quad (4)$$

where T is the impact on terrestrial invertebrates, O is the impact on birds, A is the impact on aquatic organisms, M is the mobility of the active substance, B is the bioaccumulation of the active substance and P is the persistence of the active substance in soil.

All the information required to calculate both indicators were presented in tables S3 and S4. It has been collected from official databases, like the Environmental Protection Agency, EPA, United States (US EPA, 2023), the official website of the PAN: (Pesticides Action Network) (Pesticide Action Network, 2023), registration files in Tunisia (AgriDATA, 2021) as well as the site of the Canadian software Sage (SAGE pesticides, 2023).

3. Results and Discussion

3.1. Characterization of the reported plant protection products (PPPs)

Thirty-seven PPPs with thirty-three different active substances were reported by the farmers surveyed. Fungicides represent the most used class of pesticides (79%). This observation illustrates the pressure of fungal diseases in Tunisian wine vineyards. Indeed, these phytosanitary issues cause production losses and economic damages to winegrowers (Magistà *et al.*, 2021). Previous studies have also reported the frequent use of fungicides in viticulture to reduce the losses involved by fungi (Bouagga *et al.*, 2019b; Yadav and Devi, 2017). Among the mentioned fungicides, 41% were unlikely to present acute hazard (U) according to the WHO classification (World Health Organization, 2020) while 31% were moderately hazardous (II) (Table 1). This classification includes the active substances belonging to the triazole group (namely triadimenol, difenoconazole and myclobutanil (Table 1)) applied to manage the powdery mildew and the acylalanine group (metalaxyl and metalaxyl-M) applied against downy mildew causal agent *Plasmopara viticola*. However, 100% of the reported insecticides (21% of all the active substances reported) were moderately hazardous (II) based on dermal and oral toxicities in rat (Table 1 and S1) (World Health Organization, 2020). Similar results were presented in a study established in Ghana on Mango farmers showing the moderate toxicity of the majority of the applied insecticides to fight pest problems such as fruit flies and mealy bugs (Akotsen-Mensah *et al.*, 2017).

Moreover, the survey showed that all the interviewed farmers did not use individual protective equipment (EPI) during the product handling and/or treatments. This was also reported by Bouagga *et al.* (2019) during their survey in 2016-18 in Tunisian table grapes fields, illustrating a lack of training and awareness of farmers and professionals in the agricultural field. Consequently, pesticides' application could be a source of dermal and oral exposure for Tunisian farmers.

Table 1. List of the 37 reported commercial products during a field survey involving 84 winegrowers, their formulations and the WHO classification of their associated active substances.

Commercial Product	Formulation	Active substance	Chemical family	WHO classification ^a
<i>Fungicides</i>				
Agriphanate [®]	WP	thiophanate-methyl	Thiophanate	U
Altitut Gold [®]	SC	Azoxystrobin	Methoxy-acrylate	U
		Tebuconazole	Triazole	II
Armétil M [®]	WP	Metalaxyl	Acylalanine	II
		Mancozeb	Dithiocarbamate	U
Aurige [®]	WP	thiophanate-methyl	Benzimidazoles	U
Bayfidan [®]	EC	Triadimenol	Triazole	II
Caiman [®]	WP	Mancozeb	Dithiocarbamate	U
Carial TOP [®]	SC	Mandipropamid	Mandelic acid amid	U
		Difenoconazole	Triazole	III
		fosetyl aluminum	Ethyl phosphonate	U
Cassiopee [®]	WG	Folpet	Phthalimide	U
		Iprovalicarb	Valinamide carbamate	U
Copper	WP	Copper	Inorganic	N.L
Filal [®]	WP	fosetyl aluminum	Ethyl phosphonate	U
Karathane [®]	EC	Meptyldinocap	Dinitrophenyl-crotonat	III
		Propineb	Dithiocarbamate	U
Melody Duo [®]	WP	Iprovalicarb	Valinamide carbamate	U
		Folpet	Phthalimide	U
Mikel Flash [®]	WG	fosetyl aluminum	Ethyl phosphonate	U
		tribasic copper sulphate	Inorganic	NL
Moltovin [®]	SC	cymoxanil	Cyanoacetamide oxime	II
		Ametoctradin	Triazolo-pyrimidylamne	III
Orvego [®]	SC	Dimethomorph	Cinnamic acid amide	III
		Mancozeb	Dithiocarbamate	U
Penncozeb [®]	WP	Mancozeb	Dithiocarbamate	U
Pelt [®]	SC	thiophanate-methyl	Thiophanate	U
Polyram [®]	WP	Metiram	Dithiocarbamate	U
Procuivre [®]	WP	copper oxychloride	Inorganic	II
		Mancozeb	Dithiocarbamate	U
Prosper [®]	EC	Spiroxamine	Spiroketal-amine	II
		mefenoxam (metalaxyl M)	Acylalanine	II
Ridomil Gold [®]	WG	Mancozeb	Dithiocarbamate	U
		Difenoconazole	Triazole	II
Score [®]	EC	Difenoconazole	Triazole	II
-b ^a	WG	Sulphur	Inorganic	III
Systhane [®]	EC	Myclobutanil	Triazole	II

Talendo	EC	Proquinazid	Quinazolinone	N.L
Tel Dor [®]	WG	Fenhexamid	Hydroxyanilide	U
Topaz [®]	EC	Penconazole	Triazole	III
Triziman [®]	WP	Mancozeb	Dithiocarbamate	U
Vivando [®]	SC	Metrafenone	Benzophenone	U
<i>Insecticides</i>				
Akopride [®]	SC	Imidacloprid	Neonicotinoid	II
Borey [®]	SC	lambda-cyhalothrin	Pyrethroid	II
		Imidacloprid	Neonicotinoid	II
Confidor [®]	OD	Imidacloprid	Neonicotinoid	II
Decis [®]	EC	Deltamethrin	Pyrethroid	II
Deltacal [®]	EC	Deltamethrin	Pyrethroid	II
Nuprid [®]	EC	Imidacloprid	Neonicotinoid	II
Pyrical [®]	EC	Chlorpyrifos	Organophosphate	II
Selene [®]	EC	Cypermethrin	Pyrethroid	II

NL: not listed; EC: Emulsiable concentrate; OD: Oil dispersion; SC: Soluble powder. WG: Wettable granule; WP: Wettable powder, ^a WHO, 2020. The WHO recommended classification of pesticides by hazard and guidelines to classification (see Table S2); ^b commercial product non-mentioned during the survey.

3.2. Treatment frequency index (TFI)

The TFI calculated according to eq (1) measures the phytosanitary pressure exerted by all treatments applied to a crop during a year. Figure 8 illustrates the average TFI values (TFI_{field} , $TFI_{fungicide}$ and $TFI_{insecticide}$ for the two growing seasons 2018-19 and 2019-20), demonstrating the dominance of fungal diseases in wine grapes over other kinds of damages. Large variations for the TFI_{field} of the 41 and 43 winegrowers were observed, ranging from 1.2 to 24.9 in 2019 and from 2.0 to 28.7 in 2020 (Table S1). The $TFI_{fungicides}$ ranged from 1.2 to 21.4 in 2019 and 2.0 to 25.7 in 2020, whereas $TFI_{insecticides}$ ranged from 0 to 3.5 and from 0 to 4.1 in 2019 and 2020, respectively. Seven and 12 winegrowers did not use insecticide treatments during the growing seasons 2018-19 and 2019-20, respectively (Table S1). The high $TFI_{fungicide}$ obtained can be explained by the high frequency of fungicide treatments (8 treatments on average per year, compared to 3 treatments for insecticides) and the non-compliance with the recommended dose for 7 fungicides (fenhexamid, triadimenol, mancozeb, metiram, iprovalicarb, difenoconazole, and thiophanate-methyl, with an exceedance of up to 2.8 times the recommended dose for the latter). These values are much higher than those observed for insecticides (with an average of 2.4 and 2.2 during both growing seasons), which is consistent with previous studies conducted on table and wine grapes in Morocco, Tunisia, and France, respectively (Azzouzi *et al.*, 2014; Bouagga *et al.*, 2018; Pujol, 2017; Simonovici, 2019). Nevertheless, the TFI values reported here are still significantly lower than those found in a study by Bouagga *et al.* (2018) for table grapes in Tunisia, which ranged

from 29 to 80. This variation can be explained by the number of commercial products used (over 90 for table grapes and 37 for wine grapes), as well as the frequency of application (an average of 8 treatments per year for wine grapes and up to 24 treatments per year for table grapes) (Bouagga *et al.*, 2019b).

An average TFI of 4.7 and 8.8 was calculated for the inorganic fungicides, such as sulfur and copper, showing the recurrent use of these products at different periods during the growing season, mainly at the beginning of the crop cycle, to prevent diseases.

No TFI assessment in Tunisian wine grapes fields has been published yet. However, several French wine-growing studies report similar results to those of the present study. Pujol (Pujol, 2017) reported, in a survey carried out in about 21 French wine-growing regions such as Alsace, Beaujolais, Bordelais, Languedoc and Pyrénées-Orientales, an average TFI_{field} between 9.2 and 21.4, and a $TFI_{fungicide}$ up to 19.2. Simonovici *et al.* (2019) (Simonovici, 2019) reported TFI_{field} values ranging from 9.3 to 23.5 according to the region with a $TFI_{fungicide}$ between 7.1 and 21.5. These findings were explained by the dominance of fungal diseases (80%) in the French wine regions. The TFI values reported in the French wine-growing areas corroborate the results obtained in the present study. In 2018, the estimated TFI_{field} for Tunisian table grapes were higher (between 29.3 and 80.1) (Bouagga *et al.*, 2019)

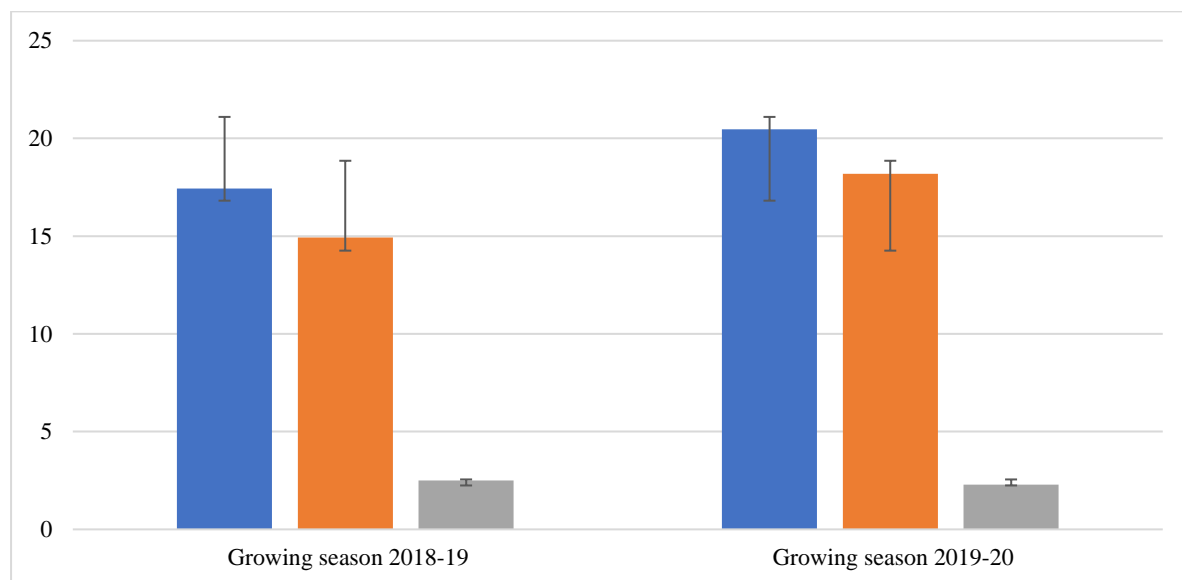


Figure 1. Comparison of the average values of TFI_{field} (blue), $TFI_{insecticides}$ (grey), and $TFI_{fungicides}$ (orange) for the 41 and 43 surveyed winegrowers according to the growing season of survey 2018-19 and growing season 2019-20, respectively. Detailed TFI values for each surveyed winegrower are available in Table S1.

3.3. The Quebec pesticide risk indicator (QPRI)

The evaluation of the two components of the QPRI (i.e., QPRI-Health and QPRI-Environment) was conducted, allowing the estimation of health (HRI) and environmental risk (ERI) of each commercial product. The HRI and ERI indexes were calculated according to eq (2-4) for each commercial product (and their associated active substances) mentioned by each farmer. Data used to calculate HRI and ERI are shown in Tables S3 and S4. As HRI and ERI are not calculated using the same variables, these indexes must be assessed independently. As mentioned in the QPRI calculation guideline, HRI and ERI values could range from 1 to 2420 and 1 to 961, respectively.

Table 2. Health (TRI, HRI) and environmental (ERI) risks associated with each mentioned commercial product and their active substances

Class	Target Disease	Commercial product	Active substance	QPRI Health			QPRI Environment	
				TRI _{active substance}	HRI _{active substance}	HRI _{commercial product}	ERI _{active substance}	ERI _{commercial product}
Fungicides								
Downy mildew								
		Armétil M [®]	metalaxyl	100	12.5		19.6	
			mancozeb	441	143.3	155.8	1	20.6
		Caiman [®]	mancozeb	441	136.6	136.6	1	1
		Cassiopee [®]	fosetyl aluminum	49	9.8		1	
			Folpet	1156	231.2	246	1	18
			iprovalicarb	25	5		16	
		Copper	Copper	196	78.4	78.4	49	49
		Filal [®]	fosetyl aluminum	49	13.7	13.7	25	25
		Melody Duo [®]	propineb	121	64		1	
			iprovalicarb	25	3.1	67.1	16	17
		Mikel Flash [®]	Folpet	1156	144.5		1	
			fosetyl aluminum	49	6.1	150.6	1	2
		Moltovin [®]	tribasic copper sulphate	64	10.9		49	
			cymoxanil	36	14.4	25.3	1	50
		Orvego [®]	ametoctradin	25	3.7		9	
			dimethomorph	49	7.3	11	16.8	25.8
		Pelt 500 [®]	thiophanate-methyl	900	295.5	295.5	1	1
		Penncozeb [®]	mancozeb	441	55.1	55.1	1	1
		Polyram [®]	metiram	1521	380	380	1	1

Procuivre®	mancozeb	441	88.2		1	
	copper oxychloride	196	46.1	134.3	49	50
Prosper®	spiroxamine	784	114.5	114.5	13.7	13.7
Ridomil Gold®	mefenoxam (metalaxyl-M)	100	12.5	67.6	15.1	16.1
	mancozeb	441	55.1		1	
Sulphur	sulphur	49	19.6	19.6	14.1	14.1
Triziman®	mancozeb	441	136.7	136.7	1	1

Powdery mildew

Altitut Gold®	azoxystrobin	81	11.7	96.2	26.1	120.2
	tebuconazole	1156	84.5		94.1	
Aurige®	thiophanate methyl	900	144	144	1	1
Bayfidan®	triadimenol	961	107.6	107.6	30.9	30.9
Carial TOP®	Mandipropamid	25	3.6		16	124.2
	difenoconazole	324	47	50.6	108.2	
Karathane®	meptyldinocap	784	91	91	12.8	12.8
Score®	difenoconazole	324	38.2	38.2	108.2	108.2
Systhane®	myclobutanil	324	38.2	38.2	57.8	57.8
Talendo®	proquinazid	289	35.4	35.4	43.6	43.6
Topaz®	penconazole	2256.2	276.4	276.4	13.9	13.9
Vivando®	metrafenone	196	25.2	25.2	108.2	108.2

Grey mold

Agriphanate®	thiophanate methyl	900	171	171	1	1
Tel Dor®	fenhexamid	25	3.5	3.5	1	1

Insecticides**Aphids + vine mealybug**

Borey®	lambda- cyhalothrin	2209	280.5	285	43.9	260.3
	imidacloprid	36	4.5		216.4	

European Grapevine moth

Decis®	deltamethrin	100	19	19	63.2	63.3
Deltacal®	deltamethrin	100	16	16	60.8	60.8

Green Leaf hopper

Akopride®	imidacloprid	36	4.9	4.9	216.4	216.4
Confidor®	imidacloprid	36	4.3	4.3	216.4	216.4
Nuprid®	imidacloprid	36	4.7	4.7	216.4	216.4
Pyrical®	chlorpyrifos	1444	274.4	274.4	295.8	295.8
Selene®	cypermethrin	324	50.6	50.6	60.8	60.8

3.3.1. TRI results

The TRI represents the sum of acute and chronic toxicity while considering the bioaccumulation potential of the active substance in human tissue (Samuel *et al.*, 2007). TRI values were assessed among the 33 mentioned active substances. The obtained values ranged from 25 to 2256.5. The highest $TRI_{\text{fungicides}}$ values were noted for triazoles (penconazole (TRI = 2256.5), triadimenol (TRI = 961)), dithiocarbamate (metiram (TRI = 1521), mancozeb (TRI = 441)), phthalimide (folpet (TRI = 1156)), and thiophanate (thiophanate methyl (TRI = 900)) groups due to their acute and chronic adverse effects on human health. Indeed, the active substances belonging to the triazole group, such as difenoconazole, triadimenol, and myclobutanil, primarily pose an acute risk due to their dermal and oral toxicities (World Health Organization, 2020). Furthermore, penconazole is suspected to have teratogenic effects on humans, specifically in terms of chronic exposure (FAO/WHO, 2015) and has a high potential of bioaccumulation in living tissues ($\log k_{ow} = 3.72$) (Table S3). Besides, the adverse effects of dithiocarbamates 'active substances (mainly metiram) are linked to their metabolite ethinylthiourea (ETU) which has been shown to induce thyroid tumors in rats and mice (Costa and Aschner, 2014).

On the other hand, the insecticides chlorpyrifos (TRI = 1444) and lambda cyhalothrin (TRI = 2209) presented the highest toxicological index due to their acute and chronic toxicities as compared to imidacloprid (TRI = 36) (Table 2). Similarly, a study conducted in the cashew crop in Cote d'Ivoire reported a high TRI value for lambda cyhalothrin (TRI = 2209) compared to imidacloprid (TRI = 36) (Koffi *et al.*, 2022). Previous studies showed the high toxicity of insecticides such as methidathion (TRI = 5775) used to fight pest damages in citrus crop (Bouagga and Chaabane, 2016). Chlorpyrifos, widely applied in cotton crop in Mali, showed a TRI value of 810 regarding its long-term effects in human (Bars *et al.*, 2020). Besides, the insecticides composed of profenofos (TRI = 1444), methomyl (TRI = 1024) and lambda cyhalothrin (TRI = 625) applied in tomato farms present the highest risk on human health (Son *et al.*, 2018).

3.3.2. QPRI-Health results

The HRI index considers the type of formulation (Table 2), the concentration of the active substances and the applied dose (as mentioned by the winegrowers during the survey) (Samuel *et al.*, 2007). Thus, a same active substance may have different HRI values regarding the factors presented below. In this study, $HRI_{\text{commercial products}}$ values ranged between 3.5 (Tel Dor[®]) and 380 (Polyram[®]) (Table 2). Inorganic fungicides consisting of copper (HRI = 78.4) as well as Orvego[®] (a mixture of ametoctradin and dimethomorph) (HRI = 11) showed a low risk to human health compared to other products used to control downy mildew. Those products could be alternatives to high-risk fungicides, particularly

formulations containing dithiocarbamates with HRI higher than 100 (Armetil[®], Caiman[®], Polyram[®], Procuvire[®], Triziman[®]). Topaz[®] (HRI=276.4) and Aurige[®] (HRI = 156.6) showed a higher risk to human health compared to other fungicides (HRI ranged from 25.2 to 96.2) and inorganic compound sulphur (HRI=19.6) used for powdery mildew control (Table 2).

The insecticides (such as Akopride[®] and Confidor[®]) containing imidacloprid (HRI ranged between 4.3 and 4.9) displayed the lowest risk on human health as compared to other insecticides used in the wine grape vineyards namely chlorpyrifos (HRI = 274.4) and lambda-cyhalothrin (HRI = 280.5). For instance, the results obtained in rats indicate that chlorpyrifos, a chemical often applied in Tunisian vineyards to control aphids and grapevine mealybug, and leafhopper, respectively is a moderately toxic substance via respiratory exposure, but severely toxic via dermal exposure. Besides, this molecule is capable of affecting the nervous system, in addition to its immunotoxic, cytotoxic, and mutagenic effects (Ubaid ur Rahman *et al.*, 2021).

The QPRI-Health was already evaluated by several studies on fruits and vegetables. For methomyl and indoxacarb, the main active substances detected on tomato crops in Burkina Faso, the health impact was moderate with HRI of 160 and 183.2, respectively (Son *et al.*, 2018). The commercial product, Ipromise[®] (which contains thiophanate methyl and iprodione) used in Tunisian table grapes, showed the highest impact on human health (HRI = 1037) (Bouagga *et al.*, 2018). Similarly, to the present study results, an investigation on citrus crops showed higher HRI for insecticides than fungicides (Bouagga and Chaabane, 2016).

Some pesticide such as thiophanate-methyl showed different HRI values ranging from 156.6 to 295.5. The heterogeneity of the observed values is attributable to the applied dose of the product and the formulation of the active substance in the considered product. The risk index is higher as the dose increases. In the context of this study, thiophanate-methyl was mentioned in three different commercial preparations: Pelt[®], Aurige[®], and Agriphante[®]. Each product has its own formulation and application dose, which explains the differences observed in the risk indices of thiophanate-methyl. This could explain the HRI calculated in the study by Bouagga *et al.* (2018) on table grapes, which was around 1037, given that the approved dose in this culture is often not respected. It should be noted that thiophanate-methyl, not approved in Europe, is likely to cause skin allergies, be harmful by inhalation, and cause genetic abnormalities, hence its high toxicological index (TRI) of 900.

As TRI is the toxicological risk index of an active substance that does not consider the amount of active substance in the end-use and the sprayed dose, some active substances could have a high TRI, such as tebuconazole (TRI = 1156) and meptyldinocap (TRI= 784), but a low HRI (84.5 and 91, respectively). Similarly, Bars *et al.* found a very high TRI value (1823) for bifenthrin with a relatively low HRI value for cotton production in Mali (Bars *et al.*, 2020).

3.3.3. QPRI-Environment results

The ERI values for commercial products ranged between 1 and 295.8 (for Pyrical® which contains chlorpyrifos). For fungicides, the ERI values varied between 1 and 124.2. Fungicides containing folpet, fosetyl aluminum, mancozeb and thiophanate methyl showed the lowest environmental potential risk (with an ERI of 1) despite their high human health risk index (HRI > 100).

The $ERI_{insecticides}$ were higher (60.8 – 295.8) than $ERI_{fungicides}$. Insecticides containing chlorpyrifos (ERI = 295.8) and imidacloprid (ERI = 216.4) showed the highest potential risk for the environment. These results are in agreement with a previous study performed on table grapes (Bouagga *et al.*, 2018), confirming that insecticides may have a higher environmental impact on grape growing than fungicides.

Indeed, chlorpyrifos and imidacloprid are toxic to bees with $LD_{50\text{ oral}} = 0.04 \mu\text{gbee}^{-1}$ and $0.004 \mu\text{gbee}^{-1}$, respectively (Table S4). Imidacloprid is widely reported to be acutely toxic to bees belonging to *Apis mellifera* species (Suchail *et al.*, 2000; Rondeau *et al.*, 2014), while no data are found regarding the impact of this substance on bees in Tunisia (Abdelkader, 2020). The high ERI values of both compounds could also be explained by their high persistence potential in soil in anaerobic conditions ($t_{1/2\text{soil}} = 68$ and 336.5 days, respectively) (Table S4). Besides, imidacloprid showed a moderate mobility potential, that means that it may present a potential contaminant for both surface and groundwater. Effectively, a study conducted among Californian water surface highlighted the imidacloprid contamination and the risk induced to aquatic organisms as well (Starner and Goh, 2012). These results corroborate a previous work on citrus reporting an $ERI_{imidacloprid}$ of 271 (Bouagga and Chaabane, 2016).

Regarding both health and environmental index, we can suggest that fungicides combining both low HRI and ERI should preferably be used to treat downy mildew such as Sulphur (19.6 and 14.1, respectively), Orvego® (11 and 25.8, respectively) and Filal® (13.7 and 25, respectively) or to treat powdery mildew such as copper (HRI = 78.4 and ERI = 49) and Karathane® (91 and 12.8) or grey mold such as Tel Dor® (3.5 and 1).

4. Conclusion

This study has highlighted the lack of awareness among Tunisian wine growers regarding the use of individual protection equipment during the application of PPP. In addition, approximately 41% of the reported pesticides are moderately hazardous according to the WHO classification. These products may therefore have an impact on farmers' health through direct exposure. Consequently, further sensibilization programs should be gathered by Tunisian authorities to raise the awareness regarding pesticides harmful effects. TFI highlighted the pressure exerted by diseases reported by winegrowers

during the survey, thus explaining the frequent use of fungicides. On the other hand, the estimation of HRI and ERI showed the low impact of fungicides containing of fosetyl aluminum, fenhexamid and inorganic compounds on human health (whether for the applicator or by individuals living near a rural area) and the environment as compared to the applied fungicides (such as thiophanate-methyl and metiram). Both insecticides imidacloprid and chlorpyrifos showed a higher risk on the environment due to their effect on the non-target organisms, their persistence, and their potential to contaminate both surface and groundwater (in the case of imidacloprid). Regarding these results, the use of these pesticide should be limited or banned, and other alternatives may be considered by the Tunisian authorities such as mass trapping (in the case of insecticides) and the reasonable use of inorganic compounds such as sulphur and copper. Hence, the Quebec pesticide risk indicators could support farmers' decision on which PPP to apply based on their health and environmental impact.

Supplemental Data

Tableau S1. TFI_{field} , $TFI_{\text{fungicide}}$ and $TFI_{\text{insecticide}}$ calculated for the 84 surveyed grapegrowers during the growing seasons a) 2018-19 and b) 2019-20

Winery	Grapegrower	$TFI_{\text{fungicide}}$	$TFI_{\text{insecticide}}$	TFI_{field}
1	1	8.2	0.0	8.2
1	2	21.4	3.5	24.9
1	3	21.4	3.5	24.9
2	4	20.4	2.0	22.4
1	5	21.4	3.5	24.9
4	6	18.6	3.0	21.6
1	7	21.4	3.5	24.9
1	8	21.4	3.5	24.9
1	9	21.4	3.5	24.9
2	10	6.2	0.0	6.2
2	11	4.2	1.0	5.2
2	12	3.0	0.0	3.0
1	13	21.4	3.5	24.9
1	14	21.4	3.5	24.9
1	15	21.4	3.5	24.9
2	16	1.2	0.0	1.2
1	17	21.4	3.5	24.9
1	18	21.4	3.5	24.9
2	19	10.4	0.0	10.4
1	20	21.4	3.5	24.9
2	21	3.0	0.0	3.0
1	22	21.4	3.5	24.9
1	23	21.4	3.5	24.9
1	24	21.4	3.5	24.9
1	25	21.4	3.5	24.9
2	26	18.4	3.0	21.4
1	27	21.4	3.5	24.9
2	28	5.3	2.0	7.3
1	29	21.4	3.5	24.9
1	30	21.4	3.5	24.9
2	31	1.2	0.0	1.2
1	32	21.4	3.5	24.9
3	33	10.9	5.0	15.9
1	34	21.4	3.5	24.9
1	35	21.4	3.5	24.9
1	36	21.4	3.5	24.9

1	37	21.4	3.5	24.9
1	38	21.4	3.5	24.9
1	39	21.4	3.5	24.9
1	40	21.4	3.5	24.9
1	41	21.4	3.5	24.9

b) Growing season 2019-20

Winery	Grapegrower	TFI _{fungicide}	TFI _{insecticide}	TFI _{field}
1	1	8.2	0.0	8.2
1	2	16.5	3.0	18.5
1	3	6.4	0.0	6.4
1	4	25.7	3.0	28.7
1	5	3.7	0.0	3.7
4	6	18.6	3.0	21.6
1	7	25.7	3.0	28.7
1	8	25.7	3.0	28.7
2	9	23.7	3.0	26.7
1	10	25.7	3.0	28.7
1	11	25.7	3.0	28.7
1	12	25.7	3.0	28.7
1	13	25.7	3.0	28.7
5	14	7.0	3.8	10.8
1	15	25.7	3.0	28.7
2	16	3.2	0.0	3.2
2	17	4.2	0.0	4.2
2	18	7.0	2.0	9.0
1	19	25.7	3.0	28.7
1	20	25.7	3.0	28.7
2	21	25.7	3.0	28.7
2	22	3.8	1.0	4.8
1	23	6.4	0.0	6.4
5	24	8.0	0.0	8.0
2	25	11.2	1.0	12.2
1	26	25.7	3.0	28.7
2	27	12.2	0.0	12.2
1	28	25.7	3.0	28.7
1	29	25.7	3.0	28.7
2	30	18.4	3.0	21.4
1	31	2.0	0.0	2.0
1	32	25.7	3.0	28.7
1	33	25.7	3.0	28.7
2	34	7.3	0.0	7.3
1	35	25.7	3.0	28.7

1	36	25.7	3.0	28.7
1	37	25.7	3.0	28.7
3	38	18.8	4.1	22.9
1	39	25.7	3.0	28.7
1	40	25.7	3.0	28.7
1	41	25.7	3.0	28.7
1	42	25.7	3.0	28.7
1	43	25.7	3.0	28.7

Tableau S2. WHO classification according to the oral and dermal values of the LD₅₀ for the rat (World Health Organization, 2020)

Class		LD ₅₀ for the rat (mg/kg body weight)	
		Oral	Dermal
Ia	Extremely hazardous	< 5	< 50
Ib	Highly hazardous	5 – 50	50 - 200
II	Moderately hazardous	50 – 2000	200 - 2000
III	Slightly hazardous	Over 2000	Over 2000
U	Unlikely to present acute hazard	5000 or higher	

Tableau S3. Collected data used to calculate HRI values associated with the 33 active substances mentioned in the survey (**World Health Organization, 2020; PPDB, 2023; Pesticide Action Network, 2023; SAgE pesticides, 2023**)

Active substance	Acute toxicity						Chronic toxicity				
	LD ₅₀ oral (mg/kg) (rat)	LD ₅₀ dermal (mg/kg) (rat)	LC ₅₀ inhalation (mg/L) (rat)	Skin irritant	Eye irritant	Skin sensitizer	Carcinogenic risk	Genotoxicity	Endocrine disruption	Reproduction effects	Development effects
Ametoctradin	> 2000	> 2000	> 5.5	Little or no irritant	Little or no irritant	No	Not likely to be carcinogenic to humans	No human genotoxicity	No evidence of endocrine disruption	No effect reported	No effect reported
Azoxystrobin	> 5000	> 2000	> 0.7	Little or no irritant	Slight irritant	No	Not likely to be carcinogenic to humans	No human genotoxicity	No evidence of endocrine disruption	No effect reported	No effect reported
Chlorpyrifos	223	202	> 0.2	Little or no irritant	Little or no irritant	No	Not likely to be carcinogenic to humans	No human genotoxicity	No evidence of endocrine disruption	No effect reported	Effect on humans suspected
Copper	1370	> 2000	> 1.7	Little or no irritant	Severe or extreme irritant	No	Not likely to be carcinogenic to humans	No human genotoxicity	No evidence of endocrine disruption	No effect reported	No effect reported

Copper oxychloride	1370	> 2000	> 1.7	Little or no irritant	Severe or extreme irritant	No	Not likely to be carcinogenic to humans	No human genotoxicity	No evidence of endocrine disruption	No effect reported	No effect reported
Copper sulfate	1370	> 2000	> 1.7	Little or no irritant	Severe or extreme irritant	No	Not likely to be carcinogenic to humans	No human genotoxicity	No evidence of endocrine disruption	No effect reported	No effect reported
Cymoxanil	760	> 2000	> 5.06	Little or no irritant	Little or no irritant	No	Not likely to be carcinogenic to humans	No human genotoxicity	No evidence of endocrine disruption	No effect reported	No effect reported
Cypermethrin	247	4920	2.5	Little or no irritant	Slight irritant	Yes	Not likely to be carcinogenic to humans	No human genotoxicity	No evidence of endocrine disruption	No effect reported	No effect reported
Deltamethrin	> 135	> 2000	2.2	Little or no irritant	Slight irritant	No	Not likely to be carcinogenic to humans	No human genotoxicity	No evidence of endocrine disruption	No effect reported	No effect reported
Difenoconazole	1453	> 2000	> 3.3	Little or no irritant	Slight irritant	No	Possible human carcinogen	No human genotoxicity	No evidence of endocrine disruption	No effect reported	No effect reported
Dimetomorph	3300	> 5000	> 4.24	Little or no irritant	Slight irritant	No	Not likely to be carcinogenic to humans	No human genotoxicity	No evidence of endocrine disruption	No effect reported	No effect reported

Fenhexamid	> 5000	> 5000	> 5.02	Little or no irritant	Little or no irritant	No	Not likely to be carcinogenic to humans	No human genotoxicity	No evidence of endocrine disruption	No effect reported	No effect reported
Folpet	> 5000	> 5000	0.34	Little or no irritant	Moderate irritant	Yes	Possible human carcinogen	No human genotoxicity	No evidence of endocrine disruption	No effect reported	Effect on animals confirmed
Fosetyl aluminium	> 5000	> 3000	> 1.73	Little or no irritant	Severe or extreme irritant	No	Not likely to be carcinogenic to humans	No human genotoxicity	No or inadequate data	No effect reported	No effect reported
Imidacloprid	524	> 5000	> 5.23	Little or no irritant	Little or no irritant	No	Not likely to be carcinogenic to humans	No human genotoxicity	No evidence of endocrine disruption	No effect reported	No effect reported
Iprovalicarb	> 5000	> 5000	> 5	Little or no irritant	Little or no irritant	No	Not likely to be carcinogenic to humans	No human genotoxicity	No evidence of endocrine disruption	No effect reported	No effect reported
Lambda-cyhalothrin	56	632	0.065	Slight irritant	Little or no irritant	No	Possible human carcinogen	Potential human genotoxicity	Potential endocrine disruptor	No effect reported	Effect on humans suspected
Mancozeb	> 5000	> 5000	5.14	Little or no irritant	Moderate irritant	No	Probable human carcinogen	Potential human genotoxicity	Potential endocrine disruptor	No effect reported	No or inadequate data

Mandipropamid	> 5000	> 5000	> 5	Little or no irritant	Little or no irritant	No	Not likely to be carcinogenic to humans	No human genotoxicity	No evidence of endocrine disruption	No effect reported	No effect reported
Meptyldinocarp	1600	> 5000	5.1	Little or no irritant	Severe or extreme irritant	Possible	Not likely to be carcinogenic to humans	No human genotoxicity	No or inadequate data	No effect reported	No effect reported
Metalaxyl (and Metalaxyl M)	669	6000	3.6	Little or no irritant	Moderate irritant	No	Not likely to be carcinogenic to humans	No human genotoxicity	No evidence of endocrine disruption	No effect reported	No effect reported
Metiram	> 5000	> 2000	5.7	Little or no irritant	Slight irritant	Yes	Probable human carcinogen	Potential human genotoxicity	Potential endocrine disruptor	No or inadequate data	Effect on humans suspected
Metrafenone	> 5000	> 5000	304	Little or no irritant	Little or no irritant	No	Possible human carcinogen	No human genotoxicity	No evidence of endocrine disruption	No effect reported	No effect reported
Myclobutanil	1600	> 5000	5.1	Little or no irritant	Severe or extreme irritant	Possible	Not likely to be carcinogenic to humans	No human genotoxicity	No or inadequate data	No effect reported	No effect reported
Penconazole	> 2000	3000	4.05	Little or no irritant	Little or no irritant	No	Not likely to be carcinogenic to humans	No human genotoxicity	No or inadequate data	Effect on humans suspected	Effect on humans suspected
Propineb	> 5000	> 5000	> 2.42	Slight irritant	Little or no irritant	Possible	Not likely to be carcinogenic to humans	No human genotoxicity	No or inadequate data	No effect reported	No effect reported

Proquinazid	4846	> 5000	5.2	Little or no irritant	Little or no irritant	No	Possible human carcinogen	No human genotoxicity	No or inadequate data	Effect on humans suspected	Effect on humans suspected
Spiroxamine	500	12	2	Severe or extreme irritant	Little or no irritant	Possible	Not likely to be carcinogenic to humans	No human genotoxicity	No evidence of endocrine disruption	No effect reported	Suspected effects in animals
Sulphur (trituration and wettable)	> 5000	> 2000	> 2.56	Little or no irritant	Slight irritant	No	Not likely to be carcinogenic to humans	No human genotoxicity	No evidence of endocrine disruption	No effect reported	No effect reported
Tebuconazole	1700	> 5000	> 0.371	Little or no irritant	Slight irritant	No	Possible human carcinogen	No human genotoxicity	No evidence of endocrine disruption	No effect reported	Effect on humans confirmed
Thiametoxam	> 1563	2000	> 3.72	Little or no irritant	Little or no irritant	No	Not likely to be carcinogenic to humans	No human genotoxicity	Potential endocrine disruptor	Effect on animals suspected	No or inadequate data
Thiophanate methyl	> 5000	2000	1.7	Little or no irritant	Little or no irritant	Yes	Probable human carcinogen	Potential human genotoxicity	Potential endocrine disruptor	No effect reported	No or inadequate data
Triadimenol	721	5000	0.954	Little or no irritant	Moderate irritant	No	Probable human carcinogen	No human genotoxicity	Potential endocrine disruptor	Effect on humans suspected	No effect reported

Tableau S4. Collected data used to calculate ERI values associated with the 33 active substances mentioned in the survey (**Pesticide Action Network, 2023; PPDB, 2023; SAgE pesticides, 2023**)

Active substance	T	O	O	M/B/P		
	LD ₅₀ (Oral/Dermal) (µg/bees)	LD ₅₀ <i>Anas platyrhynchos</i> (mg/kg body weight)	LD ₅₀ <i>Colinus virginianus</i> (mg/kg body weight)	Organic carbon-coefficient of adsorption (mL/g)	Octanol-water partition coefficient	Half –life in soil (anaerobic conditions) (TD ₅₀)
Ametoctradin	100	200	-	1580	4.4	6.4
Azoxystrobin	25	-	2130	300	2.5	94.5
Chlorpyrifos	0.04	-	32	2785	4.7	68
Copper	100	-	511	16720	0.44	10000
Copper oxychloride	100	-	511	16720	0.44	10000
Copper sulfate	100	511	-	16720	0.44	10000
Cymoxanil	25	2250	-	43.6	0.67	1
Cypermethrin	0.023	9520	-	20800	6.6	54.3
Deltamethrin	0.002	4640	-	269587	4.6	19.2
Difenoconazole	100	2150	-	2237	4.4	855.5
Dimethomorph	50	2000	-	290	2.58	74
Fenhexamid	200	-	2000	446	3.51	50
Folpet	12.1	2000	-	7.4	3.02	2
Fosetyl aluminium	>100	8000	-	311	-2.1	1
Imidacloprid	0.004	283	-	41	0.57	336.5
Iprovalicarb	199	2000	-	106	3.2	15
Lambda-cyhalothrin	0.038	5950	-	70100	7	36.9
Mancozeb	153	1600	-	283	0.26	0
Mandipropamid	200	1000	-	405	3.13	68

Meptyldinocarp	84.8	510	-	-	6.55	15
Metalaxyl (and Metalaxyl M)	25	1466	-	165	1.45	40
Metiram	100	-	2150	111	0.3	0.7
Metrafenone	100	2025	-	934	4.3	256
Myclobutanil	100	-	510	225.7	2.9	691
Penconazole	30	1590	-	-	3.72	117
Propineb	100	5000	-	-	-0.26	< 10
Proquinazid	125	-	2250	-	5.5	60.4
Spiroxamine	4.2	565	-	659	2.89	48.9
Sulphur (tritulating and wettable)	100	-	2000	1950	0.23	30
Tebuconazole	176	-	1200	462	3.7	770
Thiametoxam	0.005	576	-	33	-0.13	92.5
Thiophanate methyl	100	4640	-	118	1.5	0.7
Triadimenol	200	-	2000	780	3.8	36.5

Section expérimentale

Etude 3: Influence of Phytosanitary Practices in Tunisian Vineyards on the Presence of Pesticide Residues in Winegrapes

Adapted from Mechichi G, Scippo M-L, Daaloul O, Chaabane H and Joly L. 2023. Influence of phytosanitary practices in Tunisian vineyards on the presence of pesticide residues in winegrapes. Am J Enol Vitic 74:0740029.DOI: 10.5344/ajev.2023.23016

Préambule

Cette étude vise à mettre en évidence la corrélation entre les pratiques phytosanitaires (dose, période et fréquence d'application) et la présence de résidus de pesticides dans les raisins de cuve collectés durant les campagnes agricoles 2018-2019 et 2019-2020. La méthodologie employée notamment la collecte des échantillons de raisins de cuve et l'analyse des résidus (réalisée dans le laboratoire Belge Sciansano) a été décrite dans la partie matériels et méthodes.

Les principaux résultats ont été rapportés dans la partie résultats et discussion, où il a été constaté que 33 % des échantillons de raisins de cuve dépassaient les LMR européennes et internationales pour des substances actives non-approuvées en Europe, telles que le chlorpyrifos-éthyl, l'iprodione, le diméthoate, et pour le non-respect de la dose recommandée pour le carbendazime.

Abstract

Backgrounds and goals: No research or monitoring plans on wine grapes have yet been established regarding Tunisia's pesticide residues. Therefore, the correlation between Tunisian wine-growing phytosanitary practices and pesticide residue presence in wine grapes was evaluated. Comparisons were made with Tunisian legislation regarding the use of active substances and with European Union legislation and Codex Alimentarius regarding pesticide residues.

Methods and key findings: A survey was conducted in northeastern Tunisia. During two growing seasons (2018-2019 and 2019-2020), the phytosanitary practices of approximately 40 winegrowers were investigated. Simultaneously, 53 and 55 wine grape samples were collected and analyzed for pesticide residues by liquid and gas chromatography coupled with tandem mass spectrometry.

According to the survey, winegrowers respected pre-harvest intervals, but some deviations from Tunisian legislation were observed in commercial product selection and dosage recommendations. Less than 15% of the applications of active substances in the vineyards led to the detection of residues in wine grape samples. Approximately 40% of the detected residues came from active substances not reported by the surveyed winegrowers. Drift from neighboring fields and degradation products of approved substances could explain at least half of these unexpected findings. Finally, exceedances of maximum residue levels (MRL) from EU legislation were observed in 36 samples. In contrast, Codex Alimentarius MRLs were exceeded in three samples.

Conclusions and significance: It is recommended that the Tunisian authorities provide training for winegrowers regarding good agricultural practices and implement a monitoring program to ensure the correct use of phytosanitary products in the vineyards.

Keywords: Phytosanitary practices, wine grapes, pesticide residues, MRL exceedance

1. Introduction

Wine is one of the most popular alcoholic beverages worldwide, with an estimated world production of 260 million hL in 2020 (OIV 2021). Since 2013, Tunisian wine production has been steady at ~200,000 hL/year (GIFruits, 2021b), representing ~1% of the world's production (OIV, 2021). Although Tunisian wine is mainly addressed to the local market, it is also exported to Japan, Morocco, and several European countries, such as France, Belgium, and the Netherlands (GIFruits, 2021b). The wine sector regularly suffers from economic losses due to pests (mainly the vine mealybug [*Planococcus ficus*] and green leafhopper [*Empoasca vitis*] [Caboni and Cabras, 2010]) and fungal diseases such as downy mildew (caused by *Plasmopara viticola*), powdery mildew (caused by *Erysiphe necator*), and grey mold (caused by *Botrytis cinerea*) (Edder *et al.*, 2009; González-Rodríguez *et al.*, 2009a). Plant protection products, also known as phytosanitary products, enhance wine quality and prevent and control damages caused by these bioaggressors (Edder *et al.*, 2009). However, misusing these chemicals can threaten the environment and human and animal health ((Kaur and Garg, 2014; Yadav and Devi, 2017). Therefore, Tunisian legislation listed the registered commercial products for each type of culture (AgriDATA, 2021); despite this, no monitoring plan has yet been implemented to evaluate the correct application of this legislation. Because there have been no updates to the Tunisian standard for maximum residue levels (MRL; NT 117.03 [1983]) since its registration in 1986 (JORT, 1986), Tunisian authorities have recommended use of the European Union (EU) legislation to ensure consumer security (ATPP, 2009). Moreover, as Tunisian wines are exported to diverse countries, sample compliance can be evaluated by comparing the pesticide residue concentrations with MRLs for winegrapes as set by the European Commission regulation n°396/2005 (EPCEU, 2005) or by the Codex Alimentarius (FAO/WHO, 2021). Consequently, studies must be monitored to improve Tunisian wine safety and quality, by way of detecting nonapproved phytosanitary products or investigating whether the MRLs of approved phytosanitary products have been exceeded. In 2019, ~94% of Tunisian table grape samples exceeded the MRL for at least one pesticide residue (Bouagga *et al.*, 2019a). Since then, no research or monitoring plan has been conducted to evaluate the pesticide residue concentrations in Tunisian winegrapes. Therefore, this paper highlights the correlation between Tunisian grapegrowing phytosanitary practices and pesticide residue presence in winegrapes. Tunisian legislation regarding the use of active substances and EU and *Codex Alimentarius* legislation regarding pesticide residues have been compared.

2. Materials and methods

2.1. Grapegrower study design

This study was conducted during the 2018 to 2019 and 2019 to 2020 growing seasons in two major Tunisian grapegrowing regions, Grombalia and Bou Argoub. These regions belong to the governorate of Nabeul, located in the northeast of Tunisia, where ~70% of national production wineries are located. In 2018 to 2019 and 2019 to 2020, a questionnaire was distributed among 41 and 43 grapegrowers, respectively, to determine the phytosanitary practices of the five wineries represented by these grapegrowers (Appendix).

During the two growing seasons in which the questionnaire was distributed, the surveyed grapegrowers were guided by agricultural advisors associated with each winery. These advisors established a phytosanitary program for each grapegrower that dealt with the applied commercial products, doses, treatment periods, frequencies of use, and preharvest interval (PHI).

2.2. Wine grape sampling

One kilogram of grapes was randomly collected in the wineries for each grape cultivar produced by each surveyed grapegrower during the summers of 2019 and 2020 (53 and 55 samples, respectively). These samples were mainly (83%) red grape cultivars (Syrah, 35%; Carignan, 24%) and other less abundant varieties (Marselan, Grenache black, Cinsault), but fewer samples of white grape species were sampled (17%, including Muscat, Razzegui, Clairette, Sauvignon blanc, and Grenache blanc) to be representative of local production (Supplemental Table 1).

The samples were then individually blended, homogenized, and stored in Falcon tubes (50 mL) at -20°C until analysis.

2.3. Pesticide residues analysis in wine grapes

Samples collected from each vineyard were analyzed using three quantitative analytical procedures validated and accredited by the Belgian accreditation body (BELAC) according to ISO standard 17025 (ISO/IEC 17025, 2017). Approximately 367 active substances (Supplemental Table 2), including their metabolites, were investigated. However, 6 reported active substances, corresponding to 4 pesticide residues (i.e., inorganic pesticides based on copper, sulfur), fosetyl aluminum (a very polar compound), and meptyldinocap (because of degradation during analysis), required specific analytical methods and were, therefore, not included in this study.

2.3.1. Standards

Analytical standards were purchased from LGC standards (Teddington, United Kingdom). Carbon disulfide (CS₂) (Chromasolv) with a purity >99% was purchased from Sigma. Depending on the solubility of each pesticide, a stock solution (at a concentration of 1 mg/mL) was prepared in acetonitrile, acidified with 0.1% acetic acid, acetone, or isooctane for standards amenable to liquid chromatography (LC), gas chromatography (GC), or CS₂, respectively. Mixes of standard solutions at 10, 1, and 0.1 µg/mL for standards amenable to LC; 50, 5, and 1 µg/mL for standards amenable to GC; and 40 µg/mL for CS₂, prepared by the appropriate dilutions, were used for control samples and calibration standards.

2.3.2. Multi-residues LC-MS/MS analysis

About 246 pesticide residues, including their metabolites, amenable to LC (Supplemental Table 2), were analyzed as described (Hanot *et al.*, 2015). Briefly, 10 g of homogenized samples were extracted with 40 mL of a methanolic solution blended with a high-speed disperser (Ultra Turrax, IKA) for one minute. The extract was then filtered and diluted before injection into an ultra-performance liquid chromatography system (UPLC) coupled to a tandem mass spectrometer (MS/MS) (UPLC-Quattro Premier from Waters) with an electrospray ionization source working in positive and negative modes. A reversed-phase column ACQUITY BEH C18 (1.7 µm, 2.1 × 100 mm) was used at 45°C.

2.3.3. Dithiocarbamates analysis

Maneb, mancozeb, metiram, propineb, thiram, and ziram belong to the dithiocarbamates (DTCs), a chemical class of fungicides. DTCs are not stable and cannot be extracted or analyzed directly. Consequently, the DTC extraction procedure consists of quantitatively converting DTCs to CS₂ (EURL-SRM, 2009). Briefly, acidic hydrolysis was performed for two hours on 12.5 g of the sample using Tin(II)/HCl (1/1) in a closed bottle at 80°C. After cooling, the CS₂ gas produced was absorbed into isooctane and measured using a GC system (Agilent 7890B) equipped with an Agilent.

2.3.4. Multi-residues GC-MS/MS analysis

Apolar and volatile pesticide residues (140), including their metabolites (Supplemental Table 2), were analyzed using GC-MS/MS (Bouagga *et al.*, 2019a). Briefly, 10 g of each sample were blended with 20 mL of acetone with a highspeed disperser (Ultra Turrax, IKA) for one minute. The obtained extract was filtered, then purified by precipitating with aqueous ammonium chloride/phosphoric acid (1%/1%) solution and partitioning with di-isopropyl ether. The purified extract was analyzed using the equipment mentioned in the “Dithiocarbamates analysis” section. This analysis allowed the assessment of ~150 active substances (parents and their metabolites).

2.3.5. Quality control

The analytical procedures were validated according to the SANTE/12682/2019 guideline (EURL, 2019), and participation in various proficiency tests on fruits and vegetables organized by the European Reference Laboratory was successful. Limits of quantifications (LOQ), the lowest concentrations at which the method was validated, were 0.01 mg/ kg, with the exception of CS₂ (0.05 mg/kg). To ensure the day-to-day reliability of results and according to the requirements of the SANTE/12682/2019 guideline, each batch of samples was accompanied by a procedural blank and two control samples (i.e., blank grapes were fortified with the assessed pesticides at concentrations corresponding to the LOQ, and also at concentrations of 10 times the LOQ). Similarly, guideline criteria should be respected for each detected active substance: (i) the retention time of the pesticide in the sample and the standard should not differ by more than 0.1 min; and (ii) the ion ratio of the two most abundant product ions (that is, two multiple reaction monitoring transitions) should be within the range of 30% compared to the closest calibration standard. Two standards, including the lowest calibration point equal to the LOQ, were injected at the beginning and the end of each batch to ensure that no loss of sensitivity or instrumental deviation occurred during the batch analysis (acceptable deviation ≤ 30). A calibration curve (linear or quadratic) consisted of at least five calibration standards. The deviation of the back-calculated concentration from the true concentration for each calibration curve should be below 20%. The expanded measurement uncertainty was assessed and was below 50%, as indicated in SANTE/12689/2019 guideline.

2.4. Statistical analysis

The survey results were statistically analyzed with SPSS software (IBM SPSS Statistics version 19, 2010) using a χ^2 test with a 0.05 significance level to determine the relationship between the EU MRL exceedances in winegrapes and the applied doses. The degree of association between these two variables was then evaluated using a phi coefficient.

3. Results

3.1. Phytosanitary practices in Tunisian wine grapes

3.1.1. Annual treatment frequency

During the survey of the grapegrowers, it was noticed that most of the surveyed vineyards (71%) were treated eight or nine times per year, as recommended by agricultural advisors (Figure 1 and Supplemental Table 1). Twenty-three percent were treated less (between one and seven times), and only 6% were treated more than 10 times, including one up to 15 times. When comparing the results with literature data, it can be seen that the average of eight treatments per year observed in this study is lower

compared to Tunisian table grape vineyards, with a range of 10 to 24 treatments per year (Bouagga *et al.* 2019b). This difference in the number of treatments is likely because winegrapes are an intermediate product.

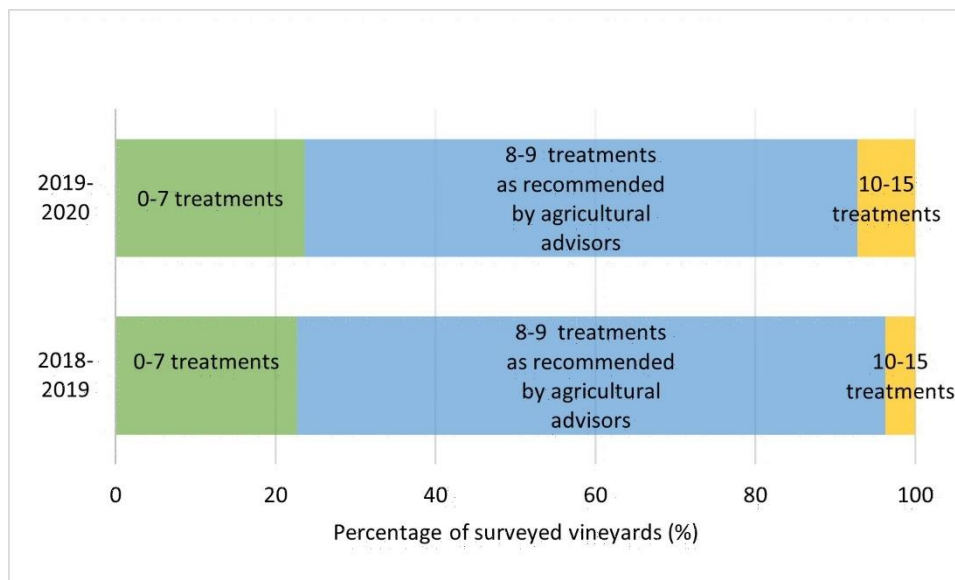


Figure 1. Number of treatments applied in surveyed vineyards during the 2018-2019 and 2019-2020 growing seasons (0-7 in green, 8-9 as recommended by agricultural advisors in blue, 10-15 in yellow)

Although wineries do not accept visual diseases, the visual aspect of grapes is less critical to them than to consumers. In addition, winegrapes have shorter storage times and less transportation than table grapes. The average national treatment frequency for the French wine vineyards in 2016 was 20 for similar cultivars (Simonovici, 2019). Climate differences could explain this discrepancy.

The surveyed grapegrowers reported using 19 and 37 phytosanitary products containing 19 and 33 different active substances in growing seasons 2018-19 and 2019-20, respectively (Table 1). The percentages that follow are the average of the two seasons unless there is a clear difference between both seasons. Fungicides were the most reported products (79%), followed by insecticides (21%). The surveyed grapegrowers did not report using any herbicides or miticides during this survey. The proportion of applied fungicides and insecticides corroborated the observation of Bouagga et Chaabane (2016), on Tunisian table grapes in 2015, with fungicides and insecticides accounting for 64% and 35% of the total amount of applied pesticides, respectively.

1 **Table 1.** Information on the commercial products associated with phytosanitary practices reported by the surveyed grapegrowers. PHI: Preharvest interval

Target disease	Commercial Product	Active substances	Recommended dose per single application	Range of applied doses per single application	Phenological stages of the application (PHI applied after the last spray)	Frequency of application per growing season	Number of users	
							Season 2018-2019 n = 41	Season 2019-2020 n = 43
<i>Fungicides</i>								
Downy mildew								
	- ^a	Sulphur	15000 mg/L	5000-10000 mg/L	Budbreak /bunch closure/last spray (21 days)	[1-3]	41	43
	- ^a	Copper	15000 mg/L	4000-15000 mg/L	Budbreak /bloom/fruit set	[1-4]	41	43
	Armetil M [®]	metalaxyl, mancozeb	2500 mg/L	2500 mg/L	Budbreak	1	0	1
	Caiman [®]	Mancozeb	3500 mg/L	3500 mg/L	Budbreak /bloom	[1-3]	28	28
	Cassiopee [®]	fosetyl aluminium, folpet, iprovalicarb	2000 g/ha	2000 g/ha	Bloom	1	26	26
	Filal [®]	fosetyl aluminium	3000 mg/L	3000 mg/L	Veraison	1	0	1
	Melody	propineb, iprovalicarb	2000 mg/L	2500 mg/L	Bunch closure	1	28	26
	Duo [®]							
	Mikel	folpet, fosetyl aluminium	2000 mg/L	2000-2500 mg/L	Budbreak	1	36	34
	Flash [®]	tribasic copper sulphate, cymoxanil	3500 mg/L	3500 mg/L	Bunch closure	1	0	1
	Moltovin [®]							
	Orvego ^{® b}	ametoctradin, dimethomorph	800 mg/L	800 mg/L	Bloom	1	0	1
	Penncozeb [®]	Mancozeb	3500 mg/L	3500 mg/L	Bloom	1	0	1
	Polyram [®]	Metiram	2000 mg/L	2500 mg/L	Budbreak	1	0	1

	Procuivre [®]	copper oxychloride	4000 mg/L	7500 mg/L	Bunch closure	1	0	27
Gold [®]	Ridomil	metalaxyl, mancozeb	2500 mg/L	2500 mg/L	Fruit set/bunch closure/veraison	[1-3]	4	32
	Triziman [®]	mancozeb	3500 mg/L	3500 mg/L	Budbreak / bunch closure	[1-2]	29	29
Grey mold								
	Pelt [®]	thiophanate- methyl	25 mL/L	25 -70 mL/L	Veraison	1	5	30
	TeL Dor [®]	fenhexamid	0.075 mL/L	1 mL/L	Last spray (21 days)	1	26	26
Powdery mildew								
Gold [®]	Altitut	azoxystrobin, tebuconazole	5 mL/L	3 mL/L	Bloom	1	0	1
	Aurige [®]	thiophanate- methyl	500 mg/L	1000 mg/L	Bunch closure	1	0	1
	Bayfidan [®]	triadimenol	0.15 mL/L	0.2 mL/L	Bunch closure	[1-2]	27	28
b	Carial Top [®]	mandipropamid, difenoconazole	Not registered on wine grape	0.5 mL/L	Bunch closure	1	0	1
	Karathane [®]	meptyldinocap	2 mL/L	2- 2.5 mL/L	Bloom	1	5	30
	Prosper [®]	spiroxamine, mancozeb	0.5 mL/L	0.5 mL/L	Fruit set/bunch closure	2	0	1
	Score [®]	difenoconazole	2 mL/L	2.5 mL/L	Fruit set	1	2	4
	Systhane [®]	myclobutanil	2 -3 mL/L	2 mL/L	Fruit set	1	2	27
	Talendo [®]	proquinazid	0.25 mL/L	0.25 mL/L	Budbreak /bloom	2	2	2
	Topaz [®]	penconazole	0.25 mL/L	0.25 mL/L	Budbreak /bunch closure	[1-3]	32	31
	Vivando [®]	metrafenone	0.2 L/ha	0.2 L/ha	Fruit set	1	0	1
Insecticides								
<i>Aphids + Grape mealybug</i>								
	Borey [®] b	lambda- cyhalothrin, imidacloprid	0.03 mL/L	0.03 mL/L	Bunch closure	1	0	1
<i>European grapevine moth</i>								

	Decis®	deltamethrin	0.05 mL/L	0.01 mL/L	Bunch closure	[1-2]	5	1
	Deltacal®	deltamethrin	0.05 mL/L	0.05 mL/L	Bloom	1	0	2
<i>Green leafhopper</i>								
	Akopride®	imidacloprid	0.015 mL/L	0.035 mL/L	Last spray (21 days)	1	0	1
	Confidor®	imidacloprid	0.035 mL/L	0.035 mL/L	Veraison/last spray (30 days)	1	27	28
	Nuprid®	imidacloprid	0.035 mL/L	0.035 mL/L	Bunch closure/last spray (21 days)	[1-2]	30	8
	Pyrical®	chlorpyrifos	1 mL/L	1 mL/L	Bunch closure/last spray (21 days)	[1-2]	26	28
	Selene®	cypermethrin	Not registered on wine grape	0.94 mL/L	Budbreak	1	0	1

^a: name of the commercial product was not reported by grapegrowers.

^b: commercial products not registered for the grape in Tunisia.

The phytosanitary issues reported during the survey were mainly related to fungal diseases such as downy mildew, grey mold, and powdery mildew, while the most reported pest was the green leafhopper (*Empoasca vitis*) (Table 1). Additionally, it should be noted that eight grapegrowers cultivated more than one grape cultivar, while 14 combined the cultivation of winegrapes with other crops, such as citrus or olives.

3.1.2. Applied fungicides and insecticides

Most commercial fungicides were applied once during the season, except for inorganic active substances (e.g., sulfur and copper) and products based on mancozeb, which were applied one to four times per growing season, depending on the phytosanitary state and the climatic conditions related to the disease occurrence (Table 1).

Other treatments were combined with these inorganic pesticides. Phthalimides (folpet, 88 and 67% in growing seasons 2018 to 2019 and 2019 to 2020, respectively), ethyl phosphonates (fosetyl aluminum, 88 and 67% in growing seasons 2018 to 2019 and 2019 to 2020, respectively), triazoles (triadimenol, 66%), and DTCs (mancozeb, 67%) were used to control downy and powdery mildew. Grey mold was controlled by applying either fenhexamid (61% of the grapegrowers surveyed in the growing season 2018 to 2019) or mancozeb and thiophanate-methyl (79% of grapegrowers in the growing season 2019 to 2020). This difference between the seasons could be explained by the advisor's willingness to alternate modes of action to limit the development of *Botrytis* resistance (Harper *et al.*, 2022). Indeed, fenhexamid is a preventive fungicide that inhibits sterol biosynthesis, while thiophanate-methyl is a preventive and curative fungicide inhibiting microtubule assembly. Insecticides were applied one to two times by 80% of the surveyed grapegrowers, whereas 20% did not use any insecticides. The applied insecticides belong mainly to the classes of neonicotinoids (chlorpyrifos, 64%) and organophosphates (imidacloprid, 75%).

3.1.3. Preharvest interval (PHI)

The PHI is the minimum time between the last pesticide application and when the crop can be harvested and is indicated on the labeled phytosanitary product. In this study, all final spray applications, with a PHI mainly between 21 and 30 days, complied with the specifications of the commercial products and recommendations of the agricultural advisors. Only sulfur, an inorganic fungicide without a PHI, was applied in the final sprays three to 15 days before harvest.

3.2. Analysis of pesticide residues in Tunisian wine grapes

A total of 108 winegrape samples were analyzed, including 53 and 55 collected during the growing seasons 2018 to 2019 and 2019 to 2020, respectively.

The mean residues per sample are very similar in both seasons, with 1.7 and 2.3 for the growing seasons 2018 to 2019 and 2019 to 2020, respectively. No residues were detected in 36 and 16% of the samples for the respective growing seasons. Although the maximum residues detected per sample differed for both seasons, with six residues simultaneously detected in 2018 to 2019 and nine residues in 2019 to 2020 (Figure 2 and Supplemental Table 3), these results are similar to a Slovenian study in which the highest number of residues detected was seven per winegrape sample (Česnik et al., 2008).

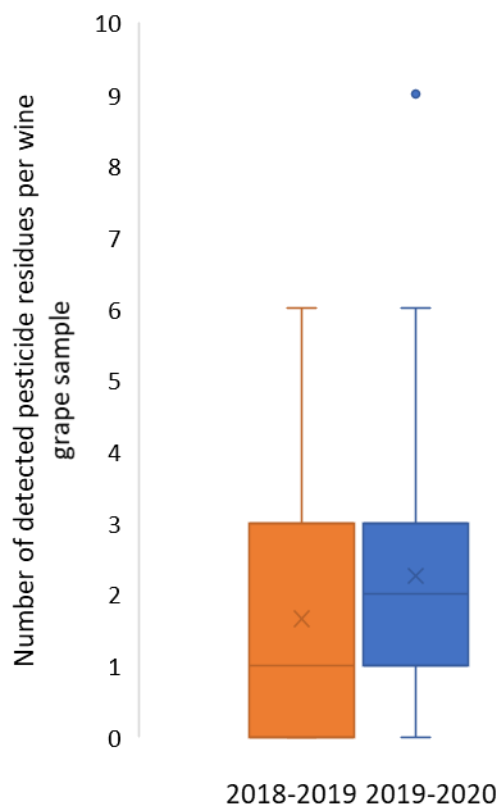


Figure 2. Number of pesticide residues detected per wine grapes sample during the 2018-2019 and 2019-2020 growing seasons. Boxes indicate 25th, 50th, and 75th percentiles; whiskers (error bars) represent minimum and maximum; the blue circle indicates an outlier; and the mean is represented by an 'x'.

Nevertheless, these values are lower than those detected in Tunisian table grape vineyards, which often exceed 20 residues per sample, with an average of 11.6 residues per table grape sample (Bouagga *et al.*, 2019a). These results confirm the high frequency of chemical treatments applied to table grapes in Tunisia compared to winegrapes (Table 1).

The current study showed that 22 out of 53 (2018-2019) and 33 out of 55 (2019-2020) of the analyzed winegrapes contained multiple pesticide residues (Figure 2, Supplemental Table 3), which is consistent with the 52% of the wine grapes from different European countries containing multiple residues (European Food Safety Authority (EFSA), 2021). According to EU legislation, multiple residues within a sample remain compliant as long as each individual residue concentration does not exceed the individual MRL. However, EFSA conducted deterministic and probabilistic exposure assessments for single and multiple pesticides (European Food Safety Authority (EFSA) *et al.*, 2021).

Table 2. Analytical results of the winegrapes and compliance evaluation of the active substances during the growing seasons 2018-19 and 2019-20

Pesticide residue	Concentration range	Number of detections in wine grape samples		Number of non-compliant samples with EU legislation		Number of non-compliant samples with Codex Alimentarius	
	LOQ-max (mg/kg)	2018-2019	2019-2020	2018-2019	2019-2020	2018-2019	2019-2020
		n= 53	n = 55	n= 53	n = 55	n= 53	n = 55
a) for reported active substances							
Ametoctradin	<0.01-0.016	0	1	0	0	0	0
Chlorpyrifos	<0.01-0.22	10	17	10	17	0	0
lambda-cyhalothrin	<0.01-0.018	0	3	0	0	0	0
Deltamethrin	<0.01-0.035	0	4	0	0	0	0
Difenoconazole	<0.01-0.12	0	2	0	0	0	0
Dimethomorph	<0.01-0.052	3	0	0	0	0	0
dithiocarbamates expressed as CS ₂ ^a	<0.05-2.9	12	17	0	0	0	0
Fenhexamid	<0.01-0.51	4	8	0	0	0	0
Folpet	<0.01-0.025	2	0	0	0	0	0
Imidacloprid	<0.01-0.56	15	28	0	0	0	0
Iprovalicarb	<0.01-0.26	2	10	0	0	n.i.	n.i.
Metalaxyl	<0.01-0.051	2	0	0	0	0	0
Myclobutanil	<0.01-0.015	1	0	0	0	0	0
thiophanate-methyl	<0.01-0.44	5	7	0	0	0	0
b) for not reported active substances							
Azoxystrobin	<0.01-0.024	0	1	0	0	0	0
Boscalid	<0.01-0.77	9	3	0	0	0	0
carbendazim	<0.01-0.75	9	13	0	2	0	0
Cyprodinil	<0.01-0.31	0	1	0	0	0	0
diclofop ^b	<0.01-0.044	1	0	1	0	n.i.	n.i.

dimethoate	<0.01-0.021	0	1	0	1	0	0
fluazifop ^c	<0.01-0.014	1	0	1	0	1	0
Iprodione	<0.01-0.35	3	3	3	3	0	0
metamitron	<0.01-0.049	3	0	0	0	n.i.	n.i.
Omethoate	<0.01-0.020	1	1	1	1	1	1
pyraclostrobin	<0.01-0.29	4	2	0	0	0	0

n.i.: not included; LOQ: limit of quantification; max: maximum concentration found.; ^a: dithiocarbamates expressed as CS₂, including maneb, mancozeb, metiram, propineb, thiram and ziram. ; ^b: sum of diclofop-methyl, diclofop acid and its salts, expressed as diclofop-methyl (sum of isomers).; ^c: Fluazifop-P (sum of all the constituent isomers of fluazifop, its esters and its conjugates, expressed as fluazifop).

The median concentration for each detected pesticide was below the corresponding LOQ (Table 2). The analysis of the wine grapes of both growing seasons revealed that 69 % of the detected active substances were fungicides, such as thiophanate methyl (benzimidazole, 12 samples), fenhexamid (hydroxyanilide, 12 samples), iprovalicarb (carbamate, 12 samples) with concentrations up to 0.75 mg/kg (Table 2). DTCs (mancozeb, metiram and propineb metabolites) expressed as CS₂ were detected in 29 samples with a maximal concentration of 2.9 mg/kg. The main insecticides detected were imidacloprid (43 samples) and chlorpyrifos (27 samples), while deltamethrin (4 samples) and lambda-cyhalothrin (3 samples) were only found in samples collected in 2019-20 (Table 2).

Ten other pesticide residues not reported by the winegrowers during the survey were detected, such as carbendazim (22 samples), boscalid (12 samples), pyraclostrobin (7 samples) and omethoate (2 samples) (Table 2b).

Table 3. Overview of winegrape legislation in different world regions

Active substance	Status of the active substance		MRL in winegrape	
	Tunisia ^a	Europe ^b	Europe ^b	Codex ^c
<i>a) reported active substances</i>				
Ametoctradin	+	+	6	6
Chlorpyrifos	+	-	0.01	0.5
lambda-cyhalothrin	+	+	0.2	0.2
Deltamethrin	+	+	0.2	0.2
Dimethomorph	+	+	3	3
Difenoconazole	+	+	3	3
Fenhexamid	+	+	13	15
Folpet	+	+	20	10
Imidacloprid	+	-	1	1
Iprovalicarb	+	+	5	n.i.
Mancozeb	+	-	5 ^d	5 ^d
Metalaxyl	+	+	1	1
Myclobutanil	+	-	1.5	0.9
Penconazole	+	+	0.5	0.4
Propineb	+	+	5 ^d	5 ^d
thiophanate-methyl	+	+ ^e	3	3 ^f
<i>b) not reported active substances</i>				
Azoxystrobin	+	+	3	2
Boscalid	+	+	5	5
Cyprodinil	+	+	3	3
Carbendazim	+	-	0.5	3 ^f
Diclofop	+	+	0.02 ^g	n.i.
Dimethoate	+	-	0.01 ^h	n.i.
Fluazifop	+	-	0.01 ^{hi}	0.01 ^j
Iprodione	+	-	0.01 ^h	10
Metamitron	+	+	0.01 ^h	n.i.
Omethoate	-	-	0.01 ^h	0.01
Pyraclostrobin	+	+	2	2
Pyrimethanil	+	+	5	4

MRL: Maximum Residues Levels.

+: approved.

-: not approved.

n.i.: not included.

^a: Association Tunisienne pour la protection des plantes 2019 (Association Tunisienne pour la protection des plantes, 2019).

^b: EU Pesticides database 2021 (European commission, 2021).

^c: Codex Alimentarius (FAO/WHO, 2023a).

^d: dithiocarbamates expressed as CS₂, including maneb, mancozeb, metiram, propineb, thiram and ziram.

^e: expiration of approval on 19/10/2020.

^f: sum of benomyl, carbendazim and thiophanate-methyl, expressed as carbendazim; ^g: sum of diclofop-methyl, diclofop acid and its salts, expressed as diclofop-methyl (sum of isomers).

^h: MRL values corresponding to the LOQ.

ⁱ: fluazifop-P (sum of all the constituent isomers of fluazifop, its esters and its conjugates, expressed as fluazifop).

^j: total fluazifop, defined as the sum of fluazifop-P-butyl, fluazifop-P-acid (II) and their conjugates, expressed as fluazifop-P-acid.

4. Discussion

4.1. Correlation between phytosanitary practices and detected pesticide residues

By comparing the active substance applied in each vineyard with the pesticide residues detected in the corresponding winegrape sample, it was shown that only ~15% (10% [48/489] for 2018 to 2019 and 20% [82/411] for 2019 to 2020) of the active substances applied in the vineyards were detected in the winegrape samples (Figure 3A). More than half of the applied active substances were never or rarely (< 1%, corresponding to 1 detection on 108 samples) detected, even among the most frequently applied substances, like folpet, metalaxyl, myclobutanil, penconazole and triadimenol.

When applied, fenhexamid was detected in ~23% of winegrape samples, although it was noted that fenhexamid concentrations decrease by 45% during ripening (Čuš *et al.*, 2010).

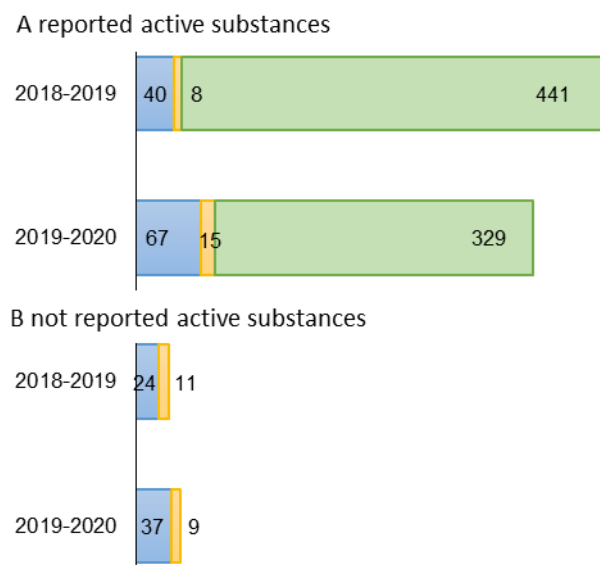


Figure 3 Occurrence of pesticide residues that are not detected (green), detected (blue) and exceeding the EU MRL (orange) for reported (A) and not reported (B) active substances in wine grape samples collected during 2018-2019 and 2019-2020 growing seasons.

Although commercial products containing mancozeb, zineb, and thiram were applied twice (on average) per growing season by >60% of the grapegrowers, DTCs expressed as CS₂ were detected in only 25% of the winegrapes, with a maximum concentration of 2.9 mg/kg.

The insecticides imidacloprid (applied once or twice per growing season by 75% of the grapegrowers) and chlorpyrifos (applied by 64% of the grapegrowers) were quantified in ~20 and 50% of the winegrapes, respectively, depending on the season. However, chlorpyrifos demonstrated a rapid dissipation rate (i.e., >90%) during ripening (Čuš *et al.*, 2010).

4.2. Detection of active substances non-reported during the survey

The study highlighted that 81 of the detected pesticide residues corresponded to active substances not reported by the interviewed grapegrowers (Table 2 and Figure 3B). These findings could result from drift from a neighboring field (24), degradation products of approved active substances (20), misreporting by grapegrowers (12), or active substances declared by growers other than those for which pesticide residues have been detected in their samples (26).

4.2.1. Drift from neighboring fields

Chemical treatments applied in neighboring fields could cause unintentional airborne movement of pesticides outside the target area (known as ‘drift’). In this study, boscalid, pyraclostrobin, and iprodione (12, six, and six samples, respectively) have been noted only for farmers cultivating neighboring parcels with other crops, such as citrus and olive trees, for which these active substances are approved and potentially used. Inappropriate use of pesticides under adverse weather conditions, poor application equipment, or even formulation droplet size could lead to drift contaminations (Kruger *et al.*, 2019).

4.2.2. Degradation products of approved active substances

Although omethoate was neither approved in Tunisia nor reported during the survey, this active substance was detected in one sample in both growing seasons. Because omethoate was identified as the major metabolite of dimethoate following biotic and abiotic degradation (Van Scoy *et al.*, 2016), these detections of omethoate could be due to dimethoate degradation, especially as both active substances were detected in the same sample. Carbendazim is a systemic fungicide active substance and the degradation product of thiophanate methyl, another systemic fungicide. Carbendazim residue was detected in 22 samples; only 18 grapegrowers declared using the thiophanate-methyl active substance, and zero grapegrowers declared the use of the carbendazim active substance (Table 1 and Supplemental Table 3). The use of commercial products containing thiophanate-methyl by the surveyed grapegrowers at doses 1.1 times higher than the approved dose could explain the detection frequency of this degradation product in the respective samples and the two EU MRL exceedances for carbendazim but cannot explain its detection in the four samples without reported carbendazim or thiophanate-methyl application. Some studies have shown the formation of metabolites from other active substances such as folpet, fenhexamid, penconazole, pyrimethanil, and cyprodinil in winegrape samples (Cabras *et al.*, 1997, Schusterova *et al.*, 2021), highlighting the importance of including the metabolites of active substances in analytical methods and residue definitions.

4.2.3. Misreporting by winegrowers

The presence of nonreported pesticide residues could also result from misreporting by the grapegrowers, although trained personnel collected the data and ensured grapegrowers did not omit or forget important details. Indeed, personal visits for the survey have the advantage of accuracy over telephone interviews, postal surveys, or collection of sales statistics (Thomas, 1999). Nevertheless, the detection of several substances could not be explained, such as carbendazim without a report of carbendazim or thiophanate methyl application in four samples; azoxystrobin, cyprodinil, diclofop, and fluazifop in one sample each; and metamitron in three samples. In addition, this small number of unexplained exceedances of EU MRLs (13 out of 82) concerns only a combination of non-EU-approved substances, which were not reported by the surveyed grapegrowers (Table 2).

4.3. Comparison with Tunisian legislation regarding the use of active substances

Deviations from Tunisian legislation (AgriDATA, 2021) were observed in the choice of commercial products and dose selection, but not in the applied timing (PHI) (Tables 1 and 3).

4.3.1. Selection of the commercial product

Three commercial products not registered for Tunisian winegrapes were reported by two different grapegrowers, namely the two fungicides Cerial Top[®] (mandipropamid and difenoconazole) and Orvego[®] (ametoctradin, dimethomorph), and the insecticide Borey (lambda-cyhalothrin, imidacloprid) (Table 1). According to the labels of these products, they could be used for winegrapes, but were actually registered in Tunisia for other crops such as potato or chili pepper (AgriDATA, 2021). These grapegrowers, who practice polycultures, used their commercial products for all their crops without considering the grape-specific registration.

4.3.2. Recommended doses

The surveyed grapegrowers applied eight fungicides using conditions not in line with the recommended dose. For example, thiophanate-methyl (Pelt) was applied two out of 35 times above the recommended dose, and up to 2.8 times higher. Similarly, an insecticide containing deltamethrin was used by one grapegrower at twofold the recommended dose during the same growing season. However, the applied doses of fenhexamid, triadimenol, mancozeb, metiram, iprovalicarb, and difenoconazole were only slightly higher than the recommended doses (ranging from 1.25 to 1.33 times the recommended dose). A statistical link between this overuse ($p = 0.039$, $X^2 = 4.250$) and EU MRL exceedances was brought forward in the respective samples, particularly for active substances where the applied dose was up to 2.8 times higher than the recommended dose. The phi coefficient 0.198 ($p = 0.039$) also confirmed this relationship.

It should be noted that the surveyed grapegrowers justified the non-observation of the labelled recommended doses by the pressure of both powdery mildew and grey mold, leading to the overuse of fungicide treatments.

4.3.3. PHI delay

PHIs of 21 to 30 days before harvest, reported on the labelled phytosanitary products and recommended by the agricultural advisors, were respected by all surveyed grapegrowers. Only sulphur (no PHI) was sprayed between 3 and 10 days before harvest (Table 1 and Supplemental Table 1). Respect for PHI in Greek wine harvest was correlated to pesticide residue concentrations well below the EU MRL for flufenoxuron, lufenuron, and tebufenozide (Likas and Tsiropoulos, 2011). In the same way, the application of spiroxamine (fungicide) seven days before harvest induced the presence of residues in 50% of the harvested Greek winegrapes, whereas only 10% of the winegrapes harvested 42 days after treatment contained residues of this compound (Tsiropoulos *et al.*, 2005). However, EU MRL exceedances reported in previous studies on Tunisian table grapes were related to the type of pesticide used, the number of applications, and the PHI (Bouagga *et al.*, 2019a).

4.4. Comparison with relevant legislation on pesticide residues

Because no MRLs are set in Tunisia for pesticide residues, the compliance of the samples was evaluated by comparing the measured concentrations with the MRL for winegrapes set by the European Regulation (EC) n°396/2005 ((EPCEU, 2005) and the Codex Alimentarius (FAO/WHO, 2023a).

4.4.1. European legislation

To avoid unacceptable health risks, EU scientific authorities set EU MRLs as low as reasonably achievable, considering good agricultural practices. EU MRL exceedances do not necessarily mean that there is a problem for the consumer but may indicate that a farmer has applied an excessive dose, has sprayed too late in the season, or has used an inappropriate phytosanitary product for the commodity. EU MRL exceedances were observed in 36 for six active substances at concentrations two to 30 times higher than the EU MRL.

MRL exceedances are mainly related to non-EU-approved active substances with MRL values equal to the LOQ, such as iprodione, dimethoate, omethoate and chlorpyrifos (Tables 2 and 3).

The only EU MRL exceedance concerning reported active substances was for chlorpyrifos, a not approved pesticide in the EU, proposed on behalf of the European Union to be listed in Annex A to the Stockholm Convention on persistent organic pollutants (ECHA, 2020; European commission, 2020).

Chlorpyrifos was applied in July (PHI = 35 days) by half of the surveyed winegrowers and detected above the EU MRL fixed at the LOQ in 40% of these samples.

Three herbicides, namely metamitron (approved, 3 samples), diclofop (approved, 1 sample) and fluazifop (not approved, 1 sample), were detected only in the first growing season samples at concentrations up to 0.049 mg/kg, although they were not reported (Table 2). Carbendazim was detected in two samples at concentrations of 0.63 and 0.75 mg/kg during the second growing season, exceeding the EU MRL fixed at 0.5 mg/kg (Table 2).

Other studies underlined the presence of pesticides in winegrapes at a concentration above the EU MRL. An EU MRL exceedance for chlorpyrifos in a winegrape sample among 20 samples collected from Hungary, the United State, Italy, Ukraine, and Spain was reported (Słowik-Borowiec and Szyrka, 2018). Similarly, a study carried out in Slovenia on 47 winegrape samples reported EU MRL exceedances for cyprodinil (18 samples) and fludioxonil (1 sample) among 67 pesticides analyzed (Česnik *et al.*, 2008). Furthermore, Corrias *et al.* (2021) investigated the presence of 115 active substances in 35 wine grapes in Italy and reported only two residues above the EU MRL, namely mandipropamid (in 3 samples) and mepanipyrim (in 1 sample).

4.4.2. Codex Alimentarius

When comparing Codex MRLs and EU MRLs, it could be seen that they were in accordance (or in the same order of magnitude), except for pesticides not approved in the EU (Table 3). Codex MRLs were exceeded for only two not reported substances, namely fluazifop (1 sample) and omethoate (1 sample during both growing seasons) (Table 2) (FAO/WHO, 2023a). Four pesticide residues (iprovalicarb, diclofop, metamitron and dimethoate) were not included in the Codex Alimentarius.

5. Conclusion

About 15% of the active substance applied in the vineyards were detected in the wine grape sample, while 40% of the detection originated from active substances not reported by the grapegrowers during both growing seasons. Drift from neighboring fields (boscalid and iprodione) and degradation products of approved active substances (omethoate, carbendazim) may explain most of these findings, while misreporting the use of some commercial products, probably because of their non-EU approval on wine grapes, are a minority.

According to the survey, grapegrowers respected PHI delays, but some deviations were observed with Tunisian legislation for selecting commercial products and the recommended doses. EU

MRL exceedances were mainly observed for non-EU-approved active substances, while Codex Alimentarius MRL exceedances were observed for only three samples.

Therefore, it is recommended that the Tunisian authorities train winegrowers on good agricultural practices and implement a monitoring program, including pesticide use and wine grapes analysis, to increase the Tunisian wine quality regarding pesticide residue contents. Further studies should also be carried out to highlight the transfer of these chemicals to wine.

*Supplemental data***Table S1.** Results of the questionnaire for the 41 and 43 grapegrowers surveyed during both growing seasons**A) Growing season 2018-19**

Winery code	Grapegrower code	Sample code	Grape's color	Cultivar name	Surface area (ha)	Application technics	Applicator	Number of treatments per year	Preharvest Interval (PHI) (days)
1	1	1	Black	Syrah	1	Back sprayer	Farmer	3	21
1	2	2	Black	Carignan	1	Back sprayer	Farmer	9	21
2	3	3	Black	Carignan	3	Trailed sprayer	Worker	12	21
1	4	4	Black	Grenache black	1	Back sprayer	Farmer	9	21
4	5	5	Black	Carignan	20	Trailed sprayer	Worker	7	30
4	5	6	White	Pedro	20	Trailed sprayer	Worker	9	30
1	6	7	Black	Carignan	3	Back sprayer	Farmer	9	21
1	7	8	Black	Syrah	15	Back sprayer	Farmer	9	21
1	8	10	Black	Syrah	2.5	Trailed sprayer	Worker	3	21
1	9	11	Black	Carignan	4	Trailed sprayer	Worker	6	21
2	10	12	Black	Syrah	8	Trailed sprayer	Worker	3	21
2	10	13	White	Grenache Blanc	1	Trailed sprayer	Worker	3	21
2	10	14	Black	Marselan	4	Trailed sprayer	Worker	9	21
1	11	9	Black	Marselan	3	Trailed sprayer	Worker	9	21
1	12	15	White	Razzequi	2	Trailed sprayer	Worker	9	21
1	12	16	Black	Carignan	4	Trailed sprayer	Worker	3	21
2	13	17	Black	Syrah	2	Back sprayer	Farmer	9	21
1	14	18	Black	Syrah	5	Back sprayer	Farmer	9	21
1	15	19	White	Chardonnay	5	Trailed sprayer	Worker	3	21
2	16	20	Black	Syrah	3	Back sprayer	Farmer	9	21
1	17	21	Black	Syrah	6	Trailed sprayer	Worker	3	21

2	18	22	Black	Syrah	3	Trailed sprayer	Worker	9	21
1	19	27	Black	Syrah	1	Back sprayer	Farmer	9	21
1	20	24	White	Sauvignon Blanc	1	Trailed sprayer	Worker	9	21
1	21	23	Black	Syrah	8	Trailed sprayer	Worker	9	21
1	22	25	White	Razzequi	1	Trailed sprayer	Worker	12	21
1	23	28	Black	Marselan	5	Back sprayer	Farmer	9	21
1	24	29	Black	Carignan	3	Trailed sprayer	Worker	5	21
2	25	30	Black	Syrah	2	Trailed sprayer	Worker	9	21
1	26	26	Black	Monique	4	Trailed sprayer	Worker	9	21
2	27	31	Black	Syrah	2	Trailed sprayer	Worker	3	21
1	28	32	Black	Carignan	2	Trailed sprayer	Worker	9	21
1	29	33	Black	Carignan	3	Trailed sprayer	Worker	7	21
1	29	34	Black	Carignan	3	Trailed sprayer	Worker	9	21
2	30	35	Black	Syrah	4	Trailed sprayer	Worker	9	21
1	31	36	Black	Marselan	1	Trailed sprayer	Worker	9	21
3	32	37	Black	Carignan	1.5	Trailed sprayer	Worker	9	21
3	33	43	Black	Carignan	10	Trailed sprayer	Worker	9	21
3	33	44	Black	Cabernet Sauvignon	8	Trailed sprayer	Worker	9	21
1	33	45	White	Clairette	5	Trailed sprayer	Worker	9	21
1	34	42	Black	Syrah	30	Trailed sprayer	Worker	9	21
1	35	38	White	Chardonnay	12	Trailed sprayer	Worker	9	21
1	35	39	Black	Cabernet Sauvignon	14	Trailed sprayer	Worker	9	21
1	35	40	Black	Merlot	55	Trailed sprayer	Worker	9	21
1	35	41	Black	Pinot	59	Trailed sprayer	Worker	9	21
1	36	46	Black	Carignan	10	Trailed sprayer	Worker	9	21
1	37	47	Black	Cinsault	12	Trailed sprayer	Worker	9	21
1	37	48	White	Merseguera	6	Trailed sprayer	Worker	9	21
1	37	49	White	Pedro	2	Trailed sprayer	Worker	9	21
1	38	50	Black	Syrah	6	Trailed sprayer	Worker	9	21
1	39	51	Black	Syrah	2	Trailed sprayer	Worker	9	21
1	40	52	Black	Syrah	1	Trailed sprayer	Worker	9	21
1	41	53	Black	Carignan	1	Trailed sprayer	Worker	9	21

B) Growing season 2019-20 (Winery and grapegrower codes have been reset from 2018-19 to 2019-20)

Winery code	Grapegrower code	Sample code	Grape's color	Cultivar name	Surface area (ha)	Application technics	Applicator	Number of treatments per year	Preharvest Interval (PHI) (days)
1	1	1	Black	Syrah	3	Trailed sprayer	Worker	9	21
1	2	4	Black	Carignan	2	Backpack sprayer	Farmer	3	21
1	3	2	Black	Carignan	1	Trailed sprayer	Worker	3	21
1	3	3	Black	Syrah	1	Trailed sprayer	Worker	3	21
1	4	5	Black	Syrah	8.5	Trailed sprayer	Worker	9	21
1	5	6	Black	Syrah	1	Trailed sprayer	Worker	2	21
4	6	7	White	Pedro	7	Trailed sprayer	Worker	8	30
4	6	8	Black	Carignan	21	Trailed sprayer	Worker	8	30
1	7	11	Black	Syrah	3	Trailed sprayer	Worker	15	10 ^a
1	8	12	Black	Syrah	2.5	Trailed sprayer	Worker	9	21
2	9	9	White	Muscat	3	Trailed sprayer	Worker	9	21
1	10	10	Black	Syrah	2	Trailed sprayer	Worker	9	21
1	11	14	Black	Carignan	2	Trailed sprayer	Worker	9	21
1	12	16	Black	Syrah	1.5	Trailed sprayer	Worker	9	21
1	13	13	Black	Syrah	1.8	Trailed sprayer	Worker	9	30
5	14	17	Black	Cabernet Sauvignon	6	Trailed sprayer	Worker	9	30
5	14	18	Black	Syrah	4.5	Trailed sprayer	Worker	9	21
1	15	19	White	Grenache blanc	1.5	Trailed sprayer	Worker	9	21
1	15	21	Black	Syrah	8	Trailed sprayer	Worker	9	21
1	15	21	Black	Marselan	4	Trailed sprayer	Worker	8	21

2	16	15	Black	Cinsault	1	Trailed sprayer	Worker	9	21
2	17	22	White	Sauvignon Blanc	1	Trailed sprayer	Worker	4	21
1	18	23	Black	Carignan	4	Trailed sprayer	Worker	8	21
1	18	24	White	Sauvignon Blanc	4	Trailed sprayer	Worker	8	21
1	19	27	Black	Syrah	3	Trailed sprayer	Worker	9	21
2	20	26	Black	Syrah	4	Trailed sprayer	Worker	9	21
2	21	25	Black	Carignan	4	Trailed sprayer	Worker	7	21
1	22	28	Black	Razzequi	0.5	Trailed sprayer	Worker	5	21
1	23	40	Black	Syrah	1	Backpack sprayer	Farmer	3	21
5	24	41	Black	Grenache black	5	Trailed sprayer	Worker	3	30
2	25	29	White	Muscat	1.5	Trailed sprayer	Worker	6	21
1	26	36	Black	Carignan	1	Backpack sprayer	Farmer	9	21
2	27	33	Black	Carignan	25	Trailed sprayer	Worker	8	21
1	28	34	Black	Grenache black	2.5	Trailed sprayer	Worker	9	3 ^a
1	28	42	Black	Syrah	8	Trailed sprayer	Worker	9	3 ^a
1	29	37	Black	Syrah	2	Trailed sprayer	Worker	9	21
2	30	38	White	Muscat	3	Trailed sprayer	Worker	8	21
2	30	30	Black	Marselan	3	Trailed sprayer	Worker	8	21
1	31	31	White	Pedro	1	Backpack sprayer	Farmer	1	21
1	31	32	Black	Monique	1	Backpack sprayer	Farmer	1	21
1	31	39	Black	Cinsault	2	Backpack sprayer	Farmer	1	21
1	32	35	Black	Carignan	1.5	Trailed sprayer	Worker	9	21
1	33	43	Black	Syrah	2	Trailed sprayer	Worker	9	21
2	34	44	Black	Carignan	2	Trailed sprayer	Worker	8	21
1	35	45	Black	Carignan	1	Trailed sprayer	Worker	9	21

1	36	46	Black	Carignan	1.5	Trailed sprayer	Worker	9	21
1	37	47	Black	Syrah	15	Trailed sprayer	Worker	12	21
3	38	48	White	Clairette	5	Trailed sprayer	Worker	12	21
3	38	49	Black	Cabernet Sauvignon	4	Trailed sprayer	Worker	12	21
3	38	50	Black	Carignan	10	Trailed sprayer	Worker	9	21
1	39	51	Black	Syrah	3	Trailed sprayer	Worker	9	21
1	40	52	Black	Carignan	9.5	Trailed sprayer	Worker	9	21
1	41	53	Black	Carignan	40	Trailed sprayer	Worker	9	21
1	42	54	Black	Syrah	5	Trailed sprayer	Worker	9	21
1	43	55	Black	Syrah	2	Trailed sprayer	Worker	9	21

a: Sulfur application, respected of PHI value b: not analysed.

Table S2. Analysis technique of active substances and corresponding pesticide residues

Active substance	Pesticide residue	Technique
Acephate	acephate	LC-MS/MS
Acetamiprid	acetamiprid	LC-MS/MS
Aclonifen	aclonifen	GC-MS/MS
Acrinathrin	acrinathrin	GC-MS/MS
Alachlor	alachlor	GC-MS/MS
Aldicarb	Aldicarb	LC-MS/MS
	aldicarb sulfon	LC-MS/MS
	aldicarb sulfoxide	LC-MS/MS
Aldrin	Aldrin	GC-MS/MS
Ametoctradin	ametoctradin	LC-MS/MS
Anthraquinone	anthraquinone	GC-MS/MS
Atrazine	Atrazine	GC-MS/MS
	avermectine B1a included	
Abamectin	abamectin-delta-8,9 isomer	LC-MS/MS
	avermectine B1b	LC-MS/MS
Azamethiphos	azamethiphos	LC-MS/MS
azinphos-ethyl	azinphos-ethyl	GC-MS/MS
azinphos-methyl	azinphos-methyl	LC-MS/MS
Azoxystrobin	azoxystrobin	LC-MS/MS
Benalaxyl	benalaxyl	GC-MS/MS
Bendiocarb	bendiocarb	LC-MS/MS
Benfluralin	benfluralin	GC-MS/MS
Benfuracarb	benfuracarb	LC-MS/MS
Bentazone	bentazone	LC-MS/MS
	bentazone 8-hydroxy	LC-MS/MS
Benthiavalicarb	benthiavalicarb-isopropyl	LC-MS/MS
benzyladenine, 6-	benzyladenine, 6-	LC-MS/MS
Bifenazate	bifenazate	LC-MS/MS
Bifenthrin	bifenthrin	GC-MS/MS
Bioallethrin	bioallethrin	GC-MS/MS
Biphenyl	biphenyl	GC-MS/MS
Bitertanol	bitertanol	LC-MS/MS
Bixafen	Bixafen	LC-MS/MS
Boscalid	boscalid	LC-MS/MS
bromophos-ethyl	bromophos-ethyl	GC-MS/MS
bromophos-methyl	bromophos-methyl	GC-MS/MS
Bromopropylate	bromopropylate	GC-MS/MS
bromuconazole	bromuconazole	LC-MS/MS
Bupirimate	bupirimate	LC-MS/MS
Buprofezin	buprofezin	LC-MS/MS
Cadusafos	cadusafos	LC-MS/MS
Carbaryl	carbaryl	LC-MS/MS
Carbendazim	carbendazim	LC-MS/MS
Carbetamide	carbetamide	LC-MS/MS

Carbofuran	carbofuran	LC-MS/MS
	carbofuran-3 Hydroxy	LC-MS/MS
Carbophenothion	carbophenothion	GC-MS/MS
Carbosulfan	carbosulfan	LC-MS/MS
Carboxin	carboxin	LC-MS/MS
chlordantraniliprole	chlordantraniliprole	LC-MS/MS
Chlorbromuron	chlorbromuron	LC-MS/MS
Chlordane	chlordane-cis	GC-MS/MS
	chlordane-trans	GC-MS/MS
Chlorfenapyr	chlorfenapyr	GC-MS/MS
Chlorfenvinphos	chlorfenvinphos	GC-MS/MS
Chloridazon	chloridazon	LC-MS/MS
Chlormequat	chlormequat chloride	LC-MS/MS
Chlorobenzilate	chlorobenzilate	GC-MS/MS
Chloroxuron	chloroxuron	LC-MS/MS
Chlorpropham	chlorpropham	LC-MS/MS
chlorpyrifos-ethyl	chlorpyrifos-ethyl	GC-MS/MS
chlorpyrifos-methyl	chlorpyrifos-methyl	GC-MS/MS
Chlorsulfuron	chlorsulfuron	LC-MS/MS
Chlorothalonil	chlorothalonil	GC-MS/MS
Chlortoluron	chlortoluron	LC-MS/MS
clethodim	clethodim	LC-MS/MS
Clofentezin	clofentezin	LC-MS/MS
Clomazone	clomazone	GC-MS/MS
Clothianidin	clothianidin	LC-MS/MS
Coumaphos	coumaphos	GC-MS/MS
Cyantraniliprole	cyantraniliprole	LC-MS/MS
Cyazofamid	cyazofamid	LC-MS/MS
Cyflufenamid	cyflufenamid	GC-MS/MS
Cyfluthrin	cyfluthrin	GC-MS/MS
cyhalothrin-L	cyhalothrin-L	GC-MS/MS
Cymiazol	cymiazol	LC-MS/MS
Cymoxanil	cymoxanil	LC-MS/MS
Cypermethrin	cypermethrin	GC-MS/MS
Cyproconazole	cyproconazole	LC-MS/MS
Cyprodinil	cyprodinil	LC-MS/MS
Cyromazine	cyromazine	LC-MS/MS
DDT	DDD-p,p	GC-MS/MS
	DDE-p,p	GC-MS/MS
	DDT-o,p	GC-MS/MS
	DDT-p,p	GC-MS/MS
DEET	DEET	LC-MS/MS
Deltamethrin	deltamethrin-cis	GC-MS/MS
demeton-s-methyl	demeton-s-methyl	LC-MS/MS
demeton-s-methylsulfone	demeton-s-methylsulfone	LC-MS/MS
Desmedipham	desmedipham	LC-MS/MS

Diazinon	Diazinon	GC-MS/MS
Dichlobenil	Dichlobenil	GC-MS/MS
Dichlofluanid	Dichlofluanid	GC-MS/MS
Dichlorvos	Dichlorvos	LC-MS/MS
Diclobutrazol	Diclobutrazol	GC-MS/MS
diclofop	diclofop	LC-MS/MS
diclofop-methyl	diclofop-methyl	LC-MS/MS
Dicloran	Dicloran	GC-MS/MS
Dicofol	dicofol 4.4	GC-MS/MS
	dicofol-2,4	GC-MS/MS
Dicrotophos	Dicrotophos	LC-MS/MS
Dieldrin	Dieldrin	GC-MS/MS
Diethofencarb	Diethofencarb	LC-MS/MS
Difenoconazole	Difenoconazole	LC-MS/MS
Diflubenzuron	Diflubenzuron	LC-MS/MS
Dimethenamid	dimethenamid-p	GC-MS/MS
Dimethoate	dimethoate	LC-MS/MS
Dimethomorph	dimethomorph	LC-MS/MS
Dimoxystrobin	dimoxystrobin	GC-MS/MS
Diniconazole	diniconazole	GC-MS/MS
Dinocap	dinocap	LC-MS/MS
Dinotefuran	dinotefuran	LC-MS/MS
Diphenylamine	diphenylamine	GC-MS/MS
Disulfoton	disulfoton	GC-MS/MS
	disulfoton-sulfone	LC-MS/MS
	disulfoton-sulfoxide	LC-MS/MS
Diuron	diuron	LC-MS/MS
Dodemorph	dodemorph	LC-MS/MS
Dodine	dodine	LC-MS/MS
Emamectin	emamectin B1a	LC-MS/MS
	emamectin B1b	LC-MS/MS
Endosulfan	endosulfan-alpha	GC-MS/MS
	endosulfan-beta	GC-MS/MS
	endosulfan-sulfate	GC-MS/MS
Endrin	endrin	GC-MS/MS
EPN	EPN	GC-MS/MS
Epoxiconazole	epoxiconazole	LC-MS/MS
esfenvalerate	esfenvalerate	GC-MS/MS
Ethiofencarb	ethiofencarb	LC-MS/MS
Ethion	ethion	GC-MS/MS
Ethirimol	ethirimol	LC-MS/MS
Ethoprophos	ethoprophos	LC-MS/MS
Etofenprox	etofenprox	GC-MS/MS
Etoxazole	etoxazole	LC-MS/MS
Etrimfos	etrimfos	GC-MS/MS
Famoxadone	famoxadone	LC-MS/MS

Fenamiphos	fenamiphos	LC-MS/MS
	fenamiphos sulphone	LC-MS/MS
	fenamiphos sulphoxide	LC-MS/MS
Fenarimol	fenarimol	GC-MS/MS
Fenazaquin	fenazaquin	GC-MS/MS
Fenbuconazole	fenbuconazole	LC-MS/MS
Fenchlorphos	fenchlorphos	GC-MS/MS
	fenchlorphos oxon	LC-MS/MS
Fenhexamid	fenhexamid	LC-MS/MS
Fenitrothion	fenitrothion	GC-MS/MS
Fenoxycarb	fenoxycarb	LC-MS/MS
Fenpropathrin	fenpropathrin	GC-MS/MS
Fenpropidin	fenpropidin	LC-MS/MS
Fenpropimorph	fenpropimorph	LC-MS/MS
Fenpyrazamine	fenpyrazamine	LC-MS/MS
Fenpyroximate	fenpyroximate	LC-MS/MS
Fensulfothion	fensulfothion	GC-MS/MS
	fensulfothion sulfone	GC-MS/MS
Fenthion	fenthion	GC-MS/MS
	fenthion oxon	LC-MS/MS
	fenthion oxon sulfone	LC-MS/MS
	fenthion oxon sulfoxide	LC-MS/MS
	fenthion sulfone	LC-MS/MS
	fenthion sulfoxide	LC-MS/MS
fenvalerate	fenvalerate	GC-MS/MS
Fipronil	fipronil	LC-MS/MS
	fipronil sulfone	LC-MS/MS
Flonicamid	flonicamid	LC-MS/MS
Fluazifop	fluazifop	LC-MS/MS
	fluazifop-P-butyl	LC-MS/MS
Fluazinam	fluazinam	LC-MS/MS
Flubendiamide	flubendiamide	LC-MS/MS
Flucythrinate	flucythrinate	GC-MS/MS
Fludioxonil	fludioxonil	LC-MS/MS
Flufenacet	flufenacet	LC-MS/MS
Flufenoxuron	flufenoxuron	LC-MS/MS
Fluopicolide	fluopicolide	GC-MS/MS
Fluopyram	fluopyram	LC-MS/MS
Fluquinconazole	fluquinconazole	GC-MS/MS
fluroxypyr	fluroxypyr	LC-MS/MS
Flusilazole	flusilazole	GC-MS/MS
Flutolanil	flutolanil	LC-MS/MS
Flutriafol	flutriafol	LC-MS/MS
fluvalinate, tau	fluvalinate, tau	GC-MS/MS
Fonofos	fonofos	GC-MS/MS
Fosthiazate	fosthiazate	LC-MS/MS

Furalaxyl	furalaxyl	LC-MS/MS
Furathiocarb	furathiocarb	LC-MS/MS
Haloxypop	haloxypop	LC-MS/MS
	haloxypop-etotyl	LC-MS/MS
	haloxypop-methyl	LC-MS/MS
Heptachlor	heptachlor	GC-MS/MS
	heptachlor epoxy cis	GC-MS/MS
	heptachlor epoxy trans	GC-MS/MS
Heptenophos	heptenophos	LC-MS/MS
hexachlorobenzene	hexachlorobenzene	GC-MS/MS
hexachlorocyclohexane (HCH)	HCH-alpha	GC-MS/MS
	HCH-beta	GC-MS/MS
	HCH-gamma	GC-MS/MS
Hexaconazole	hexaconazole	LC-MS/MS
Hexaflumuron	hexaflumuron	LC-MS/MS
Hexazinone	hexazinone	LC-MS/MS
Hexythiazox	hexythiazox	LC-MS/MS
Imazalil	imazalil	LC-MS/MS
Imidacloprid	imidacloprid	LC-MS/MS
Indoxacarb	indoxacarb	LC-MS/MS
Ioxynil	ioxynil	LC-MS/MS
Iprobenfos	iprobenfos	LC-MS/MS
Iprodione	iprodione	GC-MS/MS
Iprovalicarb	iprovalicarb	LC-MS/MS
Isocarbophos	isocarbophos	LC-MS/MS
isofenphos-methyl	isofenphos-methyl	LC-MS/MS
Isoproc carb	isoproc carb	LC-MS/MS
Isoprothiolane	isoprothiolane	LC-MS/MS
Isoproturon	isoproturon	LC-MS/MS
Isoxaben	isoxaben	LC-MS/MS
kresoxim-methyl	kresoxim-methyl	GC-MS/MS
Linuron	linuron	LC-MS/MS
Lufenuron	lufenuron	LC-MS/MS
Malathion	malathion	GC-MS/MS
	malaoxon	GC-MS/MS
Mandipropamid	mandipropamid	LC-MS/MS
Mecarbam	mecarbam	GC-MS/MS
Mepanipyrim	mepanipyrim	LC-MS/MS
Mepiquat	mepiquat chloride	LC-MS/MS
Mepronil	mepronil	GC-MS/MS
Mesotrione	mesotrione	LC-MS/MS
Metaflumizone	metaflumizone	LC-MS/MS
Metalaxyl	metalaxyl	LC-MS/MS
Metamitron	metamitron	LC-MS/MS
Metazachlor	metazachlor	LC-MS/MS

	metazachlor ethane sulfonic acid (metazachlor ESA) 479M04	LC-MS/MS
	metazachlor oxalamic acid (metazachlor OXA) 479M08	LC-MS/MS
Metconazole	metconazole	LC-MS/MS
methabenzthiazuron	methabenzthiazuron	LC-MS/MS
Methacrifos	methacrifos	GC-MS/MS
Methamidophos	methamidophos	LC-MS/MS
Methidathion	methidathion	GC-MS/MS
Methiocarb	methiocarb	LC-MS/MS
	methiocarb sulfone	LC-MS/MS
	methiocarb sulfoxide	LC-MS/MS
Methomyl	methomyl	LC-MS/MS
Methoxychlor	methoxychlor	GC-MS/MS
methoxyfenozide	methoxyfenozide	LC-MS/MS
Metobromuron	metobromuron	LC-MS/MS
Metolachlor	metolachlor	LC-MS/MS
Metoxuron	metoxuron	LC-MS/MS
Metrafenone	metrafenone	LC-MS/MS
Metribuzin	metribuzin	LC-MS/MS
Mevinphos	mevinphos	LC-MS/MS
Monocrotophos	monocrotophos	LC-MS/MS
Monolinuron	monolinuron	LC-MS/MS
Myclobutanil	myclobutanil	GC-MS/MS
Napropamide	napropamide	LC-MS/MS
Nitenpyram	nitenpyram	LC-MS/MS
Nitrofen	nitrofen	GC-MS/MS
Nitrothal	nitrothal-isopropyl	GC-MS/MS
Novaluron	novaluron	LC-MS/MS
Nuarimol	nuarimol	GC-MS/MS
Omethoate	omethoate	LC-MS/MS
Orbencarb	orbencarb	GC-MS/MS
Oxadiazon	oxadiazon	LC-MS/MS
Oxadixyl	oxadixyl	LC-MS/MS
Oxamyl	oxamyl	LC-MS/MS
Oxycarboxin	oxycarboxin	LC-MS/MS
oxydemeton-methyl	oxydemeton-methyl	LC-MS/MS
Paclobutrazole	paclobutrazole	LC-MS/MS
parathion methyl	parathion methyl	GC-MS/MS
	paraoxon methyl	LC-MS/MS
parathion ethyl	parathion ethyl	GC-MS/MS
Penconazole	penconazole	GC-MS/MS
Pencycuron	pencycuron	LC-MS/MS
Pendimethalin	pendimethalin	GC-MS/MS
permethrin	permethrin	GC-MS/MS
Pethoxamid	pethoxamid	LC-MS/MS

Phenmedipham	phenmedipham	LC-MS/MS
phenthoate	phenthoate	GC-MS/MS
phenylphenol, 2	phenylphenol, 2	GC-MS/MS
Phorate	phorate	GC-MS/MS
	phorate oxon	LC-MS/MS
	phorate oxon sulfone	LC-MS/MS
	phorate oxon sulfoxide	LC-MS/MS
	phorate sulfone	LC-MS/MS
	phorate sulfoxide	LC-MS/MS
Phosalone	phosalone	GC-MS/MS
Phosmet	phosmet	GC-MS/MS
	phosmet-oxon	LC-MS/MS
Phosphamidon	phosphamidon	LC-MS/MS
Phoxim	phoxim	LC-MS/MS
Picoxystrobin	picoxystrobin	GC-MS/MS
piperonyl butoxyde	piperonyl butoxyde	LC-MS/MS
Pirimicarb	pirimicarb	LC-MS/MS
	pirimicarb desmethyl	LC-MS/MS
pirimiphos ethyl	pirimiphos ethyl	GC-MS/MS
pirimiphos methyl	pirimiphos methyl	GC-MS/MS
Prochloraz	prochloraz	LC-MS/MS
	BTS40348	LC-MS/MS
	BTS44595	LC-MS/MS
	BTS44596	LC-MS/MS
Procymidone	procymidone	GC-MS/MS
Profenofos	profenofos	GC-MS/MS
Promecarb	promecarb	LC-MS/MS
Propachlor	propachlor	LC-MS/MS
	propachlor oxalamic acid (propachlor OA)	LC-MS/MS
Propamocarb	propamocarb	LC-MS/MS
Propanil	propanil	GC-MS/MS
Propargite	propargite	LC-MS/MS
Propetamphos	propetamphos	GC-MS/MS
Propham	propham	LC-MS/MS
propiconazole	propiconazole	GC-MS/MS
Propoxur	propoxur	GC-MS/MS
Propyzamide	propyzamide	GC-MS/MS
Proquinazid	proquinazid	LC-MS/MS
Prosulfocarb	prosulfocarb	LC-MS/MS
Prosulfuron	prosulfuron	LC-MS/MS
Prothioconazole	prothioconazole desthio	LC-MS/MS
Prothiofos	prothiofos	GC-MS/MS
Pymetrozine	pymetrozine	LC-MS/MS
Pyraclufos	pyraclufos	GC-MS/MS
Pyraclostrobin	pyraclostrobin	LC-MS/MS

Pyrazophos	pyrazophos	GC-MS/MS
Pyridaben	pyridaben	LC-MS/MS
Pyridafol	pyridafol	LC-MS/MS
Pyridate	pyridate	LC-MS/MS
Pyrimethanil	pyrimethanil	LC-MS/MS
Pyriproxyfen	pyriproxyfen	LC-MS/MS
Quinalphos	quinalphos	LC-MS/MS
Quinclorac	quinclorac	LC-MS/MS
Quinoxifen	quinoxifen	GC-MS/MS
quintozene (PCNB)	quintozene (PCNB)	GC-MS/MS
	pentachloraniline	GC-MS/MS
resmethrin	resmethrin	GC-MS/MS
Rotenone	rotenone	LC-MS/MS
Sethoxydim	sethoxydim	LC-MS/MS
Simazine	simazine	LC-MS/MS
spinetoram	spinetoram	LC-MS/MS
Spirodiclofen	spirodiclofen	LC-MS/MS
Spiromesifen	spiromesifen	GC-MS/MS
Spirotetramat	spirotetramat	LC-MS/MS
	spirotetramat-enol	LC-MS/MS
	spirotetramat-enol-glucoside	LC-MS/MS
	spirotetramat-ketohydroxy	LC-MS/MS
	spirotetramat-mono-hydroxy	LC-MS/MS
Spiroxamine	spiroxamine	LC-MS/MS
Spinosad	spynosin A	LC-MS/MS
	spynosin D	LC-MS/MS
Sulfosulfuron	sulfosulfuron	LC-MS/MS
Sulfotep	sulfotep	GC-MS/MS
Sulfoxaflor	sulfoxaflor	LC-MS/MS
Tebuconazole	tebuconazole	LC-MS/MS
Tebufenozide	tebufenozide	LC-MS/MS
Tebufenpyrad	tebufenpyrad	LC-MS/MS
tecnazene (TCNB)	tecnazene (TCNB)	GC-MS/MS
Teflubenzuron	teflubenzuron	LC-MS/MS
Tefluthrin	tefluthrin	GC-MS/MS
Tepraloxydim	tepraloxydim	LC-MS/MS
Terbufos	terbufos	GC-MS/MS
Terbuthylazine	terbuthylazine	LC-MS/MS
tetrachlorvinphos	tetrachlorvinphos	GC-MS/MS
Tetraconazole	tetraconazole	LC-MS/MS
Tetradifon	tetradifon	GC-MS/MS
Tetramethrin	tetramethrin	GC-MS/MS
Thiabendazole	thiabendazole	LC-MS/MS
Thiacloprid	thiacloprid	LC-MS/MS
Thiamethoxam	thiamethoxam	LC-MS/MS
Thiodicarb	thiodicarb	LC-MS/MS

Thiometon	thiometon	GC-MS/MS
thiophanate-methyl	thiophanate-methyl	LC-MS/MS
tolclofos-methyl	tolclofos-methyl	GC-MS/MS
Tolfenpyrad	tolfenpyrad	LC-MS/MS
Tolyfluanid	tolyfluanid	GC-MS/MS
	DMST	LC-MS/MS
Triadimefon	triadimefon	GC-MS/MS
triadimenol	triadimenol	GC-MS/MS
Triapenthenol	triapenthenol	GC-MS/MS
Triasulfuron	triasulfuron	LC-MS/MS
Triazophos	triazophos	GC-MS/MS
Trichlorfon	trichlorfon	LC-MS/MS
Tricyclazole	tricyclazole	LC-MS/MS
Tridemorph	tridemorph	LC-MS/MS
Trifloxystrobin	trifloxystrobin	GC-MS/MS
Triflumizole	triflumizole	GC-MS/MS
	triflumizole FM-6-1	LC-MS/MS
Triflumuron	triflumuron	LC-MS/MS
Trifluralin	trifluralin	GC-MS/MS
Triforine	Triforine	LC-MS/MS
trinexapac-ethyl	trinexapac-ethyl	LC-MS/MS
Triticonazole	Triticonazole	LC-MS/MS
Vamidothion	Vamidothion	LC-MS/MS
Vinclozolin	Vinclozolin	GC-MS/MS
Zoxamide	Zoxamide	GC-MS/MS

Table S3. number of detected and non-compliant pesticide residues in each of the 108 wine grape samples (53 and 55) collected from both growing seasons

sample code	winegrower code	Winery code	number of detected pesticide residues	number of non-compliant pesticide residues with EU MRL	number of non-compliant pesticide residues with Codex Alimentarius MRL
A) Growing season 2018-19					
1	1	1	3	2	0
2	2	1	1	0	0
3	3	2	2	0	0
4	4	1	1	0	0
5	5	4	0	0	0
6	5	4	1	0	0
7	6	1	3	1	0
8	7	1	1	1	0
9	11	1	0	0	0
10	8	1	5	0	0
11	9	1	0	0	0
12	10	2	0	0	1
13	10	2	2	0	0
14	10	2	2	0	0
15	12	1	1	1	0
16	12	1	1	1	0
17	13	2	4	1	1
18	14	1	2	1	0
19	15	1	2	0	0
20	16	2	2	0	0
21	17	1	1	0	0
22	18	2	5	1	0
23	21	1	1	0	0
24	20	1	1	1	0
25	22	1	0	0	0
26	26	1	4	0	0
27	19	1	3	2	0
28	23	1	2	0	0
29	24	1	0	0	0
30	25	2	5	2	0
31	27	2	0	0	0
32	28	1	0	0	0
33	29	1	1	0	0
34	29	1	0	0	0
35	30	2	0	0	0
36	31	1	0	0	0
37	32	3	1	0	0
38	35	1	6	0	0
39	35	1	4	0	0
40	35	1	5	0	0
41	35	1	6	1	0
42	34	1	0	0	0
43	33	3	3	1	0
44	33	3	0	0	0
45	33	1	0	0	0
46	36	1	0	0	0

47	37	1	0	0	0
48	37	1	1	1	0
49	37	1	0	0	0
50	38	1	3	0	0
51	39	1	3	1	0
52	40	1	0	0	0
53	41	1	0	0	0
B) Growing season 2019-20					
1	1	1	2	0	0
2	3	1	0	0	0
3	3	1	4	1	0
4	2	1	2	0	0
5	4	1	3	0	0
6	5	1	0	0	0
7	6	4	1	0	0
8	6	4	1	0	0
9	9	2	3	0	0
10	10	1	5	2	0
11	7	1	5	1	0
12	8	1	2	1	0
13	13	1	1	0	0
14	11	1	1	1	0
15	16	2	4	0	0
16	12	1	0	0	0
17	14	5	9	1	0
18	14	5	6	1	0
19	15	1	3	0	0
20	15	1	4	0	0
21	15	1	3	0	0
22	17	2	1	1	0
23	18	1	0	0	0
24	19	1	0	0	0
25	22	2	2	1	1
26	21	2	4	1	0
27	20	1	4	2	0
28	23	1	2	0	0
29	26	2	1	0	0
30	31	2	2	1	0
31	31	1	1	0	0
32	31	1	2	1	0
33	28	2	3	0	0
34	28	1	4	1	0
35	33	1	1	0	0
36	27	1	2	0	0
37	30	1	0	0	0
38	30	2	1	1	0
39	32	1	3	1	0

40	24	1	4	0	0
41	25	5	3	0	0
42	29	1	0	0	0
43	34	1	3	0	0
44	35	2	1	0	0
45	36	1	0	0	0
46	37	1	4	1	0
47	38	1	3	1	0
48	38	3	2	1	0
49	38	3	1	0	0
50	39	3	1	1	0
51	40	1	2	0	0
52	41	1	0	0	0
53	42	1	1	0	0
54	43	1	3	0	0
55	50	1	4	1	0

Section expérimentale

Etude 4 : Suivi des résidus de pesticides dans les sous-produits de la vigne suite aux procédés de vinification et de séchage.

Préambule

L'objectif de cette étude est de mettre en évidence l'influence des procédés de vinification et de séchage sur le transfert des résidus de pesticides vers les produits finaux, à savoir le vin et le raisin sec. Pour cela, des échantillons de moûts (à l'issue des étapes de pressurage, de fermentation et de la clarification) et de raisin de table (avant et après traitement et après séchage) ont été collectés durant les campagnes agricoles 2019-20 (pour les vins) et 2020-21 (pour les raisins secs). Les analyses réalisées nous ont permis de déterminer la qualité du produit final (vin et raisin sec) de point de vue résidus de pesticides et le degré de conformité vis-à-vis des LMR européennes et internationales. Toutefois, le transfert des résidus de pesticides du raisin frais au produit final (vin ou raisin sec) n'a pas pu être démontré en raison de la faible représentativité des échantillons d'une part, et de l'assemblage de différents cépages, d'autre part.

▪

1. Introduction

La viticulture est soumise à des pertes économiques significatives dues notamment aux maladies fongiques telles que le mildiou (causé par *Plasmopara viticola*), l'oïdium dont l'agent responsable est *Uncinula necator*, la pourriture grise causée par *Botrytis cinerea* (Kassemeyer, 2017) et aux insectes tels que la cochenille farineuse *Plenococcus ficus* et la cicadelle (*Empoasca vitis*). Ces insectes peuvent également engendrer des dégâts sur les fruits directement (consommation de l'intérieur du fruit) et indirectement puisqu'elle induit des blessures qui favorisent l'invasion d'autres agresseurs, particulièrement *Botrytis cinerea* responsable de la pourriture grise (Micheloni, 2016). La lutte chimique, par le biais des pesticides, a été le moyen couramment adopté pour remédier à ces problèmes (Navarro *et al.*, 2000). Toutefois, l'épandage excessif de ces produits entraîne la présence de résidus de pesticides dans les raisins qui peuvent être transférés aux sous-produits, y compris le vin et les raisins secs (Cabras and Angioni, 2000). Les étapes de transformation, telles que le séchage ou la vinification, peuvent avoir des effets sur la teneur en résidus de pesticides dans les produits transformés. Par exemple, les étapes de pressurage, de fermentation et de clarification contribuent significativement (jusqu'à 100 %) à la réduction des substances actives qui peuvent être retenues dans la fraction solide du moût (Ruediger *et al.*, 2004, 2005; Čuš *et al.*, 2010a). En outre, le séchage au soleil peut entraîner une réduction jusqu'à 80 % de la teneur des substances actives telles que l'éthion, la diazinon et le chlorpyrifos-éthyl (Özbey *et al.*, 2017; Rahimi *et al.*, 2022). Cependant, il est important de noter que le procédé de séchage peut également augmenter la concentration des résidus, car la perte d'eau entraîne la rétention des pesticides dans la partie solide (Shabeer *et al.*, 2015).

Dans ce cadre, des réglementations ont été fixées au niveau international et en particulier en Europe en vue de contrôler l'utilisation des produits de protection des plantes (Rahimi *et al.*, 2022). À l'échelle internationale, le *Codex Alimentarius* a toujours fixé des LMR des différentes substances actives pesticides suite à des réunions mixtes d'experts de la FAO et de l'Organisation Mondiale de la Santé (FAO/WHO, 2022). En Europe, il s'agit notamment du règlement (CE) n° 396/2005 relatif aux limites maximales de résidus (LMR) pour les produits phytosanitaires. Selon ce règlement, les LMR sont définies comme étant « une concentration maximale du résidu d'un pesticide autorisée dans ou sur des denrées alimentaires ou des aliments pour animaux, fixée conformément au présent règlement, sur la base des bonnes pratiques agricoles (BPA) et de l'exposition la plus faible possible permettant de protéger tous les consommateurs vulnérables » (Parlement européen et Conseil de l'Union européenne, 2005). Lorsque des LMR spécifiques ne sont pas définies, une LMR générale égale à 0,01 mg/kg est appliquée (Parlement européen et Conseil de l'Union européenne, 2005).

En Tunisie, les limites maximales en résidus de pesticides n'ont pas encore été révisées depuis leur établissement en 1986 (JORT, 1986). Par conséquent, il a été recommandé par les autorités

tunisiennes, de se référer à la norme européenne comme indiqué dans le guide phytosanitaire publié en 2019 (Association Tunisienne pour la protection des plantes, 2019). De même, en Tunisie, peu de recherches sont conduites pour apprécier la qualité des produits agricoles de point de vue résidus de pesticides, ou pour mettre en évidence le rôle des procédés de transformation dans le transfert des résidus de pesticides du produit frais au produit transformé.

C'est dans ce cadre que nous avons mené cette étude à travers laquelle nous proposons d'analyser les résidus de pesticides dans : (i) les sous-échantillons de raisins de cuve (moût, marc, vin) afin de mettre en évidence l'influence des étapes de vinification et (ii) dans les échantillons de raisins secs, en vue de souligner l'effet de séchage sur le transfert de ces résidus. Dans un deuxième temps, nous avons fixé d'évaluer la conformité des échantillons de vin et de raisins secs aux LMR européennes et internationales.

2. Matériels et méthodes

2.1. Collecte des sous-échantillons de raisins de cuve

L'échantillonnage a été réalisé dans quatre caves situées dans les régions de Grombalia et de Bou Argoub (régions localisées au Nord-est de la Tunisie connues par la production de raisins de cuve et comprenant près de 71 % des unités de production de vin national). La collecte d'échantillons s'est déroulée durant les mois d'août et de septembre de la campagne agricole 2019-20. Le prélèvement de 0,5 L de 24 échantillons de moût a été réalisé à la suite des étapes de pressurage, débourage et fermentation alcoolique (vinification en blanc et en rosé) et à l'étape de fermentation (vinification en rouge) (Figure 1). Au cours du mois de mai de la même campagne 2019-20, 15 échantillons de vins finis (0,5 L) ont été prélevés selon la répartition suivante : trois échantillons de vin prélevés des caves 2, 3, et 4 et six échantillons de la cave 1 (un vin rouge, un vin blanc et un vin rosé). Pour la cave 1 les échantillons étaient en double vu la large gamme de produits proposée par cette cave.

Après prélèvement, les échantillons de moûts et de vins ont été ensuite homogénéisés et stockés dans des tubes Falcon (50 ml) à une température de $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ jusqu'à l'analyse.

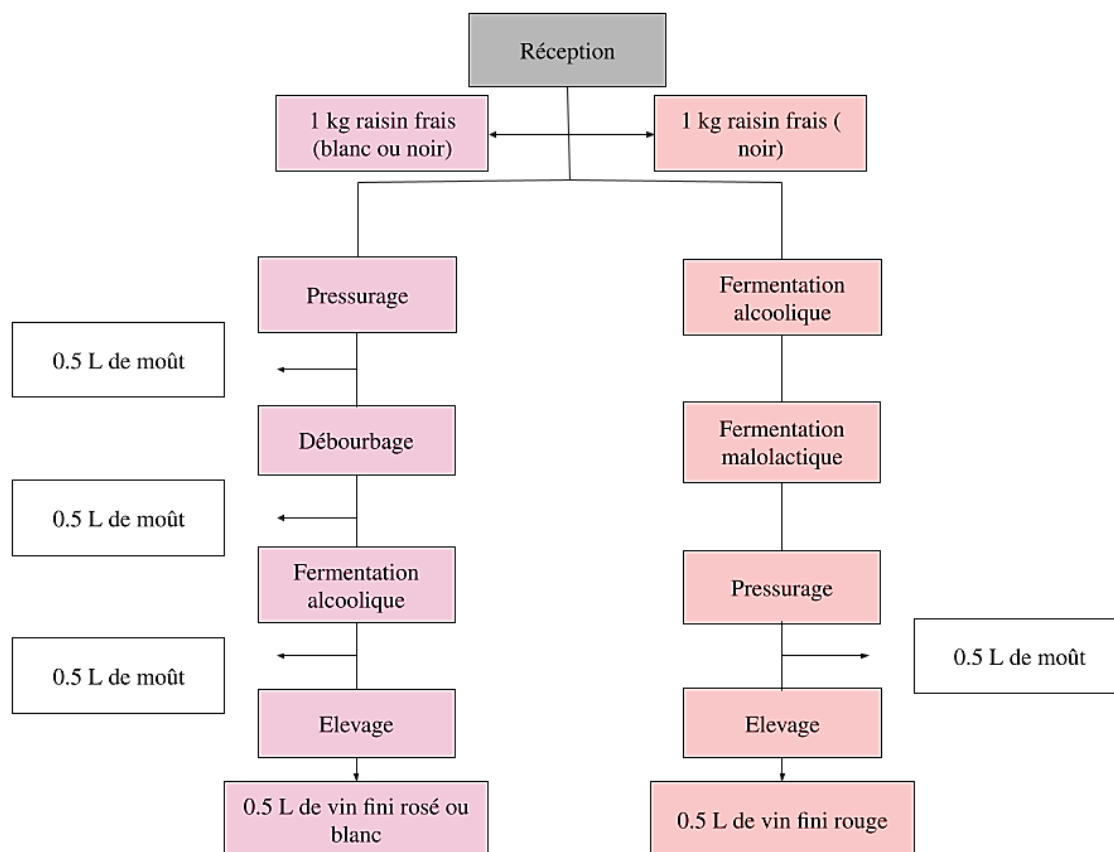


Figure 1. Protocole de collecte des échantillons de moût tout au long du procédé de vinification appliqué dans 4 caves des régions de Grombalia et de Bou Argoub en Tunisie

2.2. Collecte des échantillons de raisin de table durant les étapes de prétraitement et de séchage

Des échantillons frais de raisins de table ont été récoltés dans 7 parcelles localisées dans la région de Rafrat pendant le mois d'août de la campagne agricole 2021-22. À cette fin, 1 kg de raisins frais, correspondant à trois grappes, a été prélevé aléatoirement au moment de la récolte. Les grappes récoltées ont ensuite été soumises à une étape préalable de prétraitement qui diffère d'un viticulteur à l'autre (voir les détails dans la partie étude 1). L'échantillonnage après le prétraitement a été effectué le même jour, à raison de 1 kg par échantillon. Des échantillons de raisins secs, équivalant à 1 kg par échantillon, ont été prélevés 7 à 10 jours après le séchage (Figure 2).

Parallèlement, une collecte d'échantillon a été conduite dans une usine de production de raisins secs située dans la région de Ras Jebel (à proximité de la région de Rafrat) au nord-est de la Tunisie. Un kilogramme de raisin de table frais (cépage Muscat de Rafrat) a été prélevé aléatoirement dans un lot avant l'étape de prétraitement. Par la suite, 1 kg de raisin de table a été prélevé à partir du même lot à la suite de l'étape de prétraitement. Enfin, 1 kg de raisin sec a été prélevé à la suite de l'étape de séchage

(Figure 2). Tous les échantillons (raisins de table avant et après prétraitement et raisin sec) collectés ont été broyés, homogénéisés, puis stockés à une température de $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

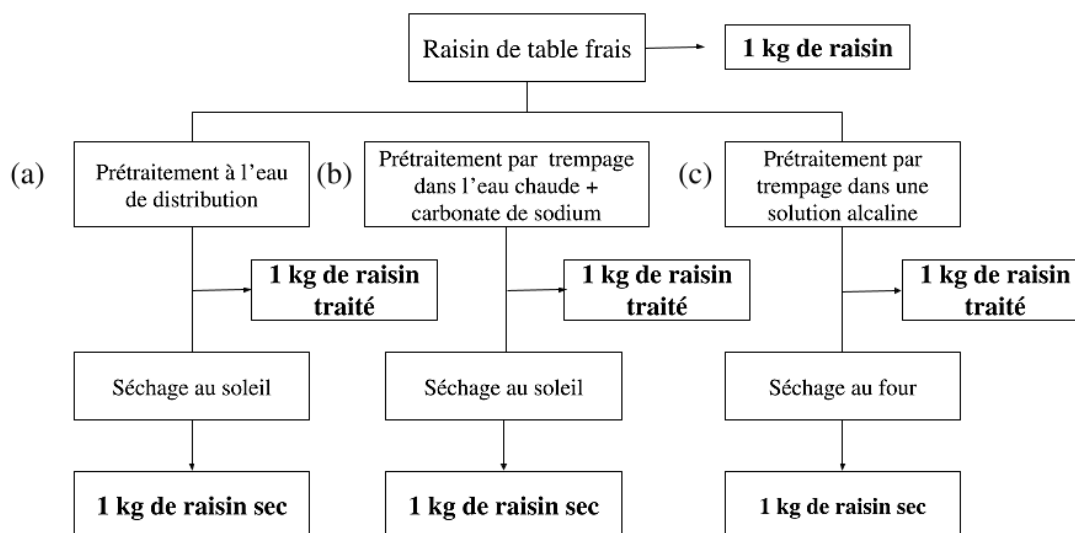


Figure 2. Protocole de collecte des échantillons de raisin de table (avant et après prétraitement) et après séchage auprès de deux transformateurs artisanaux (a et b) et une entreprise de séchage de raisin (c), dans la région de Rafrat en Tunisie

2.3. Méthodes d'analyses

Les échantillons collectés ont été analysés au laboratoire Sciensano à Bruxelles en Belgique par trois méthodes analytiques, quantitatives, validées et accréditées par l'organisme d'accréditation belge BELAC, conformément à la norme ISO 17025 (ISO/IEC 17025, 2017). Environ 367 substances actives, incluant leurs métabolites, ont été étudiées. Cependant, 6 substances actives n'ont pas été incluses, à savoir : les pesticides inorganiques à base de cuivre, de soufre, le fosétyl aluminium (un composé très polaire) et le meptyldinocap (à cause de sa dégradation lors de l'analyse). Ces dernières ont nécessité des méthodes d'analyse spécifiques.

La chromatographie en phase liquide (Ultra Performance Liquid Chromatography) couplée à une spectrométrie de masse en tandem (UPLC-MS/MS) a été utilisée pour détecter les résidus de pesticides polaires tels que l'iprovalicarbe, le thiophanate-méthyl et l'imidaclopride. La chromatographie en phase gazeuse (GC) couplée à la spectrométrie de masse (MS) a été utilisée pour rechercher les composés appartenant à la famille des dithiocarbamates (CS_2), tandis que la GC/MS-MS a été utilisée pour rechercher des substances actives telles que le chlorpyrifos-éthyl.

2.3.1. Préparation des échantillons de raisins secs

Dans le cadre de la préparation des échantillons de raisins secs, un aliquote de 10 g a été prélevé pour chaque échantillon de raisin sec et pour chaque méthode d'analyse. Un volume de 10 ml d'eau a été préalablement ajouté à chaque échantillon (10 g) pour faciliter les étapes d'extraction. En effet, selon les recommandations du document SANTE/12682/2019 (EURL, 2019), pour améliorer l'efficacité d'extraction des produits à faible teneur en humidité tels que les céréales et les fruits secs, il est recommandé d'ajouter de l'eau aux échantillons avant l'extraction.

2.3.2. Analyse des résidus de pesticides par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem

La procédure d'analyse utilisée dans cette étude a été décrite par Hanot *et al.* (2015) pour les résidus de pesticides détectés par UPLC-MS/MS. Pour cela, 10 g d'échantillon ont été extraits avec un mélange d'extraction composé de méthanol et d'eau (95 :5 V/V. 20 mM d'acétate d'ammonium) avec une homogénéisation moyennant l'Ultra Turrax pendant une minute. La suspension obtenue a ensuite été filtrée et diluée. Les extraits (un volume de 5 µL) ainsi obtenus ont été analysés par UPLC (utilisant une colonne de séparation ACQUITY BEH C18 1,7 µm. 2,1×100 mm) couplée à un spectromètre de masse en tandem (UPLC-Quattro Premier de Waters. Milford. MA. États-Unis) équipé d'une source d'ionisation électrospray en mode positif et négatif. Le débit d'injection est de 0,45 ml/min et la température du four est de 45 °C.

2.3.3. Dosage des dithiocarbamates par chromatographie gazeuse couplée à une spectrométrie de masse

Pour l'analyse des dithiocarbamates par GC/MS, la méthode d'extraction utilisée visait la détection du disulfure de carbone (CS₂), un métabolite issu de la dégradation des substances actives appartenant à la famille des dithiocarbamates (notamment le manèbe et le mancozèbe). Le protocole d'analyse du CS₂ est celui proposé par le laboratoire européen de référence (EURL-SRM, 2009). Dans cette étude, une quantité réduite (12,5 g au lieu de 50 g) a été extraite en utilisant 37,5 ml d'acide chlorhydrique (15 %), 6,25 ml d'iso-octane et 0,56 g de chlorure d'étain (II) dihydraté. La suspension a été agitée dans un bain-marie à 80 °C pendant 2 heures pour transférer le CS₂ dans l'iso-octane. Après refroidissement, un volume de 1 ml de la phase iso-octane a été prélevé et injecté dans un vial d'injection. Une injection de 4 µl a été effectuée avec un injecteur PTV pour l'analyse par GC (Agilent 7890B. Santa Clara. CA. États-Unis) couplée à un spectromètre de masse (Agilent 7000 C. Santa Clara. CA. États-Unis) avec une colonne VF-5 ms de 30 m. 0,25 mm (0,25 µm) à un débit de 1,2 ml/min. La température du four a été maintenue à 40 °C pendant les 5 premières minutes, puis augmentée progressivement jusqu'à 200 °C à raison de 40 °C/min.

2.3.4. Analyse par chromatographie gazeuse couplée à une spectrométrie de masse en tandem

L'analyse des résidus de pesticides par GC/MS-MS a ciblé les pesticides les plus apolaires et volatils tels que la deltaméthrine et le chlorpyrifos-éthyl. La procédure d'extraction a été décrite par Bouagga *et al.* (2019). Brièvement, 10 g d'échantillon (moût, vin ou raisin sec hydraté) ont été extraits avec de l'acétone, suivi d'une étape de purification à l'éther di-isopropylique. Les extraits (5 µl) ont ensuite été injectés avec un injecteur PTV pour l'analyse par GC/MS-MS en mode MRM (Multi-residues Reaction Monitoring) sur une colonne HP-5 ms de 30 m, 0,25 mm (0,25 µm) à un débit de 1,2 ml/min. La température du four a été maintenue à 70 °C pendant deux minutes, puis augmentée à 180 °C durant une minute (avec un taux de 33 °C/min) et enfin portée à 300 °C durant 4,5 minutes (à raison de 7 °C/min).

2.3.5. Contrôles qualité et validation des résultats des analyses

Un plan de contrôle qualité a été mis en place pour garantir la précision et la fiabilité des méthodes d'analyse utilisées. Les critères d'acceptabilité sont définis selon les recommandations du guide SANTE/12682/2019 (EURL, 2019). Ce plan comprend les éléments suivants pour chaque série d'analyses :

(i) Un échantillon de contrôle supplémenté avec une concentration connue de chaque pesticide est inclus pour surveiller l'efficacité de l'extraction (première ligne de contrôle).

(ii) Un blanc réactif est utilisé pour vérifier l'absence de contamination, aussi bien au niveau des extractions que durant les analyses.

(iii) Une courbe d'étalonnage est réalisée au début de chaque série d'analyses, et certains standards d'étalonnage sont réinjectés en fin de série. Le point d'étalonnage le plus bas, correspondant à la limite de quantification (LOQ), est utilisé pour garantir une sensibilité suffisante au début et à la fin de l'analyse. La LOQ est définie comme étant la plus faible concentration qui a été validée avec une précision acceptable.

(iv) En parallèle, deux échantillons de référence ont également été analysés selon les trois méthodes d'analyse mentionnées précédemment. Ces échantillons, de raisins secs de cépage Sultanine, ont été analysés par le laboratoire Sciensano dans le cadre d'un test d'aptitude. Pour chaque échantillon et pour chaque substance cible, les concentrations mesurées chez Sciensano ont été comparées aux concentrations moyennes et écarts-types calculés à partir des résultats de tous les participants au test d'aptitude. Les résultats sont considérés comme acceptables s'ils sont compris dans l'intervalle moyenne ± 2 écart-types de tous les participants (ce qui correspond à un z-score de valeur absolue ≤ 2.0) (Commission européenne, 2022).

2.3.6. Évaluation de la conformité des vins et raisins secs tunisiens aux LMR européennes et internationales

L'évaluation de la non-conformité des échantillons de vin et de raisins secs a été effectuée en se référant aux recommandations publiées par la Commission européenne. Pour évaluer la conformité à une LMR, la "LMR dérivée" pour le produit transformé est obtenue en multipliant le facteur de transfert (PF) par la LMR du produit brut pertinent couvert par l'Annexe I du règlement CE n°396/2005 (Parlement européen et Conseil de l'Union européenne, 2005). Les PF sont utilisés pour ajuster les LMR des produits transformés en fonction des changements de concentration de résidus résultant du traitement (European commission, 2022). Les valeurs des PF pour chaque combinaison substance active/produit transformé sont exposées dans l'article de Zincke *et al.* (2022). La LMR dérivée (produit transformé), associée à chaque substance et à chaque produit transformé (vin et raisin sec) est obtenue selon l'équation (1) suivante :

LMR dérivée (produit transformé) = LMR européenne (produit frais) × facteur de transfert (1)
(European commission, 2022)

Concernant l'évaluation du dépassement des LMR établies par la Commission du Codex Alimentarius, il a été tenu compte des LMR établies pour le raisin (FAO/WHO, 2023a), dans le cas du vin et de celles spécifiquement établies pour les raisins secs (FAO/WHO, 2023b), dans le cas des raisins secs.

3. Résultats et discussion

3.1. Validation des méthodes d'analyse

Pour les échantillons de moûts, de vins, de raisins de table et de raisins secs, les LOQ étaient de 0,01 mg/kg sauf pour le CS₂ (LOQ = 0,02 mg/kg). Les linéarités des droites d'étalonnage respectaient les critères avec un écart entre la concentration mesurée et la concentration théorique inférieur à ± 20 % pour chaque point.

Les critères des temps de rétention des analytes détectés et des intensités relatives des ions étaient respectés également dans tous les échantillons.

Les rendements d'extraction pour les échantillons de contrôle de vin (des vins blanc et rouge issus d'agriculture biologique, fortifiés à la LOQ et à 10 fois la LOQ) étaient compris entre 74 et 101 % pour les pesticides analysés avec la méthode LC-MS/MS, entre 60 et 76 % pour les pesticides analysés avec la méthode GC-MS/MS, et de 75 % pour le CS₂ analysé avec la méthode spécifique. Pour les autres matrices, ces rendements étaient de 97 % (raisins frais) et compris entre 51 % et 92 % (raisins secs) pour les pesticides analysés avec la méthode LC-MS/MS. Pour les pesticides analysés avec la méthode GC-MS/MS, les rendements d'extraction étaient compris entre 58 % et 79 % (raisins de table) et entre 41 %

et 77 % (raisins secs). Pour le CS₂, les rendements d'extraction étaient de 41 % (raisins de table) et 53 % (raisins secs). Les rendements obtenus pour les deux échantillons de référence analysés varient de 62,6 % à 112,8 % pour l'ensemble des substances actives testées. De plus, toutes les valeurs détectées dans les échantillons sont considérées acceptables, avec des z-scores variant de -1,8 à 1,9.

3.2. Occurrence des résidus de pesticides dans les sous-produits du raisin de cuve

3.2.1. Les résidus de pesticides identifiés dans les échantillons de moûts

Les analyses ont été réalisées pour 24 échantillons de moûts collectés à l'issue des étapes de pressurage (6), débourbage (5) et de fermentation alcoolique (8) (vinification en blanc et en rosé) et de fermentation alcoolique (5) pour la vinification en rouge. Huit substances actives dont six fongicides et deux insecticides ont été détectées (Tableau 1). Ces molécules ont été également détectées dans les échantillons frais de raisins de cuve, comme nous l'avons déjà exposé dans l'étude 3.

Tableau 1. Liste des substances actives détectées dans les échantillons de moûts de raisins (n = 24) à la suite des étapes de pressurage, débourbage et fermentation alcoolique (vin blanc et rosé) et fermentation alcoolique (vin rouge)

Substance active	Gamme de concentration* (mg/kg)	LMR UE ^a (mg/kg)	LMR internationale ^b (mg/kg)	Nombre d'échantillons ≥ LOQ	Nombre d'échantillons ≥ LMR UE
carbendazime (f)	0,014-0,16	0,5	5	12	0
diméthoate (i)	0,013-0,025	0,01	n.m	2	2
fenhexamid (f)	0,011-0,050	13	15	6	0
imidaclopride (i)	0,011-0,094	1	1	9	0
iprodione (f)	0,032	0,01	10	1	1
iprovalicarbe (f)	0,010-0,023	5	n.m	8	0
métalaxyl (f)	0,017	1	1.5	1	0
thiophanate-méthyl (f)	0,017-0,32	3	n.m	12	0

(f) : fongicide ; (i) : insecticide ; * : pour les échantillons présentant une concentration > LOQ ; ^a LMR UE : européenne pour les raisins de cuve (Parlement européen, Conseil de l'Union européenne, 2005. Règlement (CE) N° 396/2005 du Parlement européen et du Conseil du 23 février 2005 concernant les limites maximales applicables aux résidus de pesticides présents dans ou sur les denrées alimentaires et les aliments pour animaux d'origine végétale et animale et modifiant la directive 91/414/CEE du Conseil Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE. Off. J. EUR. Union 70, 1–16 ; ^b LMR internationale pour les raisins frais dans le Codex Alimentarius (FAO/WHO, 2023. FB 0269 - Grapes. Codex Alimentarius, International Food Standards. URL https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/dbs/pestres/commodities-detail/en/?c_id=113)

Les résultats détaillés sont montrés par cave (cave 1 à 4) dans les tableaux 2A à 2D. Notons qu'aucun résidu n'a été détecté à un niveau quantifiable dans les échantillons provenant de la cave 3 (Tableau 2C). D'autre part, les échantillons provenant des caves 1 et 2 ont montré le plus grand nombre de résidus par échantillon, variant entre 1 et 5 résidus (Tableaux 2A et 2B). Après l'étape de pressurage,

les échantillons ont présenté entre 3 et 5 résidus (après vinification en rosé pour la cave 1 et vinification en blanc et en rosé pour la cave 2), avec des concentrations allant jusqu'à 0,32 mg/kg (Tableaux 2A et 2B). La fréquence de détection des résidus de pesticides, après l'étape de débourage (après vinification en rosé pour la cave 1 et vinification en rosé pour la cave 2), variait entre 3 et 4, avec des concentrations variant de 0,011 mg/kg à 0,16 mg/kg (Tableaux 2A et 2B).

Après l'étape de fermentation alcoolique, les principaux résidus identifiés au niveau des caves 1, 2 et 4 comprennent le carbendazime (entre < LOQ et 0,063 mg/kg), le fenhexamide (< LOQ à 0,110 mg/kg), l'imidaclopride (< LOQ à 0,037 mg/kg), l'iprovalicarbe (< LOQ à 0,020 mg/kg) et le thiophanate-méthyl (< LOQ à 0,170 mg/kg) (Tableaux 2A, 2B et 2D). Les 5 résidus précités ont été retrouvés systématiquement dans tous les échantillons de moût prélevés après fermentation provenant de la cave 1 (4 échantillons) (Tableau 2A). Les résultats du tableau 2 montrent une certaine cohérence avec les données obtenues dans l'étude 3 concernant la présence de résidus dans les raisins de cuve. En effet, les échantillons de raisins de cuve provenant de la cave 3 ne contenaient que 1 à 2 résidus par échantillon, à des niveaux proches de la LOQ (étude 3), ce qui pourrait expliquer le fait qu'aucun résidu n'ait été détecté dans les échantillons provenant de la même cave dans la présente étude (Tableau 2C). En revanche, les échantillons en provenance des caves 1 et 2 avaient montré la présence de plusieurs substances actives couramment détectées dans les raisins de cuve, telles que l'imidaclopride (75 % des viticulteurs), le thiophanate-méthyl (79 %), le fenhexamide (61 %) et l'iprovalicarbe (64 %), qui avaient été rapportés par les viticulteurs lors d'une l'enquête de terrain (Tableau 1, étude 3) et que l'on retrouve également dans les échantillons de la présente étude au niveau des caves 1 et 2 (Tableaux 2A et 2B).

La présence de fenhexamide peut être le résultat de sa persistance au cours du processus de vinification, comme démontré par Čuš *et al.* (2010) et Angioni *et al.* (2011). Toutefois, le chlorpyrifos-éthyl (détecté dans l'étude précédente dans 10 échantillons de raisins de cuve à des teneurs dépassant la LMR (0,01 mg/kg) et mentionné par 64 % des viticulteurs enquêtés (étude 3) n'a pas été détecté dans les échantillons de moûts prélevés à l'issue des différentes étapes de vinification (Tableau 2). Cela pourrait s'expliquer par sa capacité à être éliminé durant l'étape de pressurage (jusqu'à 98 %) ou encore à son faible temps de demi-vie ($t_{1/2} = 4,4$ heures) ce qui pourrait être expliqué par sa dégradation rapide (Navarro *et al.*, 2001).

Dans les échantillons de moût, trois dépassements de la LMR européenne ont été détectés dans un échantillon après débourage et un échantillon après fermentation alcoolique (vinification en blanc), provenant de la cave 2, pour le diméthoate (LMR = 0,01 mg/kg), avec des valeurs de 0,025 mg/kg et de 0,013 mg/kg, respectivement (Tableau 2B). Une non-conformité a été également décelée dans un échantillon après fermentation alcoolique (vinification en rouge) issu de la cave 4 pour l'iprodione à une concentration de 0,032 mg/kg, soit trois fois la LMR européenne correspondante. Il est important de noter que les deux substances actives mentionnées, à savoir le diméthoate et l'iprodione, n'ont pas été

évoquées lors de l'enquête de terrain menée auprès des viticulteurs associés aux caves fournissant les échantillons de moût. La présence de ces substances peut être attribuée à une contamination provenant d'un traitement effectué sur une parcelle voisine, ou à un manque d'information des produits utilisés par les viticulteurs. Il est à noter que ces deux substances sont couramment employées dans la gestion de la pourriture grise de la vigne (Garcia-Cazorla et Xirau-Vayreda, 1994; Edder *et al.*, 2009).

Dans cette étude, les échantillons de moût ont été prélevés de manière aléatoire aux différentes étapes de production, il ne s'agit pas d'un suivi de production contrôlée, il n'est donc pas possible de suivre strictement le transfert de pesticides des raisins de cuve frais vers le vin et d'évaluer l'impact des différentes étapes de la vinification sur le transfert des pesticides. De plus, les teneurs en résidus de pesticides sont très faibles (< 1 mg/kg et souvent $< \text{LOQ}$), ce qui ne permet pas une telle évaluation. Pour ce faire, il conviendrait de réaliser une expérience contrôlée de vinification à partir d'échantillons de raisins frais supplémentés avec une quantité définie de pesticides, et suivre la concentration des produits intermédiaires obtenus au cours des étapes de vinification, ce qui n'a pas été possible dans le cadre du présent travail.

Il convient également de mentionner qu'une étape d'assemblage survient tant au début du processus de vinification, réunissant des raisins du même cépage provenant de différents producteurs (pour les caves privées 1, 2 et 4), qu'à la fin du processus (après la fermentation), mélangeant des moûts fermentés issus de cépages et de producteurs variés (pour toutes les caves visitées). Ce procédé d'assemblage est mené par l'œnologue des caves dans le but d'améliorer la qualité du vin et d'obtenir des arômes distinctifs. Cependant, cette pratique peut influencer la présence et le niveau des résidus de pesticides, soit en introduisant des substances actives non déclarées par les viticulteurs lors de l'enquête, soit en diluant les molécules déjà présentes (Grinbaum *et al.*, 2019).

Tableau 2 : Résidus de pesticides (mg/kg) détectés dans les échantillons de moût prélevés à l'issue des différentes étapes de vinification dans les caves 1(A) ; 2 (B); 3(C) et 4 (D). Chaque colonne représente un échantillon de moût.

(A) Cave 1

Type de vinification	Rosé 1			Rosé 2			Rouge 1	Rouge 2
Étape de vinification	Après pressurage	Après débourbage	Après fermentation	Après pressurage	Après débourbage	Après fermentation	Après fermentation	Après fermentation
Carbendazime	0,047	0,038	0,018	< LOQ	< LOQ	0,04	0,048	0,024
Diméthoate	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
Fenhexamide	< LOQ	< LOQ	0,05	< LOQ	< LOQ	0,031	0,05	0,11
Imidaclopride	0,012	0,011	0,023	< LOQ	< LOQ	0,027	0,027	0,037
Iprodione	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
Iprovalicarbe	0,01	0,023	0,019	< LOQ	< LOQ	0,018	0,016	0,02
Métalaxyl	0,017	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
Thiophanate méthyl	0,32	0,021	0,017	< LOQ	< LOQ	0,061	0,03	0,026
Nombre de résidus quantifiés	5	4	5	0	0	5	5	5

(B) Cave 2

Type de vinification	Blanc			Rosé		Rouge
Étape de vinification	Après pressurage	Après débourbage	Après fermentation	Après pressurage	Après fermentation	Après fermentation
Carbendazime	0,047	0,160	0,055	0,014	< LOQ	< LOQ
Diméthoate	< LOQ	0,025	0,013	< LOD	< LOQ	< LOQ
Fenhexamide	< LOD	< LOQ	< LOQ	0,012	< LOQ	< LOQ
Imidaclopride	0,094	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
Iprodione	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
Iprovalicarbe	0,014	< LOQ	< LOQ	0,017	< LOQ	< LOQ
Métalaxyl	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
Thiophanate méthyl	0,300	0,033	0,170	< LOQ	0,020	< LOQ
Nombre de résidus quantifiés	4	3	3	3	1	0

(C) Cave 3

Type de vinification	Blanc			Rosé		Rouge
Étape de vinification	Après pressurage	Après débourbage	Après fermentation	Après pressurage	Après fermentation	Après fermentation
Carbendazime	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
Diméthoate	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
Fenhexamide	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
Imidaclopride	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
Iprodione	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
Iprovalicarbe	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
Métalaxyl	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
Thiophanate méthyl	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
Nombre de résidus quantifiés	0	0	0	0	0	0

(D) Cave 4

Type de vinification	Blanc			Rosé		Rouge
Étape de vinification	Après pressurage	Après débourbage	Après fermentation	Après pressurage	Après fermentation	Après fermentation
Carbendazime	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	0.063	0.061
Diméthoate	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
Fenhexamide	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	0.013	< LOQ
Imidaclopride	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	0.015	0.012
Iprodione	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	0.032	< LOQ
Iprovalicarbe	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
Métalaxyl	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
Thiophanate méthyl	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	0.130	0.034
Nombre de résidus quantifiés	0	0	0	0	5	3

3.2.2. Occurrence des résidus de pesticides dans les échantillons de vin

Sept substances actives différentes, 6 fongicides et 1 insecticide, ont été détectées dans les 15 échantillons de vin analysés (Tableau 3). Le nombre de résidus détectés dans les échantillons de vin variait entre 0 pour deux échantillons issus de la cave 3 (rosé et rouge) à un maximum de 7 résidus pour l'échantillon de vin rouge de la cave 4 (Figure 3). Le nombre de substances actives mentionnées dans notre étude est très proche de celui rapporté dans des échantillons de vins italiens où 11 substances actives différentes ont été détectées (Angioni et Dedola, 2013). Cependant, ce chiffre reste inférieur à celui rapporté dans 12 échantillons de vins prélevés dans divers points de vente en République Tchèque avec 25 substances actives qui ont été recensées (Schusterova *et al.*, 2021). Un nombre similaire a été rapporté dans les échantillons de vins provenant des Iles Canaries (Santana-Mayor *et al.*, 2023). Cela pourrait démontrer un usage plus fréquent des pesticides dans ces pays par rapport à la Tunisie.

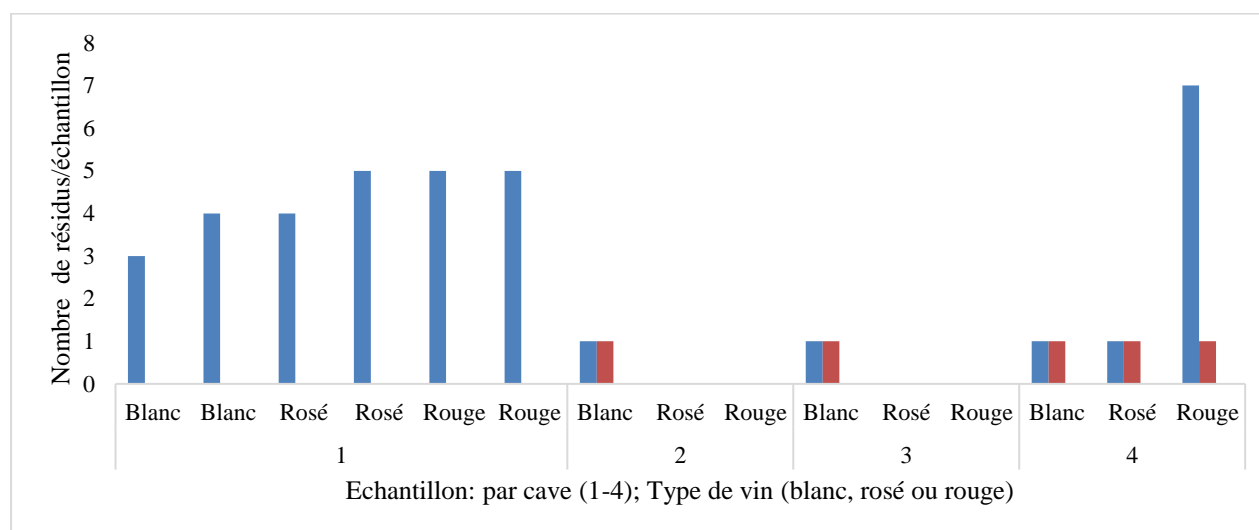


Figure 3. Prévalence des résidus de pesticides dans les 15 échantillons de vin analysés : les résidus quantifiables (en bleu) et les résidus non-conformes à la LMR européenne (en rouge) (tableau S1)

Un groupe de 4 fongicides (carbendazime, fenhexamide, iprovalicarbe et thiophanate-méthyl) et un insecticide (imidaclopride) ont été détectés simultanément dans 3 échantillons de vin de la cave 1 ainsi que dans l'échantillon de vin rouge de la cave 4 à des valeurs (0,015 – 0,091 mg/kg) largement inférieures aux LMR européennes (dérivées) et internationales respectives (de 10 à 200 fois) (Tableau 3 et Figure 3). Cette observation peut être expliquée par l'utilisation de ces 5 substances par tous les viticulteurs de la cave 1, comme mentionné précédemment. Ces molécules ont également été rapportées dans des études antérieures. En effet, le fenhexamide a été détecté dans des échantillons de vins suisses,

espagnols, slovènes et tchèques avec une concentration allant jusqu'à 0,59 mg/kg (Edder et Ortelli, 2005; Santana-Mayor *et al.*, 2020; Schusterova *et al.*, 2021; Alonso González *et al.*, 2022; Čuš *et al.*, 2022; Santana-Mayor *et al.*, 2023), confirmant ainsi la persistance de cette molécule comme rapporté précédemment (Čuš *et al.*, 2010b). Toutefois, les teneurs rapportées dans la littérature sont nettement supérieures à celle détectées dans cette étude avec une concentration maximale égale à 0,091 mg/kg. L'imidaclopride a été détecté dans plus de la moitié des échantillons de vins espagnols analysés (25 échantillons), avec des concentrations allant jusqu'à 0,033 mg/L (Pérez-Mayán *et al.*, 2020). Ces résultats sont cohérents avec les données de la présente étude, telles que présentées dans le Tableau 3. La présence de l'imidaclopride est due à sa solubilité dans l'eau et son faible coefficient de partage octanol-eau (Kittelmann *et al.*, 2022). La présence des substances actives : boscalid, iprovalicarbe, thiophanate-méthyl et carbendazime dans le vin a été également mentionnée dans d'autres études conduites sur des échantillons de vins slovènes et tchèques à des teneurs inférieures à la LMR (Čuš *et al.*, 2010b; Česnik *et al.*, 2015, 2016; Schusterova *et al.*, 2021).

Tableau 3. Liste des substances actives détectées dans les échantillons de vin (n = 15)

Substance active	Nombre d'échantillons \geq LOQ	Gamme de concentration (mg/kg)	LMR UE ^a (mg/kg)	LMR UE ^{a*} dérivée (mg/kg)	LMR ^b internationale (mg/kg)
Boscalid	1	0,025	5	0,95-2,01	5
Carbendazime	4	0,015-0,052	0,5	0,85	3
Fenhexamide	7	0,016-0,091	13	2,99-5,33	15
Imidaclopride	6	0,019-0,031	1	1-1,1	1
Iprodione	5	0,020-0,060	0,01	0,01	10
Iprovalicarbe	7	0,016-0,038	5	3,25-3,3	n.m
Thiophanate-méthyl	5	0,012-0,043	3	2,25-3,6	n.m

n.m non mentionné dans la liste de LMR internationale fixée par le codex Alimentarius pour les raisins ; ^a LMR européenne fixée pour les raisins de cuve (Parlement européen et Conseil de l'Union européenne, 2005) ; ^{*} LMR dérivée de la LMR européenne suite à la considération des facteurs de transfert correspondant à chaque substance active et pour chaque type de vin (blanc et rouge) (European commission, 2022; Zincke *et al.*, 2022) ; ^b LMR internationale fixée par le Codex Alimentarius pour les raisins (FAO/WHO, 2023a)

Toutes les molécules détectées dans les échantillons de vin ont également été retrouvées dans les échantillons de moûts issus des mêmes caves, à l'exception du boscalid. Cette molécule a été détectée dans un échantillon de vin rouge de la cave 4 (à une concentration inférieure à la LMR) alors qu'elle n'était pas détectée dans les échantillons de moûts correspondants. De plus, le taux de détection du

fenhexamide est plus élevé dans les échantillons de vin. Cette observation pourrait s'expliquer par la pratique de l'assemblage des vins issus de différents cépages après la fermentation. En effet, dans les vins produits à partir de plusieurs cépages, des concentrations plus élevées de pesticides sont souvent observées dans une seule bouteille (Vargas *et al.*, 2018). Dans 4 échantillons de vin, l'iprodione est le seul résidu détecté, avec des concentrations allant de 0,020 à 0,060 mg/kg, bien qu'il n'ait pas été détecté dans les échantillons de moûts correspondants. En outre, il est à noter que les substances actives diméthoate et métalaxyl n'ont pas été détectées dans les échantillons de vins.

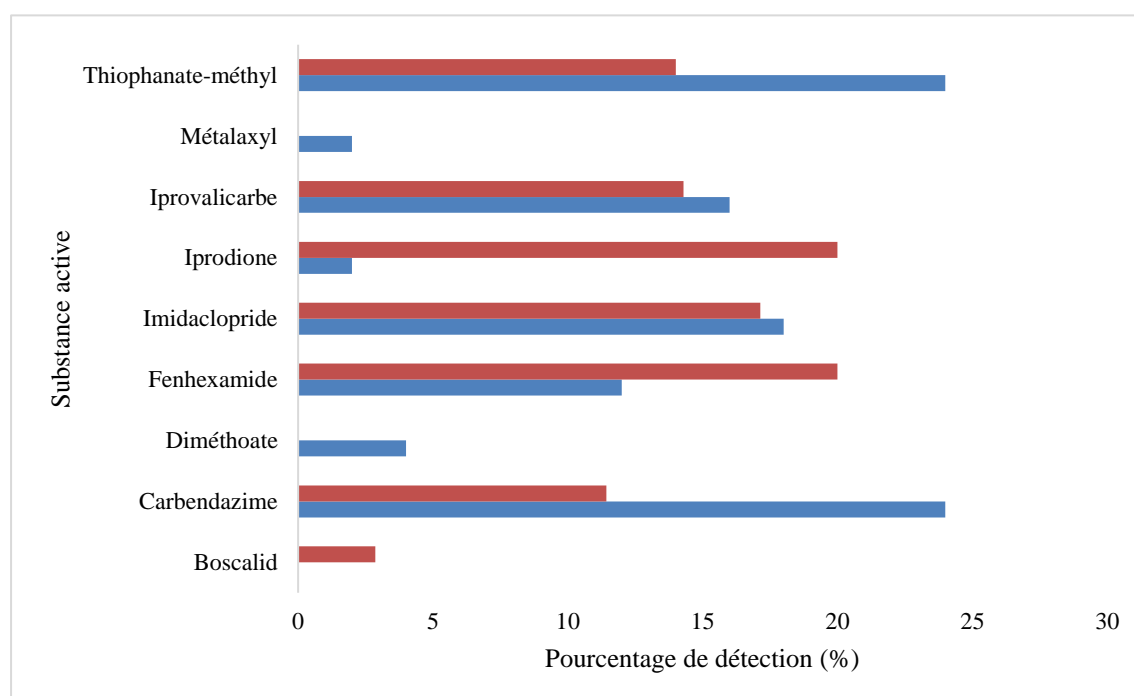


Figure 4. Pourcentage de détection des substances actives dans les 24 échantillons de moûts (en bleu) et les 15 échantillons de vins (en rouge)

Les résultats indiquent que 5 échantillons (soit 33 %) présentent des dépassements de la LMR européenne (dérivée) pour l'iprodione à des teneurs allant jusqu'à 6 fois la limite maximale (Tableau 3). Cette substance pourtant non-mentionnée durant l'enquête évoquée précédemment (voir étude 3), ni détectée dans les échantillons de raisins de cuve issus des mêmes caves, est interdite en Europe. En revanche, aucun des échantillons de vins ne dépasse la LMR internationale fixée par le Codex Alimentarius pour les raisins. Une non-conformité a été également rapportée pour une substance active non-approuvée en Europe à savoir le carbendazime dans 8 échantillons de vins rouges et blancs issus

des Iles Canaries à une teneur allant jusqu'à trois fois la LMR européenne correspondante (LMR = 0,5 mg/kg) (Santana-Mayor *et al.*, 2023).

3.3. Occurrence des résidus de pesticide dans les échantillons de raisins de table avant et après séchage

3.3.1. Résidus de pesticides identifiés dans les échantillons de raisins de table

Environ 50 % des échantillons ne comportent aucun résidu quantifiable. En revanche, les échantillons 1, 2, 3 et 8 présentent au moins un résidu/ échantillon, avec un nombre maximum de 9 résidus détectés (figure 5) dans l'échantillon 8. Ces résultats se rapprochent de ceux rapportés précédemment sur les raisins de cuve (avec une fréquence moyenne de 8 résidus/ échantillon et une dominance nette des produits fongicides ((79 %) au dépend des produits insecticides) (étude 3). Toutefois, cette fréquence reste de loin inférieure à celle rapportée sur les raisins de table avec des valeurs allant jusqu'à 20 résidus/ échantillon (Bouagga *et al.*, 2019a).

Quatorze substances actives ont été détectées dans les 8 échantillons de raisins de table analysés avant l'étape de prétraitement, dont 79 % sont des fongicides comme le montre le Tableau 4. Les substances actives telles que la deltaméthrine, le difénoconazole, le CS₂ (produit de dégradation du mancozèbe) et le thiophanate-méthyl, ont été mentionnées initialement par les viticulteurs à la suite d'une enquête de terrain (voir les détails dans l'étude 1). Cependant, les substances actives telles que l'iprovalicarbe, le pyriméthanil, le boscalid et l'ametotradine ont été détectées dans les échantillons de raisin provenant de l'industrie (n'ayant pas mentionné préalablement le programme de traitement adopté sur la parcelle correspondante).

La détection de la carbendazime (pourtant non-mentionné par les viticulteurs) s'explique par la dégradation du thiophanate-méthyl à la suite des étapes de prétraitement et de séchage (Schusterova *et al.*, 2021; Santana-Mayor *et al.*, 2023). En outre, l'iprodione a été détecté dans 4 échantillons, bien que son utilisation n'ait pas été rapportée lors de l'enquête.

Tableau 4. Liste des substances actives quantifiées dans les échantillons de raisins de table frais (n = 8) avant l'étape de séchage

Substance active	Nombre d'échantillons \geq LOQ	Gamme de concentration (mg/kg)	LMR internationale raisins de table (mg/kg) ^a	LMR Européenne raisins de table (mg/kg) ^b
Ametoctradine (f)	1	0,018	6	6
Boscalid (f)	1	0,13	5	5
Carbendazime (f)	1	0,024	3	0,3
Chlorpyrifos-éthyl (i)	1	0,041	n.m	0,01
CS ₂ (f)	2	0,051 - 0,27	5	5
Cyperméthrine (i)	1	0,1	0,2	0,5
Deltaméthrine (i)	1	0,28	0,2	0,2
Difénoconazole (f)	2	0,22 - 0,33	3	3
Diméthoate (i)	0	-	n.m	0,01
Iprodione (f)	2	0,15 – 2	10	0,01
Iprovalicarbe (f)	1	0,028	n.m	2
Myclobutanil (f)	1	0,7	0,9	1,5
Perméthrine (i)	0	-	2	0,05
Pyraclostrobin (f)	1	0,082	2	0,3
Pyriméthanil (i)	1	0,17	4	5
Tetraméthrine (i)	0	-	n.m	n.m
Thiophanate-méthyl (f)	1	0,022	n.m	0,1

n.m : non-mentionné dans la liste des limites maximales en résidus proposées le Codex Alimentarius pour les raisins frais ; (i) insecticide ; (f) fongicide ; ^a LMR internationale fixée par le Codex Alimentarius pour les raisins (FAO/WHO, 2023a) ; ^b LMR européenne fixée pour les raisins de table (Parlement européen et Conseil de l'Union européenne, 2005)

La fréquence de détection des substances actives varie entre 1 et 2, dans le cas notamment de l'iprodione et du difénoconazole, comme le montre le tableau 4. Les concentrations varient entre 0,018 et 2 mg/kg dans le cas de l'iprodione. Selon la réglementation européenne (Parlement européen et Conseil de l'Union européenne, 2005), un dépassement de la LMR fixée pour les raisins de table a été noté pour les substances actives iprodione (dans deux échantillons) à des teneurs allant jusqu'à 200 fois la LMR (= 0,01 mg/kg) et chlorpyrifos-éthyl dans un échantillon à une concentration de l'ordre de 0,041 mg/kg, soit 4 fois plus que la LMR correspondante (LMR = 0,01 mg /kg). La substance active deltaméthrine a été détectée dans un seul échantillon à une teneur égale à la LMR internationale, soit

0,2 mg/kg (FAO/WHO, 2023a). De plus, aucun dépassement de la LMR internationale n'a été déterminé (Tableau 4).

3.3.2. Résidus de pesticides identifiés dans les échantillons de raisins de table après prétraitement et séchage

Le procédé de séchage peut avoir un effet sur les résidus de pesticides dans les produits transformés. La présence de résidus de pesticides dans les produits transformés peut augmenter ou diminuer en raison d'une série d'opérations pendant le traitement (Hou *et al.*, 2020).

Il convient de souligner que le nombre limité d'échantillons utilisés dans cette étude n'assure pas une représentativité exhaustive de la parcelle étudiée et de la zone d'échantillonnage (la région de Rafraf). Il est, par conséquent, important de tenir compte de cette limitation lors de l'interprétation des résultats.

L'analyse des échantillons de raisins secs a révélé la présence d'au moins un résidu de pesticide dans 88 % des échantillons examinés avec une moyenne de 2,9 résidus par échantillon (Figure 5). Le nombre de résidus par échantillon varie de 0 dans l'échantillon 7 à 8 dans l'échantillon 8, ce qui se rapproche des valeurs observées pour les échantillons de raisins frais avant et après prétraitement (Figure 5). Cependant, ces chiffres sont bien inférieurs à ceux rapportés pour les échantillons de raisins secs collectés sur les marchés grecs, où le nombre de résidus peut aller jusqu'à 24 par échantillon (Constantinou *et al.*, 2021). Les échantillons 5 et 6 contiennent un seul résidu. Cette observation peut être due soit au faible nombre de traitements (deux traitements par campagne agricole dans le cas de l'échantillon 6) ou au nombre limité de produits phytosanitaires employés (3 produits seulement dans le cas de l'échantillon 5) (Tableau 2 dans l'étude 1). L'échantillon 2 a révélé la présence simultanée des substances actives myclobutanil, deltaméthrine et iprodione, avec des concentrations allant de 0,50 mg/kg pour la deltaméthrine à 5,0 mg/kg pour l'iprodione. Au total, 17 substances actives différentes ont été détectées dont l'ametoctrazine et la cyperméthrine qui étaient détectables mais non quantifiables. Les substances actives carbendazime, deltaméthrine et difénocazole ont été les plus fréquemment détectées (dans 3 échantillons). L'analyse de deux échantillons de référence de raisin sec réalisée dans le laboratoire Sciensano a également montré la présence du carbendazime, du boscalid et du thiophanate-méthyl (également détecté dans un seul échantillon de la présente étude) à une teneur moyenne variant entre 0,051 et 0,184 mg/kg.

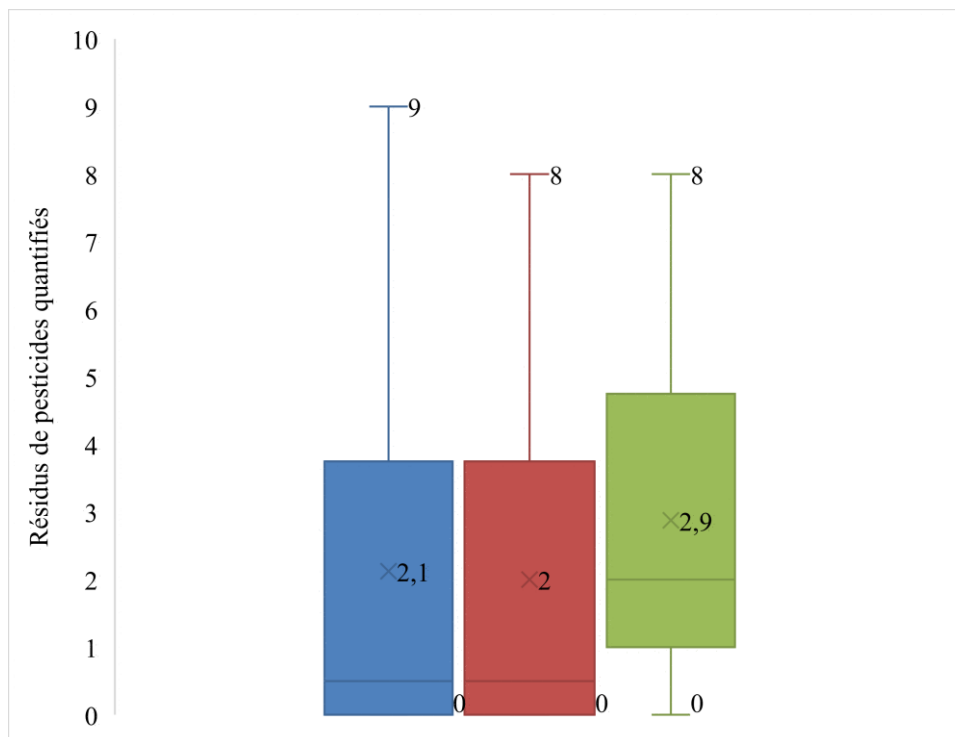


Figure 5. Répartition des résidus de pesticides quantifiés dans les huit échantillons de raisins de table (en termes de nombre de résidus différent par échantillon) avant prétraitement (en bleu), après prétraitement (en rouge) et après séchage (en vert) (x : la moyenne des résidus détectées dans les échantillons de raisins de table avant et après prétraitement et après séchage)

En vue d'évaluer la conformité des échantillons de raisins secs, nous avons pris en considération les PF moyens rapportés dans le document de la commission européenne (European Commission, 2022) pour chaque substance active détectée. Il est important de noter que les valeurs moyennes des PF indiquées dans ce document sont plus ou moins robustes, en fonction des données disponibles pour les calculer. Les PF proposés peuvent être simplement indicatifs, voire absents pour certaines molécules, telle que l'iprodione, la cyperméthrine, la deltaméthrine, le difénoconazole, le diméthoate, le myclobutanil, la perméthrine et la tetraméthrine. Parmi les pesticides concernés par la présente étude, notons que pour le boscalid, un PF moyen est proposé à titre indicatif en raison de données manquantes sur les conditions de stockage, tandis que pour le chlorpyrifos-éthyl et le carbendazime, le PF proposé est remis en cause par l'agence allemande de sécurité des aliments (BfR) car le calcul s'est basé sur un nombre très limité de données, avec un pourcentage de variation supérieur à 50 % (German Federal Institute for Risk Assessment, 2022). Pour les PF absents de ces bases de données ou pour ceux qui sont

jugés indicatifs uniquement ou inacceptables par le BfR, le PF par défaut de 4,7 proposé dans le modèle d'évaluation de l'exposition de l'EFSA (PRIMo v.3.1) a été utilisé (Constantinou *et al.*, 2021).

Comme présenté dans le tableau 5, 4 substances actives ont révélé des concentrations de résidus dans les raisins secs égales ou supérieures à la LMR européenne dérivée à partir des PF. Ces substances comprennent trois insecticides : le chlorpyriphos-éthyl, le diméthoate et la perméthrine, avec des concentrations allant jusqu'à 0,32 mg/kg pour le diméthoate, soit 7 fois la LMR dérivée correspondante (= 0,047 mg/kg), ainsi qu'un fongicide, l'iprodione, avec une concentration de 5 mg/kg, soit 106 fois la LMR (tableau 5). Cette non-conformité a été observée dans trois échantillons de raisins secs, soit dans 37,5 % des échantillons collectés (8 au total).

Des résultats similaires ont été rapportés avec un dépassement de la LMR détecté dans trois échantillons de raisin sec (collecté dans les supermarchés en Turquie) pour les substances actives chlorpyriphos-éthyl (1 échantillon), λ -cyhalothrine (4 échantillons) et chlorpyriphos-méthyl (2 échantillons), tandis que les substances actives deltaméthrine et iprodione ont été détectées dans 6 et 2 échantillons à des teneurs inférieures à la LMR (Turgut *et al.*, 2010).

Tableau 5. Liste des substances actives quantifiées dans les échantillons de raisins secs (n = 8)

Substance active	Nombre d'échantillons \geq LOQ	Gamme de concentration (mg/kg)	LMR internationale ^a (mg/kg)	LMR Européenne ^b (mg/kg)	LMR Européenne dérivée (mg/kg)*
Ametoctradine	0	< LOQ	20	6	19,8
Boscalid	1	0,06	10	5	23,5
Carbendazime	3	0,011-0,03	n.m	0,3	1,41
Chlorpyriphos-éthyl	2	0,03 – 0,05	n.m	0,01	0,047
CS ₂	2	0,051 – 0,28	n.m	5	0,6
Cyperméthrine	0	< LOQ	0,5	0,5	2,35
Deltaméthrine	3	0,02 – 0,50	n.m	0,2	0,94
Difénoconazole	3	0,058 – 0,62	6	3	14,1
Diméthoate	1	0,32	n.m	0,01	0,047
Iprodione	1	5	n.m	0,01	0,047
Iprovalicarbe	1	0,017	n.m	2	2,4
Myclobutanil	1	3	6	1,5	7,05
Perméthrine	1	0,25	n.m	0,05	0,24
Pyraclostrobine	1	0,024	n.m	0,3	0,87
Pyriméthanil	1	0,24	5	5	8
Tetraméthrine	1	0,06	n.m	n.m	n.m
Thiophanate-méthyl	1	0,017	n.m	0,1	0,025

*n.m non mentionné dans la liste de LMR internationale fixée par le codex Alimentarius pour les raisins ; ^a LMR internationale fixée par le Codex Alimentarius pour les raisins secs (FAO/WHO, 2023b); * LMR dérivée de la LMR européenne suite à la considération des facteurs de transfert correspondant à chaque substance active après*

l'étape de séchage (European commission, 2022; Zincke *et al.*, 2022) ; ^b *LMR européenne fixée pour les raisins de table* (Parlement européen et Conseil de l'Union européenne, 2005)

Par ailleurs, un dépassement de la LMR a été également mentionné pour 5 échantillons de raisins secs, collectés dans des points de vente en Chypre, pour 6 substances actives dont le carbendazime et l'iprodione a une teneur allant jusqu'à 3 fois la LMR dérivée (= 0,047 mg/kg) (Constantinou *et al.*, 2021) ce qui est largement inférieur à la teneur détectée dans la présente étude. En revanche, Navarro *et al.* (2001) ont montré la présence du chlorpyrifos-éthyl à une teneur inférieure à la LMR contrairement à ce qui a été rapporté dans la présente étude. Par ailleurs, en prenant en compte les LMR établies par le *Codex Alimentarius* pour un nombre restreint de substances actives dans les raisins secs (voir tableau 5), aucun dépassement de la LMR n'a été détecté.

Une évaluation plus approfondie de l'exposition aux pesticides *via* la consommation de raisins secs, en particulier pour les pesticides ayant présenté une non-conformité par rapport à la LMR européenne, à travers une étude plus étendue et une meilleure traçabilité des résidus, est nécessaire pour mieux comprendre les risques associés à la consommation de raisins secs pollués par des pesticides.

4. Conclusion

Les résultats de cette étude mettent en évidence la présence simultanée d'un groupe de pesticides dans les échantillons de moûts et de vins, incluant le carbendazime, le thiophanate-méthyl, le fenhexamide, l'iprovalicarbe et l'imidaclopride. Cette présence est attribuée à la persistance de ces substances ou à leurs caractéristiques physico-chimiques favorisant leur transfert des raisins frais vers les produits transformés. Une non-conformité par rapport aux LMR européennes dérivées (estimées pour les produits transformés) a été observée dans 33 % des échantillons de vins et dans 37,5 % des échantillons de raisins secs, notamment pour des substances actives non-approuvées en Europe telles que le chlorpyrifos-éthyl, l'iprodione et le diméthoate.

Malgré ces dépassements de LMR, il demeure difficile de confirmer le risque encouru par le consommateur tunisien. Afin d'évaluer de manière plus précise le risque d'exposition, l'utilisation d'outils appropriés tels que le modèle PRIMo v.3.1 (Pesticide Residue Intake Model) pour l'évaluation du risque lié aux résidus de pesticides dans les aliments est recommandée. De plus, il est nécessaire de mettre en place des mesures de contrôle et de suivi rigoureuses pour assurer la sécurité des consommateurs et garantir la qualité du produit.

Données Supplémentaires**Tableau S1.** Concentrations des substances actives détectées dans les 15 échantillons de vins analysés

Cave	Type de vin	Substance active	Concentration (mg/kg)
Cave 1	Blanc	Carbendazime (f)	< LOQ
		Fenhexamide (f)	0,085
		Imidaclopride (I)	0,031
		Iprovalicarbe (f)	0,054
		Thiophanate-méthyl (f)	< LOQ
	Blanc	Carbendazime (f)	< LOQ
		Fenhexamide (f)	0,065
		Imidaclopride (I)	0,025
		Iprovalicarbe (f)	0,037
		Thiophanate-méthyl (f)	0,012
	Rosé	Carbendazime (f)	0,039
		Fenhexamide (f)	0,046
		Imidaclopride (I)	0,015
		Iprovalicarbe (f)	0,016
		Thiophanate-méthyl (f)	0,043
	Rosé	Carbendazime (f)	< LOQ
		Fenhexamide (f)	0,064
		Imidaclopride (I)	0,026
		Iprovalicarbe (f)	0,034
		Thiophanate-méthyl (f)	0,012
Rouge	Carbendazime (f)	0,035	
	Fenhexamide (f)	0,053	
	Imidaclopride (I)	0,022	
	Iprovalicarbe (f)	0,021	
	Thiophanate-méthyl (f)	0,017	
Rouge	Carbendazime (f)	0,015	
	Fenhexamide (f)	0,091	
	Imidaclopride (I)	0,019	
	Iprovalicarbe (f)	0,029	
	Thiophanate-méthyl (f)	< LOQ	
Cave 2	Blanc	Iprodione (f)	0,06
	rosé	-	-

	rouge	-	-
Cave 3	Blanc	Iprodione (f)	0,03
	Rosé	Iprodione (f)	< LOQ
	Rouge	Iprodione (f)	< LOQ
Cave 4	Blanc	Iprodione (f)	0,024
	Rosé	Iprodione (f)	0,021
	Rouge	Boscalid (f)	0,025
		Carbendazime (f)	0,053
		Fenhexamide (f)	0,016
		Imidaclopride (I)	< LOQ
		Iprovalicarbe (f)	0,038
		Iprodione (f)	0,021
		Thiophanate-méthyl (f)	0,017

(f) : fongicide ; (i) : insecticide

Discussion générale, Conclusions et Perspectives

Discussion générale

Le dépouillement des enquêtes menées durant les campagnes agricoles 2018-19 et 2019-20 dans les vignobles de cuve a révélé la diversité des cépages et des superficies cultivées ainsi que la variabilité des pratiques agricoles. Les enquêtes de terrains ont permis en outre de mettre en évidence les pratiques phytosanitaires et leurs contributions dans la présence de résidus de pesticides dans les raisins de table et de cuve et leurs sous-produits.

1. Influence de la pression phytosanitaire sur les pratiques adoptées

La pression phytosanitaire, exercée par les bioagresseurs, a une influence significative sur les pratiques phytosanitaires adoptées. Les proportions de fongicides et d'insecticides utilisés varient d'une culture à une autre. Dans le cas des agrumes par exemple, ce sont les insecticides qui sont les plus appliqués (plus de 80 % des pesticides appliqués alors que le pourcentage de fongicides ne dépasse pas les 20 %) (Bouagga et Chaabane, 2016). Pareillement, un recours fréquent aux insecticides (73 %) par rapport aux fongicides a été noté dans la culture de tomate (18 %) (Son *et al.*, 2018). En Tunisie, la vigne de cuve est sujette à une large gamme de bioagresseurs, principalement les maladies fongiques telles que le mildiou, l'oïdium et la pourriture grise. Par conséquent, nous avons noté l'usage dominant des fongicides (79 %) par rapport aux insecticides (21 %). Ces résultats corroborent ceux rapportés dans une étude conduite dans les vignobles de table en 2018 en Tunisie avec 68% des pesticides utilisés les appartiennent à la classe des fongicides (Bouagga *et al.*, 2018).

Ces observations ont été confirmées par le calcul de l'IFT (indicateur de fréquence de traitement). En effet, les moyennes des IFT obtenues pour les raisins de cuve dans la présente étude sont de 17,3 et 20,9 durant les campagnes agricoles 2018-19 et 2019-20, avec des IFT spécifiques des fongicides respectifs de l'ordre de 14,9 et de 18,7. Ces valeurs obtenues sont largement supérieures aux valeurs constatées pour les insecticides qui présentent un IFT insecticide moyen de l'ordre de 2,4 et 2,2 durant les deux campagnes agricoles, respectivement. Ceci est en accord avec ce qui a été rapporté dans des études antérieures réalisées sur la vigne de table et de cuve au Maroc, en Tunisie et en France, (Azzouzi *et al.*, 2014; Bouagga *et al.*, 2018; Pujol, 2017; Simonovici, 2019). Les maladies fongiques oïdium et mildiou peuvent représenter jusqu'à 100 % des IFT totaux notamment pour les viticulteurs qui n'ont pas recours aux traitements contre la pourriture grise et les ravageurs.

Cependant, les IFT calculés dans le cadre de cette étude restent largement inférieurs à ceux calculés pour les raisins de table en Tunisie, qui ont varié de 29 à 80 selon une étude conduite par Bouagga *et al.* (2018). Cette différence s'explique par la fréquence d'application (une moyenne de 8 traitements par an pour les raisins de cuve contre 24 traitements par an pour les raisins de table) et par

le nombre de produits commerciaux utilisés (37 préparations commerciales pour les raisins de cuve et plus de 90 pour les raisins de table) (Bouagga *et al.*, 2019). Par ailleurs, pour d'autres cultures telles que la tomate, où la fréquence moyenne de traitement est de 11,9, la valeur moyenne de l'IFT est de 9,8 (Son *et al.*, 2018). De même, dans une étude conduite au Maroc sur différentes cultures fruitières, la culture du bananier présente une valeur d'IFT moyenne de l'ordre de 38, démontrant la pression phytosanitaire exercée notamment par les bioagresseurs tels que les nématodes et les maladies fongiques induites par *Botrytis*. Spp. (Bouzaidi *et al.*, 2020). De même, l'IFT_{fongicide} calculé pour la culture de pomme de terre au Maroc présente 74,5 % de l'IFT total (avec une valeur moyenne égale à 28) pour remédier aux dégâts induits par *Phytophthora infestans* responsable du mildiou de la pomme de terre (Abbou *et al.*, 2023).

Malgré les résultats obtenus pour la vigne de cuve ou de table dans cette étude, il n'a pas été possible de réaliser une comparaison avec la situation à l'échelle nationale puisque qu'il n'existe pas d'IFT de référence dans le contexte tunisien. Il serait judicieux de lancer une campagne nationale afin d'obtenir ce type de données qui pourrait servir à estimer quelles sont les tendances d'utilisation des pesticides, avec la réduction de cette utilisation comme étant un objectif national.

2. Évaluation de la toxicité sur la santé humaine et sur l'environnement moyennant l'indicateur de risque des pesticides du Québec

L'indicateur de risque de pesticide du Québec (IRPeQ) est un outil de diagnostic et d'aide à la décision conçu pour optimiser la gestion des pesticides. Il comprend un volet santé (IRPeQ-santé) et un volet environnement (IRPeQ-environnement) (Samuel, 2007).

Le premier volet est axé sur la santé publique et comprend l'indice de risque de la santé publique (IRS), qui prend en considération un indice de risque toxicologique (IRT) incluant les risques de toxicité aiguë et chronique, ainsi que le type de formulation de la préparation commerciale et la dose appliquée (Samuel *et al.*, 2012).

Les fongicides à base de thiophanate méthyle (appliqués par 79 % des viticulteurs pour la lutte contre la pourriture grise) ont montré des valeurs IRS les plus élevées, variant entre 156,6 et 295,5. Il est à noter que le thiophanate-méthyl, non approuvé en Europe, est susceptible de provoquer des allergies cutanées, d'être nocif par inhalation et de causer des anomalies génétiques, d'où son indice toxicologique (IRT) élevé, qui est de 900.

Parmi les insecticides appliqués dans les vignobles de cuve ayant fait l'objet d'une enquête dans cette étude, le chlorpyrifos-éthyl (IRS = 274,4) et la lambda-cyhalothrine (IRS = 227,5) ont un impact plus important sur la santé humaine par rapport aux insecticides utilisés dans la vigne de table (entre 36 et

84 pour les insecticides). Par exemple, le chlorpyrifos-éthyl (largement utilisé dans les vignobles tunisiens, dans 64 % des cas enquêtés) est une substance modérément toxique par voie respiratoire, mais sévèrement toxique par voie cutanée (d'après des résultats obtenus chez le rat). Cette molécule est susceptible d'affecter le système nerveux, en plus de ses effets immunotoxiques, cytotoxiques et mutagènes (Ubaid ur Rahman *et al.*, 2021). En outre, des études ont établi des liens entre l'exposition au lambda-cyhalothrine et le développement de troubles endocriniens, de perturbations du système reproducteur et de risques potentiels de cancer (Aouey *et al.*, 2017).

Pour le deuxième volet environnemental, l'estimation de l'Indice de Risque Écotoxicologique (IRE) associé aux vignobles tunisiens ayant fait l'objet d'une enquête dans cette étude a montré un impact potentiel des insecticides à base de chlorpyrifos-éthyl (IRE = 295,8 pour la vigne de cuve et 217 pour la vigne de table) et de l'imidaclopride (IRE = 216,4) sur l'environnement. Il est à rappeler que cet indice prend en considération les variables écotoxicologiques (impact sur les invertébrés terrestres et les oiseaux) et physico-chimiques (notamment la mobilité, la persistance et la bioaccumulation) (Samuel *et al.*, 2012). Cela a également été démontré pour d'autres cultures, comme les agrumes (Bouagga and Chaabane, 2016). En plus de leur impact sur la santé humaine, le chlorpyrifos-éthyl et l'imidaclopride sont toxiques pour les organismes aquatiques et les abeilles ($DL_{50} = 0,038 \mu\text{g/abeilles}$) (Rondeau *et al.*, 2014; Suchail *et al.*, 2000) et peuvent persister très longtemps dans le sol ($DT_{50} \text{ sol} = 336,5\text{j}$ pour l'imidaclopride).

Ainsi, le calcul de l'IRPeQ permet d'orienter le choix des viticulteurs par rapport aux produits phytosanitaires qui présentent le minimum de risque aussi bien pour la santé humaine que pour l'environnement. À titre d'exemple, les produits à base de molécules inorganiques comme le soufre (IRS = 19,6 et IRE = 14,1) et le cuivre (IRS = 78,4 et IRE = 49) semblent être la solution idéale pour le contrôle de l'agent causal du mildiou de la vigne. De même, les produits à base de myclobutanil (IRS = 38,2 et IRE = 57,8) et de proquinazid (IRS = 35,4 et IRE = 43,6) pourraient être recommandés pour le contrôle de l'oïdium de la vigne.

Il ne faut pas oublier de prendre également en considération le risque d'exposition lors de la préparation et de l'application des produits phytosanitaires étant donné que tous les viticulteurs enquêtés (quelle que soit la spéculation vigne de cuve ou de table) ne portent pas d'équipement de protection individuelle (EPI). Cela a également été mentionné dans une étude menée en Tunisie sur la vigne de table et sur les agrumes (Bouagga et chaabane, 2016; Bouagga *et al.*, 2018), illustrant un manque d'information et de sensibilisation de la part des autorités responsables quant aux risques encourus par les professionnels du domaine agricole. Il est donc impératif de mettre en place un système de

surveillance adéquat auprès des différents acteurs de la filière agricole et en particulier la filière vitivinicole.

Le recours à ces produits de protection des plantes, malgré l'intérêt qu'ils présentent pour augmenter le rendement, a des effets aussi bien sur l'environnement que sur la santé publique. En effet, la présence d'éventuelles traces de substances actives dans les produits agricoles expose le consommateur à des risques d'intoxication chronique. Ceci a motivé les autorités internationales et nationales à mettre en place des réglementations rigoureuses visant à réduire les risques pour les consommateurs. De plus, adopter des pratiques phytosanitaires selon le référentiel des Bonnes Pratiques Phytosanitaires sur les vignobles permet de garantir la qualité du produit frais et minimise le risque d'exposition du consommateur à des résidus de pesticides.

3. Évaluation de l'impact des pratiques phytosanitaires sur la présence de résidus de pesticides dans le vin et le raisin sec

Les analyses de résidus de pesticides effectuées selon diverses méthodes par le laboratoire Belge Sciensano des échantillons de raisins de cuve (108) collectés lors de deux campagnes viticoles (2019-20 et 2020-21) ont révélé la présence de 28 substances actives, dont 16 mentionnées lors de l'enquête de terrain (soit 57 % des molécules recensées).

Toutefois, certaines molécules qui avaient été mentionnées par les viticulteurs enquêtés n'ont pas été détectées, comme le metrafenone et le cymoxanil. D'autre part, des substances actives telles que le boscalid et l'iprodione ont été détectées lors des analyses, bien qu'elles n'aient pas été déclarées par les viticulteurs. Cette situation pourrait être due à une contamination provenant d'un traitement externe, à un manque d'information de la part du viticulteur en question ou à la dégradation d'une substance active déjà présente (comme le thiophanate-méthyl qui se dégrade en carbendazime).

Les substances actives détectées appartiennent principalement à la classe des fongicides. Ces données confirment une fois de plus le recours fréquent à cette classe de pesticides pour prévenir et/ou contrôler les maladies fongiques. Nous avons détecté la présence d'au moins un résidu de pesticide dans 64 et 84 % des échantillons de raisins de cuve frais collectés, respectivement durant les campagnes 2019-20 et 2020-21. Des dépassements des LMR européennes fixées pour les raisins de cuve ont été observés dans 36 échantillons des 108 analysés (soit 33 %) pour 6 substances actives à des concentrations deux à 30 fois supérieures à la LMR de l'UE (Parlement européen et Conseil de l'Union européenne, 2005). Les dépassements de LMR sont principalement liés à des substances actives non approuvées par l'UE avec des valeurs de LMR égales à la LOQ (0,01 mg/kg), telles que l'iprodione, le diméthoate, l'ométhoate et le chlorpyrifos-éthyl.

Les herbicides metamitron, diclofop et fluazifop ont été détectés uniquement dans les échantillons de la première saison de collecte, bien qu'ils n'aient pas été déclarés par les viticulteurs. En effet, tous les viticulteurs enquêtés adoptent un désherbage mécanique. Par conséquent, la présence de ces molécules est probablement due à une contamination provenant d'une parcelle voisine. Le carbendazime a été détecté dans deux échantillons à des concentrations supérieures à la LMR de l'UE fixée à 0,5 mg/kg. Les LMR fixées par le *Codex Alimentarius* (FAO/WHO, 2022) ont été dépassées pour seulement deux substances non déclarées, à savoir le fluazifop et l'ométhoate.

D'autres études antérieures ont souligné la présence de pesticides dans les raisins de cuve à des concentrations supérieures à la LMR de l'UE. Une étude menée en Slovénie sur 47 échantillons de raisins de cuve a signalé des dépassements de LMR de l'UE pour le cyprodinil (18 échantillons) et le fludioxonil (1 échantillon) parmi les 67 substances actives analysées (Česnik *et al.*, 2008). De plus, il a été montré un dépassement des LMR européennes pour deux molécules, à savoir le mandipropamid et le mepanipyrim dans les raisins de cuve italiens (Corrias *et al.*, 2021). Ces résultats soulignent l'importance de surveiller la présence de résidus de pesticides dans les produits dérivés du raisin pour garantir la sécurité alimentaire et la qualité des produits.

Il convient de signaler que ces résidus peuvent être transférés dans le produit final à savoir le vin et le raisin sec, ce qui peut affecter la qualité du produit et présenter un risque pour le consommateur. Dans le cadre de la présente étude, l'influence des étapes de vinification et de séchage n'a pas pu être déterminée vue la grande diversité des cépages et le nombre important des viticulteurs qui collaborent avec les caves ayant fait l'objet d'enquêtes ainsi que la difficulté de suivi d'un seul échantillon du vignoble à la bouteille de vin suite à l'assemblage des cépages au début du processus. Dans le cas de la vigne de table, le nombre très faible de viticulteurs enquêtés et par conséquent d'échantillons collectés, n'a pas permis de répondre à l'objectif d'évaluer l'influence des procédés de transformation sur le transfert des résidus de pesticides.

Toutefois, nous avons pu apprécier la qualité du produit fini de point de vue résidus de pesticides et avoir une référence pour les travaux futurs.

Les analyses réalisées sur 15 échantillons de vin ont révélé la présence de sept substances actives différentes, dont six fongicides et un insecticide (le thiophanate-méthyl, son métabolite le carbendazime, l'iprodione, le boscalid, le fenhexamide, l'iprovalicarbe et l'imidaclopride). Les résidus quantifiés varient de 0 à 7 dans les échantillons. Ces substances ont également été détectées dans certains échantillons de raisins de cuve, et leur utilisation avait été mentionnée par les viticulteurs interrogés sauf pour le carbendazime, l'iprodione et le boscalid. L'iprodione, interdit en Europe, a été détecté avec des

dépassements de la LMR dérivée (calculée en se basant sur les LMR des substances actives sur les raisins de cuve et sur le facteur de transformation) observés dans 33 % des échantillons.

Un groupe de quatre fongicides et un insecticide (à savoir le fenhexamide, l'iprovalicarbe, le thiophanate-méthyl, le carbendazime et l'imidaclopride) a été détecté dans tous les échantillons de la cave 1, ainsi que dans un échantillon de vin rouge de la cave 4, à des concentrations largement inférieures aux LMR européennes et internationales respectives. La présence de ces substances pourrait être expliquée par leurs applications par tous les viticulteurs de la cave 1 et 4 au moins une fois durant la campagne agricole entre le stade de fermeture de la grappe et la véraison (Tableau 1, étude 3). La présence du thiophanate-méthyl est due à son application au stade « véraison » (soit 30 jours avant la récolte) à une dose supérieure à celle recommandée. En effet, les substances actives appliquées dans les derniers traitements sont plus susceptibles d'être détectées dans le vin (Čuš *et al.*, 2010b). Par ailleurs, la présence de fenhexamide est due à sa persistance dans les échantillons de vin et cela quelques soit la période de son application (Edder *et al.*, 2009). La présence du carbendazime (non-mentionné dans l'enquête de terrain) est due à la dégradation du thiophanate-méthyl (Dong *et al.*, 2018; Schusterova *et al.*, 2021). Un autre résidu, le boscalid, a été quantifié dans l'échantillon de vin rouge de la cave 4 à une teneur inférieure aux LMR européenne et internationale (*Codex Alimentarius*). Ces substances actives ont été largement rapportées dans divers échantillons de vin dans le monde vu leur utilisation importante par les viticulteurs. À titre d'exemple, l'iprovalicarbe, le fenhexamid et le boscalid ont été détectés dans des échantillons de vin italiens, slovènes et croates à des teneurs inférieures à la LMR (Angioni *et al.*, 2011; Česnik *et al.*, 2015). La présence d'iprodione dans les échantillons de vins a été rapportée dans plusieurs pays notamment l'Italie, l'Espagne et la Slovénie à des concentrations inférieures à la LMR (Gabriolotto *et al.*, 2009; Santana-Mayor *et al.*, 2020; Čuš *et al.*, 2022; Santana-Mayor *et al.*, 2023). De même, la présence d'imidaclopride a également été montrée dans les échantillons de vins espagnols vu sa polarité qui réduit son adsorption sur les fractions solides du vin (éliminés durant les étapes de pressurage, de fermentation et de clarification) (Pazzirota *et al.*, 2013; Rodríguez-Cabo *et al.*, 2016).

L'analyse des échantillons de raisins secs a révélé que 88 % des échantillons contiennent au moins un résidu de pesticide. Treize substances actives ont été détectées (difénoconazole, thiophanate-méthyl, iprodione, carbendazime, myclobutanil, boscalid, iprovalicarbe, deltaméthrine, perméthrine, tetraméthrine, chlorpyrifos-éthyl et diméthoate) à des concentrations allant jusqu'à 5 mg/kg dans le cas de l'iprodione. D'une part, un échantillon sur 8 présente jusqu'à 8 résidus différents, d'autre part un autre ne présente aucun résidu détectable. Deux échantillons contiennent un seul résidu, ce qui peut être dû au faible nombre de traitements ou bien au nombre limité de produits phytosanitaires utilisés. Les 4 autres échantillons contiennent entre 2 et 5 résidus par échantillon. L'absence de LMR européenne

spécifique pour les produits transformés tels que les raisins secs a conduit au calcul de LMR dérivées à partir des LMR européennes établies pour les raisins de table, en utilisant le facteur de transfert (PF) disponible dans la base de données de la Commission européenne (European Commission, 2022) ou en considérant un facteur de transfert par défaut de 4,7 pour les PF non mentionnés dans cette base de données, ou pour lesquels l'incertitude est trop élevée (Constantinou *et al.*, 2021). Par conséquent, un dépassement de la LMR a été détecté dans trois échantillons pour les substances actives iprodione, chlorpyrifos-éthyl, diméthoate et perméthrine. En revanche, en se basant sur les LMR établies par le *Codex Alimentarius* pour les raisins secs pour un nombre limité de substances actives, aucune non-conformité n'a été observée.

Conclusions et perspectives

En conclusion, cette étude a permis de mettre en évidence les pratiques agricoles et phytosanitaires adoptées dans les vignobles tunisiens dont la production est destinée à la transformation. Les résultats obtenus ont permis la caractérisation des parcelles de vignobles de cuve dans les régions de Grombalia et de Bou Argoub, ainsi que la mise en évidence de la diversité des techniques adoptées lors des étapes de vinification et de séchage du raisin. Cependant, des études supplémentaires sont nécessaires pour pouvoir généraliser ces résultats préliminaires, afin de couvrir plus de zones de production et se rapprocher d'un nombre d'agriculteur plus important.

Il est également vivement recommandé de sensibiliser les différents acteurs du secteur vitivinicole aux effets néfastes de certains produits de protection des plantes et à l'urgence de les retirer du marché tunisien afin de réduire le risque d'exposition, tout en insistant sur l'intérêt du port des équipements de protection individuels. Les indicateurs de risques sont des outils d'aide à la décision qui pourraient faciliter le choix des produits à utiliser dans les différentes cultures, tout en réduisant le risque de contamination pour les viticulteurs. L'utilisation de l'IRPeQ pourrait orienter le choix des viticulteurs vers les produits phytosanitaires les moins à risque. Il peut également être généralisé pour d'autres spéculations en Tunisie afin de détecter les formulations commerciales à risque et limiter ainsi leurs usages.

Il est recommandé que les autorités tunisiennes forment les viticulteurs aux bonnes pratiques agricoles (notamment le respect de la dose recommandée et le choix du produit commercial à appliquer) et mettent en place un programme de surveillance, comprenant l'utilisation de pesticides et l'analyse des raisins de cuve et de table. Des études supplémentaires devraient également être menées à l'échelle du laboratoire pour suivre le transfert de ces produits chimiques du raisin frais vers le vin et le raisin sec.

Ces mesures peuvent aider à réduire la présence de résidus de pesticides dans les produits dérivés du raisin et à améliorer la qualité du produit final tunisien.

Enfin, les analyses de résidus de pesticides revêtent une importance cruciale à l'échelle internationale. Il est donc essentiel de mettre en place des mesures de contrôle et de suivi rigoureuses tout au long de la chaîne de production des différents produits agricoles tunisiens, depuis les pratiques agricoles jusqu'aux différentes étapes de transformation, afin de réduire la présence de résidus de pesticides et de garantir la sécurité des produits destinés à la consommation humaine. Les produits phytosanitaires sont certes efficaces et permettent d'atteindre un objectif de production optimale en une période plus courte, mais il est recommandé de limiter leurs usages au profit d'autres méthodes de lutte permettant de préserver la santé humaine et celle de l'environnement, et garantissant la labélisation sans résidus de pesticides pour les produits agricoles tunisiens, y compris le vin et le raisin sec.

Bibliographie

- Abbou, M., Chabbi, M., Benicha, M., 2023. Assessment of phytosanitary practices on the environment: case study potato of Loukkos (northwest Morocco). *Environ. Monit. Assess.* 195, 352. <https://doi.org/10.1007/s10661-023-10949-9>
- Abdelkader, F.B., 2020. Situation of Beekeeping in North Africa. *J. Apitherapy Nat.* 3, 1–9. <https://doi.org/10.35206/jan.719721>
- AgriDATA, 2022. Données Climatiques station Oued Souhil Nabeul DGGREE [WWW Document]. URL <http://www.agridata.tn/dataset/station-oued-souhil-nabeul-dggree/resource/105f84c3-3d5e-420f-93cf-5b8b7e18bbc1> (accessed 12.28.23).
- AgriDATA, 2021. Liste des pesticides homologués en Tunisie 2020 [WWW Document]. URL <http://www.agridata.tn/dataset/liste-des-pesticides-homologues-en-tunisie> (accessed 1.11.23).
- Akotsen-Mensah, C., Ativor, I.N., Anderson, R.S., Afreh-Nuamah, K., Brentu, C.F., Osei-Safo, D., Asuming Boakye, A., Avah, V., 2017. Pest Management Knowledge and Practices of Mango Farmers in Southeastern Ghana. *J. Integr. Pest Manag.* 8, 13. <https://doi.org/10.1093/jipm/pmx008>
- Alister, C., Araya, M., Morandé, J., Volosky, C., Saavedra Torrico, J., Córdova, A., Kogan, M., 2014. Effects of wine grape cultivar, application conditions and the winemaking process on the dissipation of six pesticides. *Cienc. E Investig. Agrar.* 41, 375–386. <https://doi.org/10.4067/S0718-16202014000300010>
- Alonso González, P., Parga Dans, E., Acosta Dacal, A.C., Zumbado Peña, M., Pérez Luzardo, O., 2022. Differences in the levels of sulphites and pesticide residues in soils and wines and under organic and conventional production methods. *J. Food Compos. Anal.* 112, 104714. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104714>
- Altimira, F., Vitta, N., Tapia, E., Altimira, F., Vitta, N., Tapia, E., 2021. Integrated Pest Management of *Lobesia botrana* with Microorganism in Vineyards: An Alternative for Clean Grapes Production, Grapes and Wine. *IntechOpen*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.99153>

-
- An, J., Gu, X., Zhao, X., Yang, C., Tabys, D., Xu, Y., Liu, N., 2018. Fate of acephate and its toxic metabolite methamidophos during grape processing. *Food Control* 86, 163–169. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.11.023>
- Angioni, A., Dedola, F., 2013. Three years monitoring survey of pesticide residues in Sardinia wines following integrated pest management strategies. *Environ. Monit. Assess.* 185, 4281–4289. <https://doi.org/10.1007/s10661-012-2868-6>
- Angioni, A., Dedola, F., Garau, V.L., Schirra, M., Caboni, P., 2011. Fate of Iprovalicarb, Indoxacarb, and Boscalid Residues in Grapes and Wine by GC–ITMS Analysis. *J. Agric. Food Chem.* 59, 6806–6812. <https://doi.org/10.1021/jf2011672>
- Angioni, A., Garau, A., Caboni, P., Russo, M.T., Farris, G.A., Zara, S., Cabras, P., 2005. Gas chromatographic ion trap mass spectrometry determination of zoxamide residues in grape, grape processing, and in the fermentation process. *J. Chromatogr. A* 1097, 165–170. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2005.08.022>
- Aouey, B., Derbali, M., Chtourou, Y., Bouchard, M., Khabir, A., Fetoui, H., 2017. Pyrethroid insecticide lambda-cyhalothrin and its metabolites induce liver injury through the activation of oxidative stress and proinflammatory gene expression in rats following acute and subchronic exposure. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 24, 5841–5856. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-8323-4>
- Aslantas, S., Golge, O., González-Curbelo, M.Á., Kabak, B., 2023. Determination of 355 Pesticides in Lemon and Lemon Juice by LC-MS/MS and GC-MS/MS. *Foods* 12, 1812. <https://doi.org/10.3390/foods12091812>
- Association Tunisienne pour la protection des plantes, 2019. Guide phytosanitaire. CropLife, Tunisie.
- ATPP, 2009. Guide Phytosanitaire de la Tunisie., Association Tunisienne Pour la Protection des Plantes. ed. Tunis, Tunisia.
- Austin, C.N., Wilcox, W.F., 2012. Effects of Sunlight Exposure on Grapevine Powdery Mildew Development. *Phytopathology®* 102, 857–866. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-07-11-0205>

-
- Austin, C.N., Wilcox, W.F., 2011. Effects of Fruit-Zone Leaf Removal, Training Systems, and Irrigation on the Development of Grapevine Powdery Mildew. *Am. J. Enol. Vitic.* 62, 193–198. <https://doi.org/10.5344/ajev.2010.10084>
- Azzouzi, E.E., Bouzaidi, H., Nouri, K., Mohamed, F., 2014. Study the impact of pesticides using pressure indicator and toxicity watershed Merja Zerga (Morocco). *Adv. Environ. Biol.* 8, 31–35.
- Bajwa, U., Sandhu, K.S., 2014. Effect of handling and processing on pesticide residues in food- a review. *J. Food Sci. Technol.* 51, 201–220. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0499-5>
- Bakırcı, G.T., Yaman Acay, D.B., Bakırcı, F., Ötleş, S., 2014. Pesticide residues in fruits and vegetables from the Aegean region, Turkey. *Food Chem* 160, 379–392. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.02.051>
- Bars, M.L., Sidibe, F., Mandart, E., Fabre, J., Grusse, P.L., Diakite, C.H., 2020. Évaluation des risques liés à l'utilisation de pesticides en culture cotonnière au Mali. *Cah. Agric.* 29, 4. <https://doi.org/10.1051/cagri/2020005>
- Bettiga, L.J., 2013. Grape Pest Management, Third Edition. UCANR Publications.
- Beulke, S., Brown, C., 2001. Evaluation of methods to derive pesticide degradation parameters for regulatory modelling. *Biol. Fertil. Soils* 33, 558–564. <https://doi.org/10.1007/s003740100364>
- Bhourri, A.M., Flamini, G., Chraief, I., Hammami, M., 2016. Aromatic Compounds and Soluble Carbohydrate Profiles of Different Varieties of Tunisian Raisin (*Vitis Vinifera* L.). *Int. J. Food Prop.* 19, 339–350. <https://doi.org/10.1080/10942912.2015.1027920>
- Blancard, D., 2021. *Empoasca vitis* (green leafhopper) [WWW Document]. URL <https://ephytia.inra.fr/en/C/6080/Grapevine-Empoasca-vitis-green-leafhopper> (accessed 3.20.24).

- Blancard, D., 2016. Vigne - Moisissure grise (*Botrytis cinerea*) [WWW Document]. URL <http://ephytia.inra.fr/fr/C/6089/Vigne-Moisissure-grise-Botrytis-cinerea> (accessed 3.15.23).
- Bouagga, A., Chaabane, H., 2016. The Use of IRPeQ Model as Indicator to Estimate the Risk of Some Pesticides on Human Health and Environment. *Tunis. J. Plant Prot.* 11, 10.
- Bouagga, A., Chaabane, H., Chtioui, W., Mougou Hamdane, A., Nasraoui, B., 2018. Pesticides Used in Tunisian Vineyards: What's the Risk for the Environment and the Human Health?, in: Kallel, A., Ksibi, M., Ben Dhia, H., Khélifi, N. (Eds.), *Recent Advances in Environmental Science from the Euro-Mediterranean and Surrounding Regions, Advances in Science, Technology & Innovation*. Springer International Publishing, Cham, pp. 445–447. https://doi.org/10.1007/978-3-319-70548-4_139
- Bouagga, A., Chaabane, H., Toumi, K., Mougou Hamdane, A., Nasraoui, B., Joly, L., 2019a. Pesticide residues in Tunisian table grapes and associated risk for consumer's health. *Food Addit. Contam. Part B* 12, 135–144. <https://doi.org/10.1080/19393210.2019.1571532>
- Bouagga, A., Chtioui, W., Nasraoui, B., Chaabane, H., 2019b. Pest management knowledge and practices of grapevine farmers in northern of Tunisia. *J. New Sci.* 67. <https://doi.org/10.1080/02652030701558490>
- Boudouin, J., 2023. Véraison [WWW Document]. *Rev. Vin Fr.* URL <https://www.larvf.com/veraison-definition-dictionnaire-du-vin-vocabulaire-lexique,10355,4025491.asp> (accessed 1.19.24).
- Bouzaidi, H.E., Hafiane, F.Z., Fekhaoui, M., 2020. Inventory of Pesticides and their impact on the environment by calculating the frequency of treatment indicator in the Gharb plain (Morocco). *Mediterr. J. Chem.* 10, 406–417.
- Briz-Cid, N., Oliva, J., Rial-Otero, R., Simal-Gandara, J., Cámara, M.A., 2021. Influence of iprovalicarb, mepanipyrim and tetraconazole fungicides on anthocyanins and color the Cabernet Sauvignon red wines. *Eur. Food Res. Technol.* 247, 947–960. <https://doi.org/10.1007/s00217-020-03675-w>

-
- Brunet, N., Guichard, L., Omon, B., Pingault, N., Pley-Ber, E., Seiler, A., 2008. L'indicateur de fréquence de traitement (IFT): un indicateur pour une utilisation durable des pesticides. *Courr. Environ. Inra* 56, 131–141.
- Caboni, P., Cabras, P., 2010. Chapter 2 - Pesticides' Influence on Wine Fermentation, in: Taylor, S.L. (Ed.), *Advances in Food and Nutrition Research*. Academic Press, pp. 43–62. [https://doi.org/10.1016/S1043-4526\(10\)59002-8](https://doi.org/10.1016/S1043-4526(10)59002-8)
- Cabras, P., Angioni, A., 2000. Pesticide Residues in Grapes, Wine, and Their Processing Products |. *J. Agric. Food Chem.* 48, 967–973.
- Cabras, P., Angioni, A., Garau, V.L., Melis, M., Pirisi, F.M., Cabitza, F., Pala, M., 1998a. Pesticide Residues in Raisin Processing. *J. Agric. Food Chem.* 46, 2309–2311. <https://doi.org/10.1021/jf980058l>
- Cabras, P., Angioni, A., Garau, V.L., Melis, M., Pirisi, F.M., Minelli, E.V., Cabitza, F., Cubeddu, M., 1997. Fate of Some New Fungicides (Cyprodinil, Fludioxonil, Pyrimethanil, and Tebuconazole) from Vine to Wine. *J. Agric. Food Chem.* 45, 2708.
- Cabras, P., Angioni, A., Garau, V.L., Pirisi, F.M., Brandolini, V., 1998b. Gas chromatographic determination of azoxystrobin, fluazinam, kresoxim-methyl, mepanipyrim, and tetraconazole in grapes, must, and wine. *J. AOAC Int.* 81, 1185–1189.
- Cabras, P., Angioni, A., Garau, V.L., Pirisi, F.M., Espinoza, J., Mendoza, A., Cabitza, F., Pala, M., Brandolini, V., 1998c. Fate of Azoxystrobin, Fluazinam, Kresoxim-methyl, Mepanipyrim, and Tetraconazole from Vine to Wine. *J. Agric. Food Chem.* 46, 3249–3251. <https://doi.org/10.1021/jf980186+>
- Castro, G., Pérez-Mayán, L., Rodríguez-Cabo, T., Rodríguez, I., Ramil, M., Cela, R., 2018. Multianalyte, high-throughput liquid chromatography tandem mass spectrometry method for the sensitive determination of fungicides and insecticides in wine. *Anal. Bioanal. Chem.* 410, 1139–1150. <https://doi.org/10.1007/s00216-017-0724-9>

- Čepo, D., Pelajić, M., Vinković Vrček, I., Krivohlavek, A., Žuntar, I., Karoglan, M., 2018. Differences in the levels of pesticides, metals, sulphites and ochratoxin A between organically and conventionally produced wines. *Food Chem.* 246, 394–403. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.10.133>
- Cerutti, F., Baumgärtner, J., Delucchi, V., 1991. The dynamics of grape leafhopper *Empoasca vitis* Göthe populations in southern Switzerland and the implications for habitat management. *Biocontrol Sci. Technol.* 1, 177–194. <https://doi.org/10.1080/09583159109355198>
- Česnik, H., Velikonja Bolta, Š., Lisjak, K., 2015. Plant protection product residues in red grapes and Teran PTP wine. *Food Addit. Contam. Part B Surveill.* 8, 113–122. <https://doi.org/10.1080/19393210.2014.1002816>
- Česnik, H.B., Gregorcic, A., Čuš, F., 2008. Pesticide residues in grapes from vineyards included in integrated pest management in Slovenia. *Food Addit. Contam. Part Chem. Anal. Control Expo. Risk Assess.* 25, 438–443. <https://doi.org/10.1080/02652030701558490>
- Česnik, H.B., Velikonja Bolta, Š., Bavčar, D., Radeka, S., Lisjak, K., 2016. Plant protection product residues in white grapes and wines of “Malvasia Istriana” produced in Istria. *Food Addit. Contam. Part B* 9, 256–260. <https://doi.org/10.1080/19393210.2016.1208289>
- Commission européenne, 2022. EURL | Pesticides in Fruits and Vegetables | EUPT-FV-SC04 [WWW Document]. URL https://eurl-pesticides.eu/docs/public/tmpl_article.asp?LabID=500&CntID=1157&Lang=EN (accessed 3.14.24).
- Constantinou, M., Louca-Christodoulou, D., Agapiou, A., 2021. Method validation for the determination of 314 pesticide residues using tandem MS systems (GC–MS/MS and LC–MS/MS) in raisins: Focus on risk exposure assessment and respective processing factors in real samples (a pilot survey). *Food Chem.* 360, 129964. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129964>

- Corrias, F., Taddeo, R., Arru, N., Angioni, A., 2021. Effect of the Technological Process from Vine to Wine on Pesticide Residues in Vernaccia di Oristano Cultivar. *Foods* 10, 1295. <https://doi.org/10.3390/foods10061295>
- Costa, L.G., Aschner, M., 2014. Toxicology of Pesticides, in: Reference Module in Biomedical Sciences. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.00208-7>
- Crocoli, L.C., Ramires, N., Moura, S., 2022. Determination of Pesticide Residues in Grapes Consumed in Natura and for Juice and Wine Production by High-Performance Liquid Chromatography with High Resolution Mass Spectrometry (HPLC-HRMS). *Anal. Lett.* 0, 1–11. <https://doi.org/10.1080/00032719.2022.2134413>
- Čuš, F., Česnik, H.B., Bolta, Š.V., 2022. Pesticide residues, copper and biogenic amines in conventional and organic wines. *Food Control* 132, 108534. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108534>
- Čuš, F., Česnik, H.B., Bolta, Š.V., Gregorčič, A., 2010a. Pesticide residues in grapes and during vinification process. *Food Control* 21, 1512–1518. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.04.024>
- Čuš, F., Česnik, H.B., Bolta, Š.V., Gregorčič, A., 2010b. Pesticide residues and microbiological quality of bottled wines. *Food Control* 21, 150–154. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2009.04.010>
- Daane, K.M., Almeida, R.P.P., Bell, V.A., Walker, J.T.S., Botton, M., Fallahzadeh, M., Mani, M., Miano, J.L., Sforza, R., Walton, V.M., Zaviezo, T., 2012. Biology and Management of Mealybugs in Vineyards, in: Bostanian, N.J., Vincent, C., Isaacs, R. (Eds.), *Arthropod Management in Vineyards: Pests, Approaches, and Future Directions*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 271–307. https://doi.org/10.1007/978-94-007-4032-7_12
- De Melo Abreu, S., Caboni, P., Pirisi, F.M., Cabras, P., Alves, A., Garau, V.L., 2006. Residues of the fungicide famoxadone in grapes and its fate during wine production. *Food Addit. Contam.* 23, 289–294. <https://doi.org/10.1080/02652030500428648>

-
- Decante, D., Helden, M., 2006. Population ecology of *Empoasca vitis* (Göthe) and *Scaphoideus titanus* (Ball) in Bordeaux vineyards: Influence of migration and landscape. *Crop Prot. - CROP PROT* 25, 696–704. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2005.09.016>
- Dong, B., Yang, Y., Pang, N., Hu, J., 2018. Residue dissipation and risk assessment of tebuconazole, thiophanate-methyl and its metabolite in table grape by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Food Chem.* 260, 66–72. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.03.062>
- Donnet, C., 2019. Pratiques culturales en viticulture 2016 - Premiers résultats - Septembre 2019 [WWW Document]. URL <https://draaf.occitanie.agriculture.gouv.fr/pratiques-culturales-en-viticulture-2016-premiers-resultats-septembre-2019-a5084.html> (accessed 7.15.21).
- dos Anjos, J.P., de Andrade, J.B., 2015. Simultaneous determination of pesticide multiresidues in white wine and rosé wine by SDME/GC-MS. *Microchem. J.* 120, 69–76. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2015.01.009>
- Doulia, D.S., Anagnos, E.K., Liapis, K.S., Klimentzos, D.A., 2018. Effect of clarification process on the removal of pesticide residues in red wine and comparison with white wine. *J. Environ. Sci. Health Part B* 53, 534–545. <https://doi.org/10.1080/03601234.2018.1462937>
- Doulia, D.S., Anagnos, E.K., Liapis, K.S., Klimentzos, D.A., 2017. Effect of clarification process on the removal of pesticide residues in white wine. *Food Control* 72, 134–144. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.07.035>
- Doulia, D.S., Anagnos, E.K., Liapis, K.S., Klimentzos, D.A., 2016. Removal of pesticides from white and red wines by microfiltration. *J. Hazard. Mater.* 317, 135–146. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.05.054>
- DRAAF Grand Est, 2018. Les indicateurs [WWW Document]. DRAAF Gd. Est. URL <https://draaf.grand-est.agriculture.gouv.fr/les-indicateurs-a1598.html> (accessed 3.23.24).

-
- Dumitriu Gabur, G.-D., Gabur, I., Cucolea, E.I., Costache, T., Rambu, D., Cotea, V.V., Teodosiu, C., 2022. Investigating Six Common Pesticides Residues and Dietary Risk Assessment of Romanian Wine Varieties. *Foods* 11, 2225. <https://doi.org/10.3390/foods11152225>
- ECHA, 2020. Liste des substances dont l'inclusion sur la liste des POP est proposée [WWW Document]. URL <https://echa.europa.eu/fr/list-of-substances-proposed-as-pops/-/dislist/details/0b0236e184e0d70e> (accessed 2.17.23).
- Edder, P., Ortelli, D., 2005. Survey of pesticide residues in Swiss and foreign wines. *Mitteilungen Aus Leb. Hyg.* 96, 311–320. <https://doi.org/10.5169/SEALS-981957>
- Edder, P., Ortelli, D., Viret, O., Cognard, E., Montmollin, A. de, Zali, O., 2009. Control strategies against grey mould (*Botrytis cinerea* Pers.: Fr) and corresponding fungicide residues in grapes and wines. *Food Addit. Contam. A* 26, 719–725. <https://doi.org/10.1080/02652030802668578>
- Egger, P.E., Borgo, M., Cella, L., Ondradu, G., Becciu, M., 1982. Derniers résultats sur l'influence du cépage, du porte-greffe, du mode de conduite et de l'année, sur les attaques de *Botrytis cinerea* sur vigne à Villasor (Cagliari), Sardaigne¹. *EPPO Bull.* 12, 183–187. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2338.1982.tb01703.x>
- Elad, Y., 1994. Biological control of grape grey mould by *Trichoderma harzianum*. *Crop Prot.* 13, 35–38. [https://doi.org/10.1016/0261-2194\(94\)90133-3](https://doi.org/10.1016/0261-2194(94)90133-3)
- EPCEU, 2005. Regulation (EC) No 396/2005 of the European Parliament and of the Council of 23 February 2005 on maximum residue levels of pesticides in or on food and feed of plant and animal origin and amending Council Directive 91/414/EEC Text with EEA relevance. *Off. J. Eur. Union* 70, 1–16.
- Esmaili, M., Sotudeh-Gharebagh, R., Cronin, K., Mousavi, M.A.E., Rezazadeh, G., 2007. Grape Drying: A Review. *Food Rev. Int.* 23, 257–280. <https://doi.org/10.1080/87559120701418335>

- Essling, M., McKay, S., Petrie, P.R., 2021. Fungicide programs used to manage powdery mildew (*Erysiphe necator*) in Australian vineyards. *Crop Prot.* 139, 105369. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2020.105369>
- EURL, 2019. Analytical Quality Control and Method Validation Procedures for Pesticide Residues Analysis in Food and Feed. Supersedes Document No. SANTE/2017/11813. Implemented by 01/01/2020 [WWW Document]. URL https://www.eurl-pesticides.eu/docs/public/tmpl_article.asp?CntID=727 (accessed 7.13.21).
- EURL-SRM, 2009. Analysis of Dithiocarbamate Residues in Foods of Plant Origin involving Cleavage into Carbon Disulfide, Partitioning into Isooctane and Determinative Analysis by GC-ECD [WWW Document]. URL https://www.eurl-pesticides.eu/library/docs/srm/meth_DithiocarbamatesCs2_EurlSrm.pdf (accessed 7.19.21).
- European commission, 2022. Information note on Article 20 of Regulation (EC) No 396/2005 as regards processing factors, processed and composite food and feed- SANTE/ 10704/2021 24.
- European commission, 2021. EU Pesticides Database - Active substances [WWW Document]. URL <https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/start/screen/active-substances> (accessed 2.17.23).
- European commission, 2020. Commission Implementing Regulation (EU) 2020/18 of 10 January 2020 concerning the non-renewal of the approval of the active substance chlorpyrifos, in accordance with Regulation (EC) No 1107/2009 of the European Parliament and of the Council concerning the placing of plant protection products on the market, and amending the Annex to Commission Implementing Regulation (EU) No 540/2011 (Text with EEA relevance), OJ L.
- European Food Safety Authority (EFSA), 2021. National summary reports on pesticide residue analysis performed in 2019. EFSA Support. Publ. 18. <https://doi.org/10.2903/sp.efsa.2021.EN-6487>
- European Food Safety Authority (EFSA), Carrasco Cabrera, L., Medina Pastor, P., 2021. The 2019 European Union report on pesticide residues in food. *EFSA J.* 19, 89. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6491>

European Parliament, 2009. DIRECTIVE 2009/128/EC OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 21 October 2009 establishing a framework for Community action to achieve the sustainable use of pesticides. *Off. J. Eur. Union* 52, 16. https://doi.org/0.3000/17252555.L_2009.309.eng

FAO/WHO, 2023a. FB 0269 - Grapes [WWW Document]. *Codex Aliment. Int. Food Stand.* URL https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/dbs/pestres/commodities-detail/en/?c_id=113 (accessed 2.15.23).

FAO/WHO, 2023b. DF 0269 - Grape, dried (= Currants, Raisins and Sultanas) [WWW Document]. *Codex Aliment. Int. Food Stand.* URL https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/dbs/pestres/commodities-detail/en/?lang=en&c_id=88 (accessed 8.10.22).

FAO/WHO, 2022. Base de données en ligne du Codex sur les résidus de pesticides dans les aliments.

FAO/WHO, 2015. Pesticide residues in food 2015 - Report 2015 (Joint FAO/WHO Meeting): Report of the Joint Meeting of the FAO Panel of Experts on Pesticide Residues in Food and the Environment and the WHO Core Assessment Group on Pesticide Residues Geneva, Switzerland, 15-24 September 2015, FAO Plant Production and Protection Paper Series. FAO and WHO, Rome, Italy.

Fenio, A., 2024. *Planococcus ficus* [WWW Document]. URL <https://www.corteva.it/prodotti-e-soluzioni/servizi-agronomici/monitoraggio-fitofagi/pficus.html> (accessed 3.20.24).

Fernández, M.J., Oliva, J., Barba, A., Cámara, M.A., 2005a. Fungicide Dissipation Curves in Winemaking Processes with and without Maceration Step. *J. Agric. Food Chem.* 53, 804–811. <https://doi.org/10.1021/jf040299v>

Fernández, M.J., Oliva, J., Barba, A., Cámara, M.A., 2005b. Effects of clarification and filtration processes on the removal of fungicide residues in red wines (var. Monastrell). *J. Agric. Food Chem.* 53, 6156–6161. <https://doi.org/10.1021/jf0580162>

-
- Ferradji, A., Goudjal, Y., Malek, A., 2008. Séchage de raisin de variété Sultanine par un séchoir solaire à convection forcée et un séchoir type coquillage. *Rev. Energ. Renouvelables SMSTS* 8, 177–185.
- Gabriolotto, C., Monchiero, M., Negre, M., Spadaro, D., Gullino, M.L., 2009. Effectiveness of control strategies against *Botrytis cinerea* in vineyard and evaluation of the residual fungicide concentrations. *J. Environ. Sci. Health B* 44, 389–396. <https://doi.org/10.1080/03601230902801117>
- Gadoury, D.M., Cadle-Davidson, L., Wilcox, W.F., Dry, I.B., Seem, R.C., Milgroom, M.G., 2012. Grapevine powdery mildew (*Erysiphe necator*): a fascinating system for the study of the biology, ecology and epidemiology of an obligate biotroph. *Mol. Plant Pathol.* 13, 1–16. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2011.00728.x>
- Garau, V.L., De Melo Abreu, S., Caboni, P., Angioni, A., Alves, A., Cabras, P., 2009. Residue-free Wines: Fate of Some Quinone outside Inhibitor (QoI) Fungicides in the Winemaking Process. *J. Agric. Food Chem.* 57, 2329–2333. <https://doi.org/10.1021/jf8029572>
- Garcia-Cazorla, J., Xirau-Vayreda, M., 1994. Persistence of Dicarboximidic Fungicide Residues in Grapes, Must, and Wine. *Am. J. Enol. Vitic.* 45, 338–340. <https://doi.org/10.5344/ajev.1994.45.3.338>
- German Federal Institute for Risk Assessment, 2022. Read Me: EU database of processing factors for pesticide residues.
- Gessler, C., Pertot, I., Perazzolli, M., 2011. *Plasmopara viticola*: a review of knowledge on downy mildew of grapevine and effective disease management. *Phytopathol. Mediterr.* 50, 3–44.
- GIFruits, 2021a. Estimations de la production du raisin de table année 2021. URL <http://41.226.27.69/plesk-site-preview/gifruits.com/http/41.226.27.69/?p=22762> (accessed 2.28.23).

-
- GIFruits, 2021b. Evolution de la production et de la commercialisation des vins – GIFruits. URL <http://41.226.29.40/plesk-site-preview/www.gifruits.com/http/172.16.0.77/?p=14850> (accessed 12.7.21).
- GIFruits, 2018a. La viticulture tunisienne. URL http://41.226.29.40/plesk-site-preview/www.gifruits.com/http/172.16.0.77/?page_id=1720 (accessed 7.19.21).
- GIFruits, 2018b. Les zones AOC de Tunisie. URL http://41.226.27.69/plesk-site-preview/gifruits.com/http/41.226.27.69/?page_id=1722 (accessed 3.1.21).
- Gisi, U., Sierotzki, H., 2008. Fungicide modes of action and resistance in downy mildews. *Eur. J. Plant Pathol.* 122, 157–167. <https://doi.org/10.1007/s10658-008-9290-5>
- Golge, O., Kabak, B., 2018. Pesticide Residues in Table Grapes and Exposure Assessment. *J. Agric. Food Chem.* 66, 1701–1713. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b05707>
- González-Álvarez, M., González-Barreiro, C., Cancho-Grande, B., Simal-Gándara, J., 2012. Impact of phytosanitary treatments with fungicides (cyazofamid, famoxadone, mandipropamid and valifenalate) on aroma compounds of Godello white wines. *Food Chem.* 131, 826–836. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.09.053>
- González-Rodríguez, R.M., Cancho-Grande, B., Simal-Gándara, J., 2011a. Decay of fungicide residues during vinification of white grapes harvested after the application of some new active substances against downy mildew. *Food Chem.* 125, 549–560. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.09.047>
- González-Rodríguez, R.M., Cancho-Grande, B., Simal-Gándara, J., 2009a. Efficacy of new commercial formulations to control downy mildew and dissipation of their active fungicides in wine after good agricultural practices. *J. Sci. Food Agric.* 89, 2625–2635. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3765>

- González-Rodríguez, R.M., Cancho-Grande, B., Torrado-Agrasar, A., Simal-Gándara, J., Mazaira-Pérez, J., 2009b. Evolution of tebuconazole residues through the winemaking process of Mencía grapes. *Food Chem.* 117, 529–537. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.04.030>
- González-Rodríguez, R.M., Otero, R., Cancho-Grande, B., Gonzalez-Barreiro, C., Simal Gándara, J., 2011b. A Review on the Fate of Pesticides during the Processes within the Food-Production Chain. *Sci. Nutr.* 51, 99–114. <http://dx.doi.org/10.1080/10408390903432625>
- Grimalt, S., Dehouck, P., 2016. Review of analytical methods for the determination of pesticide residues in grapes. *J. Chromatogr. A* 1433, 1–23. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2015.12.076>
- Grinbaum, M., Dubernet, M., Bouazza, V., Debez, E., Lempereur, V., 2019. Résidus phytosanitaires dans les vins : état des lieux, analyses et expertise. *BIO Web Conf.* 12, 04010. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20191204010>
- Hanot, V., Gosciny, S., Deridder, M., 2015. A simple multi-residue method for the determination of pesticides in fruits and vegetables using a methanolic extraction and ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry: Optimization and extension of scope. *J. Chromatogr. A* 1384, 53–66. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2015.01.040>
- Hanson, B., Bond, C., Buhl, K., Stone, D., 2015. Pesticide Half-life Fact Sheet [WWW Document]. *Natl. Pestic. Inf. Cent. Or. State Univ. Ext. Serv.* URL <http://npic.orst.edu/factsheets/half-life.html> (accessed 8.7.23).
- Harper, L.A., Paton, S., Hall, B., McKay, S., Oliver, R.P., Lopez-Ruiz, F.J., 2022. Fungicide resistance characterized across seven modes of action in *Botrytis cinerea* isolated from Australian vineyards. *Pest Manag. Sci.* 78, 1326–1340. <https://doi.org/10.1002/ps.6749>
- Helfrich, L.A., 2009. *Pesticides and Aquatic Animals: A Guide to Reducing Impacts on Aquatic Systems*. Virginia Polytechnic Institute and State University.

- Heshmati, A., Nili-Ahmadabadi, A., Rahimi, A., Vahidinia, A., Taheri, M., 2020. Dissipation behavior and risk assessment of fungicide and insecticide residues in grape under open-field, storage and washing conditions. *J. Clean. Prod.* 270, 122287. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.122287>
- Hou, X., Xu, Z., Zhao, Y., Liu, D., 2020. Rapid analysis and residue evaluation of six fungicides in grape winemaking and drying. *J. Food Compos. Anal.* 89, 103465. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2020.103465>
- Hoy, M.A., 2008. Acaricides or Miticides, in: Capinera, J.L. (Ed.), *Encyclopedia of Entomology*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 9–21. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6359-6_18
- iDealwine, 2015. Les vendanges... et après? *J. iDealwine Sur Actual. Vin*. URL <https://www.idealwine.net/les-vendanges-et-apres/> (accessed 3.12.24).
- Instituto Nazionale Di Statistica, 2011. The use of phytosanitary products in wine grape [WWW Document]. URL <https://www.istat.it/en/archivio/20219> (accessed 2.8.24).
- International Organisation of vine and wine, 2022. State of the world vine and wine sector 2021 April 2022.
- International Organisation of vine and wine, 2021a. State of the world vitivinicultural sector in 2020.
- International Organisation of vine and wine, 2021b. Annual Assessment of the World Vine and Wine Sector in 2021.
- ISO/IEC 17025, 2017. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories [WWW Document]. URL <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso-iec:17025:ed-3:v1:en> (accessed 7.11.22).
- JORT, 2010. Decret n° 2010-2973 du 15 Novembre 2010, modifiant et completant le decret no 92-2246 du 28 decembre 1992,fixant les modalites et les conditions d’obtention de l’homologation,des autorisations provisoires de vente des pesticides a usage agricole,ainsi que les conditions de leur

- fabrication,importation,formulation,conditionnement,stockage,vente,distribution et les conditions d'utilisation des pesticides a usage agricole extremement dangereux 3207–3208.
- JORT, 1999. Loi n° 99-57 du 28 Juin 1999, relative aux appellations d'origine controlee et aux indications de provenance des produits agricoles.
- JORT, 1993. Décret n° 92-2246 fixant les modalités et les conditions d'obtention de l'homologation ou de l'autorisation provisoire de vente des pesticides à usage agricole ainsi que des autorisations de leurs fabrication, importation, formulation, conditionnement, vente et distribution. 51–53.
- JORT, 1986. Arrêté du ministre de l'économie nationale du 25 Janvier 1986, portant sur homologation des normes tunisiennes relatives aux additifs alimentaires, aux contaminants et aux résidus de pesticides.
- Kassemeyer, H.-H., 2017. Fungi of Grapes, in: König, H., Uden, G., Fröhlich, J. (Eds.), *Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine*. Springer International Publishing, Cham, pp. 103–132. https://doi.org/10.1007/978-3-319-60021-5_4
- Kaur, H., Garg, H., 2014. Pesticides: Environmental Impacts and Management Strategies, in: Soloneski, S. (Ed.), *Pesticides - Toxic Aspects*. InTech. <https://doi.org/10.5772/57399>
- Kemp, B., Marangon, M., Curioni, A., Waters, E., Marchal, R., 2022. 8 - New directions in stabilization, clarification, and fining, in: Reynolds, A.G. (Ed.), *Managing Wine Quality (Second Edition)*, Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition. Woodhead Publishing, pp. 245–301. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102065-4.00002-X>
- Kennelly, M.M., Gadoury, D.M., Wilcox, W.F., Magarey, P.A., Seem, R.C., 2007. Primary Infection, Lesion Productivity, and Survival of Sporangia in the Grapevine Downy Mildew Pathogen *Plasmopara viticola*. *Phytopathology* 97, 512–522. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-97-4-0512>
- Khiari, R., Le Meurlay, D., Patron, C., Symoneaux, R., Zemni, H., Mihoubi, D., Maury, C., 2021. Characterization of physico-chemical, textural, phytochemical and sensory proprieties of Italia

- raisins subjected to different drying conditions. *J. Food Meas. Charact.* 15, 4635–4651. <https://doi.org/10.1007/s11694-021-01018-1>
- Khiari, R., Zemni, H., Mihoubi, D., 2019. Raisin processing: physicochemical, nutritional and microbiological quality characteristics as affected by drying process. *Food Rev. Int.* 35, 246–298. <https://doi.org/10.1080/87559129.2018.1517264>
- Khrapov, A., Prakh, A., Antonenko, M., 2021. The influence of agricultural practices in vineyards on the predisposition of wines to crystalline turbidities. *BIO Web Conf.* 34, 06005. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20213406005>
- Kittelmann, A., Müller, C., Rohn, S., Michalski, B., 2022. Transfer of Pesticide Residues from Grapes (*Vitis vinifera*) into Wine—Correlation with Selected Physicochemical Properties of the Active Substances. *Toxics* 10, 248. <https://doi.org/10.3390/toxics10050248>
- Koffi, Y.S., Kouadio, J.H., Son, D., 2022. Pesticide Exposure Levels and Risk Assessment in Operators Involved in the Cashew Production in Côte d’Ivoire. *Agric. Sci.* 13, 86–104. <https://doi.org/10.4236/as.2022.131008>
- König, H., Uden, G., Fröhlich, J. (Eds.), 2017. *Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine*. Springer International Publishing, Cham. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-60021-5>
- Kruger, G.R., Klein, R.N., Ogg, C.L., Vieira, B.C., 2019. Spray drift of pesticides. Nebraska extension.
- Kudsk, P., Jørgensen, L.N., Ørum, J.E., 2018. Pesticide Load—A new Danish pesticide risk indicator with multiple applications. *Land Use Policy* 70, 384–393. <https://doi.org/10.1016/j.landusepol.2017.11.010>
- Lentza-Rizos, C., Avramides, E.J., Kokkinaki, K., 2006. Residues of azoxystrobin from grapes to raisins. *J. Agric. Food Chem.* 54, 138–141. <https://doi.org/10.1021/jf051821w>
- Likas, D.T., Tsiropoulos, N.G., 2011. Fate of three insect growth regulators (IGR) insecticides (flufenoxuron, lufenuron and tebufenozide) in grapes following field application and through

- the wine-making process. *Food Addit. Contam. A* 28, 189–197. <https://doi.org/10.1080/19440049.2010.542184>
- Liu, C., Chen, R., Liu, F., Gao, Z., Li, X., Wang, Y., Wang, S., Li, Y., 2023. Distribution pattern, removal effect, transfer behavior of ten pesticides and one metabolite during the processing of grapes. *Food Res. Int.* 164, 112398. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.112398>
- Lu, Y., Shao, Y., Dai, S., Diao, J., Chen, X., 2016. Stereoselective Behavior of the Fungicide Benalaxyl During Grape Growth and the Wine-Making Process: Enantioselective Behavior of Benalaxyl. *Chirality* 28, 394–398. <https://doi.org/10.1002/chir.22589>
- Lucchi, A., Scaramozzino, P.L., 2018. *Lobesia botrana* (European grapevine moth). *CABI Compend.* CABI Compendium, 42794. <https://doi.org/10.1079/cabicompendium.42794>
- Magistà, D., Cozzi, G., Gambacorta, L., Logrieco, A.F., Solfrizzo, M., Perrone, G., 2021. Studies on the efficacy of electrolysed oxidising water to control *Aspergillus carbonarius* and ochratoxin A contamination on grape. *Int. J. Food Microbiol.* 338, 108996. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108996>
- Malviya, D., Thosar, R., Kokare, N., Pawar, S., Singh, U.B., Saha, S., Rai, J.P., Singh, H.V., Somkuwar, R.G., Saxena, A.K., 2022. A Comparative Analysis of Microbe-Based Technologies Developed at ICAR-NBAIM Against *Erysiphe necator* Causing Powdery Mildew Disease in Grapes (*Vitis vinifera* L.). *Front. Microbiol.* 13, 871901. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.871901>
- Mansour, R., Belzunces, L.P., Suma, P., Zappalà, L., Mazzeo, G., Grissa-Lebdi, K., Russo, A., Biondi, A., 2018. Vine and citrus mealybug pest control based on synthetic chemicals. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 38, 37. <https://doi.org/10.1007/s13593-018-0513-7>
- Mansour, R., Lebdi, K.G., Rezgui, S., 2010. Assessment of the performance of some new insecticides for the control of the vine mealybug *Planococcus ficus* in a Tunisian vineyard. *Entomol. Hell.* 19, 21–33. <https://doi.org/10.12681/eh.11591>

- Mechichi, G., Daaloul, O., Scippo, M.-L., Chaabane, H., Joly, L., 2023. Influence of Phytosanitary Practices in Tunisian Vineyards on the Presence of Pesticide Residues in Winegrapes. *Am. J. Enol. Vitic.* 74. <https://doi.org/10.5344/ajev.2023.23016>
- Merot, A., Fermaud, M., Gosme, M., Smits, N., 2020. Effect of Conversion to Organic Farming on Pest and Disease Control in French Vineyards. *Agronomy* 10, 1047. <https://doi.org/10.3390/agronomy10071047>
- Mghirbi, O., Ellefi, K., Le Grusse, P., Mandart, E., Fabre, E., Ayadi, H., Bord, J.-P., 2015. Assessing plant protection practices using pressure indicator and toxicity risk indicators: analysis of the relationship between these indicators for improved risk management, application in viticulture. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 22, 8058–8074. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3736-4>
- Micheloni, C., 2016. Diseases and pests in viticulture [WWW Document]. EIP-AGRI - Eur. Comm. URL <https://ec.europa.eu/eip/agriculture/en/focus-groups/diseases-and-pests-viticulture> (accessed 7.21.21).
- Mierczynska-Vasilev, A., Smith, P. a., 2015. Current state of knowledge and challenges in wine clarification. *Aust. J. Grape Wine Res.* 21, 615–626. <https://doi.org/10.1111/ajgw.12198>
- Ministère de l’Agriculture et de l’Alimentation, 2021. Indicateur de Fréquence de Traitements phytosanitaires (IFT) [WWW Document]. URL <https://agriculture.gouv.fr/indicateur-de-frequence-de-traitements-phytosanitaires-ift> (accessed 11.20.21).
- Molitor, D., Rothmeier, M., Behr, M., Fischer, S., Hoffmann, L., Evers, D., 2011. Crop cultural and chemical methods to control grey mould on grapes. *Vitis* 50, 81–87.
- Murisier, F., Zufferey, V., 2005. Essai de conduite et de taille sur Pinot noir, Gamay et Chasselas. *Rev. Suisse Vitic. Arboric. Hortic.* 37, 319–325.
- Nadeem, M., Randhawa, M.A., Butt, M.S., Asgher, M., 2019. The effect of processing on degradation of pesticides sprayed on Perlette and Black grapes. *Int. Food Res. J.* 26, 1871–1880.

-
- Navarre, C., Langlade, F., 2010. *L'oenologie*, 7. éd. ed. Éditions Tec & Doc, Paris.
- Navarro, S., Barba, A., Navarro, G., Vela, N., Oliva, J., 2000. Multiresidue method for the rapid determination in grape, must and wine of fungicides frequently used on vineyards. *J. Chromatogr. A* 882, 221–229. [https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(00\)00337-x](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(00)00337-x)
- Navarro, S., Barba, A., Oliva, J., Navarro, G., Pardo, F., 1999. Evolution of Residual Levels of Six Pesticides during Elaboration of Red Wines. Effect of Wine-Making Procedures in Their Dissappearance. *J. Agric. Food Chem.* 47, 264–270. <https://doi.org/10.1021/jf980801+>
- Navarro, S., Oliva, J., Navarro, G., Barba, A., 2001. Dissipation of Chlorpyrifos, Fenarimol, Mancozeb, Metalaxyl, Penconazole, and Vinclozolin in Grapes. *Am. J. Enol. Vitic.* 52, 35–40.
- Nguyen, T.H., 2015. Étude expérimentale et modélisation du procédé de séchage des végétaux (phdthesis). Université de Bretagne Sud.
- OIV, 2023. Code International des pratiques oenologiques.
- OIV, 2017. Focus OIV 2017: Distribution variétale du vignoble dans le monde. Paris, France.
- OIV-FAO, 2016. FAO-OIV Focus 2016 Table and Dried Grapes. FAO, Rome, Italy.
- Oliva, J., Payá, P., Cámara, M.A., Barba, A., 2007. Removal of pesticides from white wine by the use of fining agents and filtration. *Commun. Agric. Appl. Biol. Sci.* 72, 171–180.
- Oliva, Jose, Payá, P., Cámara, M.Á., Barba, A., 2007. Removal of famoxadone, fluquinconazole and trifloxystrobin residues in red wines: Effects of clarification and filtration processes. *J. Environ. Sci. Health Part B* 42, 775–781. <https://doi.org/10.1080/03601230701550964>
- Olivier, C., Vincent, C., Saguez, J., Galka, B., Weintraub, P.G., Maixner, M., 2012. Leafhoppers and Planthoppers: Their Bionomics, Pathogen Transmission and Management in Vineyards, in: Bostanian, N.J., Vincent, C., Isaacs, R. (Eds.), *Arthropod Management in Vineyards: Pests, Approaches, and Future Directions*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 253–270. https://doi.org/10.1007/978-94-007-4032-7_11
-

- Otero, R., Cancho Grande, B., Simal Gándara, J., 2003. Multiresidue method for fourteen fungicides in white grapes by liquid-liquid and solid-phase extraction followed by liquid chromatography-diode array detection. *J. Chromatogr. A* 992, 121–131. [https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(03\)00317-0](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(03)00317-0)
- Özbey, A., Karagöz, Ş., Cingöz, A., 2017. Effect of drying process on pesticides residues in grapes. *GIDA J. FOOD* 42, 204–209. <https://doi.org/10.15237/gida.GD16098>
- Painter, R.R., Kilgore, W.W., Ough, C.S., 1963. Distribution of Pesticides in Fermentation Products Obtained from Artificially Fortified Grape Musts. *J. Food Sci.* 28, 342–346. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1963.tb00208.x>
- Parlement européen, Conseil de l'Union européenne, 2005. Règlement (CE) N° 396/2005 du Parlement européen et du Conseil du 23 février 2005 concernant les limites maximales applicables aux résidus de pesticides présents dans ou sur les denrées alimentaires et les aliments pour animaux d'origine végétale et animale et modifiant la directive 91/414/CEE du Conseil Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE. *J. Off. Union Eur.* 70, 1–16.
- Pavan, F., Picotti, P., 2009. Influence of grapevine cultivars on the leafhopper *Empoasca vitis* and its egg parasitoids. *BioControl* 54, 55–63. <https://doi.org/10.1007/s10526-008-9151-3>
- Pazzirota, T., Martin, L., Mezcuca, M., Ferrer, C., Fernandez-Alba, A.R., 2013. Processing factor for a selected group of pesticides in a wine-making process: distribution of pesticides during grape processing. *Food Addit. Contam. Part Chem. Anal. Control Expo. Risk Assess.* 30, 1752–1760. <https://doi.org/10.1080/19440049.2013.815806>
- Pérez-Mayán, L., Cobo-Golpe, M., Ramil, M., Cela, R., Rodríguez, I., 2020. Evaluation of supercritical fluid chromatography accurate mass spectrometry for neonicotinoid compounds determination in wine samples. *J. Chromatogr. A* 1620, 460963. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2020.460963>
- Pertot, I., Caffi, T., Rossi, V., Mugnai, L., Hoffmann, C., Grando, M.S., Gary, C., Lafond, D., Duso, C., Thiery, D., Mazzoni, V., Anfora, G., 2017. A critical review of plant protection tools for

- reducing pesticide use on grapevine and new perspectives for the implementation of IPM in viticulture. *Crop Prot., Pesticide use and risk reduction with IPM* 97, 70–84. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2016.11.025>
- Pesticide Action Network, 2023. PAN Europe [WWW Document]. PAN Eur. URL <https://www.pan-europe.info/> (accessed 11.11.23).
- Philipp, C., Eder, P., Hartmann, M., Patzl-Fischerleitner, E., Eder, R., 2021. Plant Fibers in Comparison with Other Fining Agents for the Reduction of Pesticide Residues and the Effect on the Volatile Profile of Austrian White and Red Wines. *Appl. Sci.* 11, 5365. <https://doi.org/10.3390/app11125365>
- Pingault, N., Pleyber, E., Champeaux, C., Guichard, L., Omon, B., 2009. Produits phytosanitaires et protection intégrée des cultures: L'indicateur de fréquence de traitement. *Notes Études Socio-Économiques* 32, 61–94.
- Polat, B., 2021. Reduction of some insecticide residues from grapes with washing treatments. *Turk. J. Entomol.* 45, 125–137. <https://doi.org/10.16970/entoted.843754>
- PPDB, 2023. Pesticide Properties Database [WWW Document]. URL <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/index.htm> (accessed 2.12.24).
- Pujol, J., 2017. Apports de produits phytosanitaires en viticulture et climat-une analyse à partir des enquêtes pratiques culturelles. (No. 39), Agreste les Dossiers.
- Rahimi, A., Heshmati, A., Nili-Ahmadabadi, A., 2022. Changes in pesticide residues in field-treated fresh grapes during raisin production by different methods of drying. *Dry. Technol.* 40, 1715–1728. <https://doi.org/10.1080/07373937.2021.1919140>
- Reddy, B.K.K., Bhuvaneswari, K., Geetha, P., Thamilarasi, N., Suganthi, A., Paramasivam, M., 2022. Effect of Decontamination and Processing on Insecticide Residues in Grape (Muscat Hamburg) (preprint). In Review. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1279476/v1>

- Reuveni, M., 2001. Activity of trifloxystrobin against powdery and downy mildew diseases of grapevines. *Can. J. Plant Pathol.* 23, 52–59. <https://doi.org/10.1080/07060660109506909>
- Reynolds, A.G., 2010. Viticultural and vineyard management practices and their effects on grape and wine quality, in: *Managing Wine Quality*. Elsevier, pp. 365–444. <https://doi.org/10.1533/9781845699284.3.365>
- Rodríguez-Cabo, T., Rodríguez, I., Ramil, M., Silva, A., Cela, R., 2016. Multiclass semi-volatile compounds determination in wine by gas chromatography accurate time-of-flight mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1442, 107–117. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2016.03.005>
- Rondeau, G., Sánchez-Bayo, F., Tennekes, H.A., Decourtye, A., Ramírez-Romero, R., Desneux, N., 2014. Delayed and time-cumulative toxicity of imidacloprid in bees, ants and termites. *Sci. Rep.* 4, 5566. <https://doi.org/10.1038/srep05566>
- Ruediger, G.A., Pardon, K.H., Sas, A.N., Godden, P.W., Pollnitz, A.P., 2005. Fate of Pesticides during the Winemaking Process in Relation to Malolactic Fermentation. *J. Agric. Food Chem.* 53, 3023–3026. <https://doi.org/10.1021/jf048388v>
- Ruediger, G.A., Pardon, K.H., Sas, A.N., Godden, P.W., Pollnitz, A.P., 2004. Removal of pesticides from red and white wine by the use of fining and filter agents. *Aust. J. Grape Wine Res.* 10, 8–16. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2004.tb00003.x>
- Rusjan, D., 2012. Copper in Horticulture, in: Dhanasekaran, D. (Ed.), *Fungicides for Plant and Animal Diseases*. InTech. <https://doi.org/10.5772/26964>
- Russo, P., Berbegal, C., De Ceglie, C., Grieco, F., Spano, G., Capozzi, V., 2019. Pesticide Residues and Stuck Fermentation in Wine: New Evidences Indicate the Urgent Need of Tailored Regulations. *Fermentation* 5, 23. <https://doi.org/10.3390/fermentation5010023>
- Sabale, R., Shabeer, T.P.A., Utture, S.C., Banerjee, K., Jadhav, M.R., Oulkar, D.P., Adsule, P.G., Deshmukh, M.B., 2014. Dissipation kinetics, safety evaluation, and assessment of pre-harvest

- interval (PHI) and processing factor for kresoxim methyl residues in grape. *Environ. Monit. Assess.* 186, 2369–2374. <https://doi.org/10.1007/s10661-013-3544-1>
- SAgE pesticides, 2023. SAgE pesticides [WWW Document]. SAgE Pestic. URL <https://www.sagepesticides.qc.ca/> (accessed 11.11.23).
- Sala, C., Fort, F., Busto, O., Zamora, F., Arola, L., Guasch, J., 1996. Fate of Some Common Pesticides during Vinification Process. *J. Agric. Food Chem.* 44, 3668–3671. <https://doi.org/10.1021/jf960218y>
- Samuel, O., Dion, S., April, M.-H., St-Laurent, L., Institut national de santé publique du Québec, Québec (Province), Ministère de l'agriculture, des pêcheries et de l'alimentation, Ministère de l'environnement et des parcs Ministère du développement durable, 2007. Quebec pesticide risk indicator: QPRI : health and environment. MAPAQ, MDDEP, INSPQ, Quebec.
- Samuel, O., Québec (Province), Ministère de l'agriculture, des pêcheries et de l'alimentation, Québec (Province), Ministère du développement durable, de l'environnement et des parcs, Institut national de santé publique du Québec, 2012. Indicateur de risque de pesticides du Québec: IRPeQ : santé et environnement.
- Santana-Mayor, Á., Rodríguez-Ramos, R., Herrera-Herrera, A.V., Conde-González, J.E., Socas-Rodríguez, B., 2023. Food safety assessment of wines commercialised in the Canary Islands by monitoring of pesticide residues from 2017 to 2019. *Food Control* 153, 109957. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2023.109957>
- Santana-Mayor, Á., Rodríguez-Ramos, R., Socas-Rodríguez, B., Díaz-Romero, C., Rodríguez-Delgado, M.Á., 2020. Comparison of Pesticide Residue Levels in Red Wines from Canary Islands, Iberian Peninsula, and Cape Verde. *Foods* 9, 1555. <https://doi.org/10.3390/foods9111555>
- Sarangapani, C., Scally, L., Gulan, M., Cullen, P.J., 2020. Dissipation of Pesticide Residues on Grapes and Strawberries Using Plasma-Activated Water. *Food Bioprocess Technol.* 13, 1728–1741. <https://doi.org/10.1007/s11947-020-02515-9>

- Scholz, R., van Donkersgoed, G., Herrmann, M., Kittelmann, A., von Schledorn, M., Graven, C., Mahieu, K., van der Velde-Koerts, T., Anagnostopoulos, C., Bempelou, E., Michalski, B., 2018. Database of processing techniques and processing factors compatible with the EFSA food classification and description system FoodEx 2 Objective 3: European database of processing factors for pesticides in food. EFSA Support. Publ. 15. <https://doi.org/10.2903/sp.efsa.2018.EN-1510>
- Schusterova, D., Hajslova, J., Kocourek, V., Pulkrabova, J., 2021. Pesticide Residues and Their Metabolites in Grapes and Wines from Conventional and Organic Farming System. *Foods* 10, 307. <https://doi.org/10.3390/foods10020307>
- Sen, K., Cabaroglu, T., Yilmaz, H., 2012. The influence of fining agents on the removal of some pesticides from white wine of *Vitis vinifera* L. cv. Emir. *Food Chem. Toxicol.* 50, 3990–3995. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.08.016>
- Shabeer, T.P.A., Banerjee, K., Jadhav, M., Girame, R., Utture, S., Hingmire, S., Oulkar, D., 2015. Residue dissipation and processing factor for dimethomorph, famoxadone and cymoxanil during raisin preparation. *Food Chem.* 170, 180–185. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.008>
- Shah, R., 2021. Pesticides and Human Health, in: *Emerging Contaminants*. BoD – Books on Demand, London, United Kingdom, p. 332.
- Simonovici, M., 2021. Hausse des traitements fongicides en viticulture entre 2010 et 2016 : une évaluation de l'impact des différentes pratiques culturales 40.
- Simonovici, M., 2019. Enquête Pratiques phytosanitaires en viticulture en 2016 : nombre de traitements et indicateurs de fréquence de traitement|Agreste, la statistique agricole [WWW Document]. URL <https://www.agreste.agriculture.gouv.fr/agreste-web/disaron/Dos1902/detail/> (accessed 1.15.22).

- Słowik-Borowiec, M., Szpyrka, E., 2018. Multiresidue Analysis of Pesticides in Wine and Grape Using Gas Chromatography with Microelectron Capture and Nitrogen–Phosphorus Detection. *Food Anal. Methods* 11, 3516–3530. <https://doi.org/10.1007/s12161-018-1329-4>
- Somkuwar, R.G., Ramteke, S.D., Sawant, S.D., Takawale, P., 2019. Canopy Modification Influences Growth, Yield, Quality, and Powdery Mildew Incidence in Tas-A-Ganesh Grapevine. *Int. J. Fruit Sci.* 19, 437–451. <https://doi.org/10.1080/15538362.2018.1555509>
- Son, D., Zerbo, F.K.B., Bonzi, S., Schiffers, B., Somda, I., Schiffers, B., Legreve, A., 2018. Assessment of Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) Producers' Exposure Level to Pesticides, in Kouka and Toussiana (Burkina Faso). *Int. J. Environ. Res. Public. Health* 15, 204. <https://doi.org/10.3390/ijerph15020204>
- Starner, K., Goh, K.S., 2012. Detections of the Neonicotinoid Insecticide Imidacloprid in Surface Waters of Three Agricultural Regions of California, USA, 2010–2011. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 88, 316–321. <https://doi.org/10.1007/s00128-011-0515-5>
- Stavropoulos, P., Athanasopoulos, P.E., Kyriakidis, N.B., 2001. Degradation of pyrazophos and methidathion in fortified red and white wine under conditions of light and darkness. *Food Chem.* 72, 473–477. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00264-8](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00264-8)
- Steel, C.C., Blackman, J.W., Schmidtke, L.M., 2013. Grapevine Bunch Rots: Impacts on Wine Composition, Quality, and Potential Procedures for the Removal of Wine Faults. *J. Agric. Food Chem.* 61, 5189–5206. <https://doi.org/10.1021/jf400641r>
- Stummer, B.E., Francis, I.L., Markides, A.J., Scott, E.S., 2003. The effect of powdery mildew infection of grape berries on juice and wine composition and on sensory properties of Chardonnay wines. *Aust. J. Grape Wine Res.* 9, 28–39. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2003.tb00229.x>
- Suárez, R., Suárez-Lepe, J.A., Morata, A., Calderón, F., 2007. The production of ethylphenols in wine by yeasts of the genera *Brettanomyces* and *Dekkera*: A review. *Food Chem.* 102, 10–21. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.03.030>

- Suchail, S., Guez, D., Belzunces, L.P., 2000. Characteristics of imidacloprid toxicity in two *Apis mellifera* subspecies. *Environ. Toxicol. Chem.* 19, 1901–1905.
<https://doi.org/10.1002/etc.5620190726>
- Tacoli, F., Pavan, F., Cargnus, E., Tilatti, E., Pozzebon, A., Zandigiaco, P., 2017. Efficacy and Mode of Action of Kaolin in the Control of *Empoasca vitis* and *Zygina rhamni* (Hemiptera: Cicadellidae) in Vineyards. *J. Econ. Entomol.* 110, 1164–1178.
<https://doi.org/10.1093/jee/tox105>
- Tang, T., Zhang, M., Ju, R., Mujumdar, A.S., Yu, D., 2023. Novel drying and pretreatment methods for control of pesticide residues in fruits and vegetables: A review. *Dry. Technol.* 41, 151–171.
<https://doi.org/10.1080/07373937.2022.2041029>
- Taylor, A., 2021. Downy mildew of grapevines [WWW Document]. Dep. Prim. Ind. Reg. Dev. URL <https://www.agric.wa.gov.au/table-grapes/downy-mildew-grapevines?nopaging=1> (accessed 3.3.23).
- Taylor, A., Gordon, C., 2021. Powdery mildew of grapevines in Western Australia [WWW Document]. Dep. Prim. Ind. Reg. Dev. URL <https://www.agric.wa.gov.au/table-grapes/powdery-mildew-grapevines-western-australia> (accessed 3.3.23).
- Thekkumpurath, A.S., Girame, R., Hingmire, S., Jadhav, M., Jain, P., 2020. Residue dissipation, evaluation of processing factor and safety assessment of hexythiazox and bifenthrin residues during drying of grape to raisin. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 27, 41816–41823.
<https://doi.org/10.1007/s11356-020-10169-5>
- Thiery, D., 2020. Vigne - Eudemis (*Lobesia botrana*) [WWW Document]. URL <https://ephytia.inra.fr/fr/C/6082/Vigne-Eudemis-Lobesia-botrana> (accessed 3.20.24).
- Thomas, M.R., 1999. Guidelines for the Collection of Pesticide Usage Statistics within Agriculture and Horticulture. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.

- Tian, F., Qiao, C., Wang, C., Pang, T., Guo, L., Li, J., Pang, R., Xie, H., 2022. Dissipation behavior of prochloraz and its metabolites in grape under open-field, storage and the wine-making process. *J. Food Compos. Anal.* 114, 104846. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104846>
- Torres-Vila, L., Stockel, J., Lecharpentier, P., 1996. A melanic form of the European grape vine moth, *Lobesia botrana* Den and Schiff (Lepidoptera, Tortricidae), and its genetic basis. *Agronomie, Elsevier* 16, 391–397.
- Tsiropoulos, N.G., Miliadis, G.E., Likas, D.T., Liapis, K., 2005. Residues of Spiroxamine in Grapes Following Field Application and Their Fate from Vine to Wine. *J. Agric. Food Chem.* 53, 10091–10096. <https://doi.org/10.1021/jf052162q>
- Turgut, C., Ornek, H., Cutright, T.J., 2010. Pesticide residues in dried table grapes from the Aegean region of Turkey. *Environ. Monit. Assess.* 167, 143–149. <https://doi.org/10.1007/s10661-009-1037-z>
- Ubaid ur Rahman, H., Asghar, W., Nazir, W., Sandhu, M.A., Ahmed, A., Khalid, N., 2021. A comprehensive review on chlorpyrifos toxicity with special reference to endocrine disruption: Evidence of mechanisms, exposures and mitigation strategies. *Sci. Total Environ.* 755, 142649. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142649>
- Urkude, R., Dhurvey, V., Kochhar, S., 2019. Pesticide Residues in Beverages, in: *Quality Control in the Beverage Industry*. Elsevier, pp. 529–560. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816681-9.00015-1>
- US EPA, O., 2023. Databases Related to Pesticide Risk Assessment [WWW Document]. URL <https://www.epa.gov/pesticide-science-and-assessing-pesticide-risks/databases-related-pesticide-risk-assessment> (accessed 11.11.21).
- Van Bol, V., Claeys, S., Debongnie, P., Godfriaux, J., Pussemier, L., Steurbaut, W., Maraite, H., 2003. Pesticide indicators. *Pestic. Outlook* 14, 159. <https://doi.org/10.1039/b308507b>

-
- Van Scoy, A., Pennell, A., Zhang, X., 2016. Environmental Fate and Toxicology of Dimethoate. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 237, 53–70. https://doi.org/10.1007/978-3-319-23573-8_3
- Vaquero-Fernández, L., Sanz-Asensio, J., Fernández-Zurbano, P., López-Alonso, M., Martínez-Soria, M.-T., 2013. Determination of fungicide pyrimethanil in grapes, must, fermenting must and wine. *J. Sci. Food Agric.* 93, 1960–1966. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5998>
- Vargas, T. de S., Salustriano, N. de A., Klein, B., Romão, W., Silva, S.R.C. da, Wagner, R., Scherer, R., 2018. Fungicides in red wines produced in South America. *Food Addit. Contam. Part A* 35, 2135–2144. <https://doi.org/10.1080/19440049.2018.1529439>
- Vázquez, G., Chenlo, F., Moreira, R., Costoyas, A., 2000. Effects of various treatments on the drying kinetics of Muscatel grapes. *Dry. Technol.* 18, 2131–2144. <https://doi.org/10.1080/07373930008917830>
- Wang, J., Mujumdar, A.S., Mu, W., Feng, J., Zhang, X., Zhang, Q., Fang, X.-M., Gao, Z.-J., Xiao, H.-W., 2016. Grape Drying: Current Status and Future Trends, in: Morata, A., Loira, I. (Eds.), *Grape and Wine Biotechnology*. InTech. <https://doi.org/10.5772/64662>
- Wicks, T. j., Hitch, C. j., 2002. Integration of strobilurins and other fungicides for the control of powdery mildew on grapes. *Aust. J. Grape Wine Res.* 8, 132–139. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2002.tb00222.x>
- Wilcox, W.F., Gubler, W.D., Uyemoto, J.K. (Eds.), 2015a. *Compendium of Grape Diseases, Disorders, and Pests, Second Edition*. The American Phytopathological Society. <https://doi.org/10.1094/9780890544815>
- Wilcox, W.F., Gubler, W.D., Uyemoto, J.K., 2015b. PART IV: Grapevine Disease Management, in: Wayne, F.W., Walter, D.G., Jerry, K.U. (Eds.), *Compendium of Grape Diseases, Disorders, and Pests, Second Edition, Diseases and Pests Compendium Series*. The American Phytopathological Society, pp. 177–198. <https://doi.org/10.1094/9780890544815.005>

- World Health Organization, 2020. The WHO recommended classification of pesticides by hazard and guidelines to classification 2019, WHO recommended classification of pesticides by hazard and guidelines to classification. World Health Organization, Geneva.
- Xiao, O., Li, M., Chen, J., Li, R., Quan, R., Zhang, Z., Kong, Z., Dai, X., 2020. Influence of Triazole Pesticides on Wine Flavor and Quality Based on Multidimensional Analysis Technology. *Molecules* 25, 5596. <https://doi.org/10.3390/molecules25235596>
- Yadav, I., Devi, N., 2017. Pesticides Classification and Its Impact on Human and Environment, in: ENVIRONMENTAL SCIENCE AND ENGINEERING. pp. 140–158.
- Yadav, S.P., Singh, B.K., Pandey, R., Singh, A., Mishra, M.K., Singh, S.K., 2020. Estimation of pesticide residues in table grapes by using gas and liquid chromatography coupled with mass spectrometry. *Int. J. PLANT Prot.* 13, 50–57. <https://doi.org/10.15740/HAS/IJPP/13.1/50-57>
- Yang, Q., Wei, S., Liu, N., Gu, Z., 2020. The Dissipation of Cyazofamid and Its Main Metabolite CCIM during Wine-Making Process. *Molecules* 25, 777. <https://doi.org/10.3390/molecules25040777>
- Yigit, N., Velioglu, Y.S., 2020. Effects of processing and storage on pesticide residues in foods. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 60, 3622–3641. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1702501>
- Zemni, H., Sghaier, A., Khiari, R., Chebil, S., Ben Ismail, H., Nefzaoui, R., Hamdi, Z., Lasram, S., 2017. Physicochemical, Phytochemical and Mycological Characteristics of Italia Muscat Raisins Obtained Using Different Pre-treatments and Drying Techniques. *Food Bioprocess Technol.* 10. <https://doi.org/10.1007/s11947-016-1837-4>
- Zengin, E., Karaca, İ., 2018. Determination of Pesticide Residues in Grapes From Vineyards Implemented Good Agricultural Practice in Uşak. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilim. Enstitüsü Derg.* 22, 1121–1124. <https://doi.org/10.19113/sdufenbed.468816>
- Zhang, Y., Si, W., Chen, L., Shen, G., Bai, B., Zhou, C., 2021. Determination and dietary risk assessment of 284 pesticide residues in local fruit cultivars in Shanghai, China. *Sci. Rep.* 11, 9681. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-89204-5>

- Zhao, L., Liu, F., Ge, J., Ma, L., Wu, L., Xue, X., 2018. Changes in eleven pesticide residues in jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.) during drying processing. *Dry. Technol.* 36, 965–972. <https://doi.org/10.1080/07373937.2017.1367306>
- Zhou, Q., Bian, Y., Peng, Q., Liu, F., Wang, W., Chen, F., 2019. The effects and mechanism of using ultrasonic dishwasher to remove five pesticides from rape and grape. *Food Chem.* 298, 125007. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125007>
- Zincke, F., Fischer, A., Kittelmann, A., Kraus, C., Scholz, R., Michalski, B., BfR (German Federal Institute for Risk Assessment), 2022. First update of the EU database of processing factors for pesticide residues. *EFSA Support. Publ.* 19. <https://doi.org/10.2903/sp.efsa.2022.EN-7453>
- Znaien, N., 2015. Le vin et la viticulture en Tunisie coloniale (1881–1956): Entre synapse et apartheid. *Fr. Cult. Stud.* 26, 140–151. <https://doi.org/10.1177/0957155815571523>

Annexes

Annexe 1 : Enquête sur le procédé de vinification

<u>Données cave</u>
Nom :
Année de création :
Localisation :

A. Etude économique

Q1) La quantité de vin produite par année :

Q2) La quantité de vin consommée par année :

Q3) Quels sont les vins les plus produits ?

Q4) Quel est le marché ciblé ?

- National

- International Principaux Pays visés

B. Partie pratique

Q1) Les étapes de vinifications en rosé

.....

Q2) Les étapes de vinifications en blanc

.....

Q3) Les étapes de vinification en rouge

.....

- Sur quel support ?
- Lors du traitement pesticide, est ce que vous vous protégez avec :
 - Des gants
 - Un protège visage
 - Un tablier –combinaison
 - Des chaussures de protection
 - Si aucune protection, pourquoi ?
 - Est-ce que vos vêtements de protection sont lavés après utilisation ?
 - Oui Non
 - Lors du traitement pesticide, vous fumez, ou vous buvez ?
 - Oui Non
 - Combien de temps après le traitement procédez-vous à la récolte ? Jours
 - Est-ce que vous contrôlez l'appareil de traitement avant de commencer le traitement ?
 - Oui Non
 - Dans quel endroit préparez-vous la bouillie du traitement ?

 - Comment vous faites pour éliminer les restes du pesticide dans la cuve du pulvérisateur ?
 - Dans la nature (Oued, champs)
 - Pas de précaution particulière
 - Pulvérisation sur sol enherbé
 - Autre

B. Partie Procèdes de séchage

- Q1) Procédez-vous à une étape de prétraitement avant le séchage ?
- Oui - Non
- Si oui, quelles sont les traitements appliqués ?

- Q2) Quelle est la méthode de séchage que vous utilisez ?

- Q3) Quelle est la durée moyenne du séchage ?

- Q4) Cette méthode est-elle rentable ?
- Oui - Non
- Q5) Il y a-t-il des pertes durant la période de séchage ?
- Oui - Non
- Quelles sont les principales causes ?

Q5) Comment limitez-vous ces pertes ?

.....
.....

Q6) Procédez-vous à des traitements durant le séchage ?

- Oui - Non

Si oui, de quelle nature ?

.....
.....

Annexe 3 : Fiche d'enquête de terrain

Nom de l'viticulteur/société :

Gouvernorat:

Délégation:

Région:

Information sur l'exploitation

Superficie totale:

Nature du sol:

Travail du sol:

Origine de l'eau d'irrigation:

Mode d'irrigation:

Par rigole

Goutte à goutte

La période d'irrigation:

Information sur la culture des vignes

Date de l'installation/Age du verger:

Historique de la parcelle:

Les variétés cultivées:

.....

Densité de plantation:

Date de récolte:

Début :

Fin :

Rendement (T/ha):

Bon

Moyen

Faible

Nul

Traitement phytosanitaire

Type de traitement phytosanitaire

Biologique

Chimique

Traitement chimique

- Détermination de la dose

Oui

Non

- Référence

Guide phytosanitaire

Avertissement des services régionaux de protection des cultures

Recommandation des revendeurs des produits phytosanitaires

Expérience personnelle de l'viticulteur

Conseil d'amis, voisins

- Attitude lors de la décision concernant le traitement:

Traitement préventif

Traitement curatif

Recherche de rendement plus élevé

- Imitation des voisins et des amis
- Estimation des dégâts potentiels
- Avertissements agricoles
- Mode d'application:
 - Par pulvérisation
 - Par incorporation au sol
- Pulvérisation:
 - Atomiseur à dos
 - Tracteur à jet porté
 - Tracteur à jet projeté
 - Pneumatique
- Applicateur:
 - Technicien
 - Ouvrier
 - Autre
- Nombre de traitements opérés durant la campagne agricole :
- Type de pesticide utilisé:
 - Herbicide
 - Fongicide
 - Insecticide
 - Autre

Bioagresseurs	Préparation commerciale	Dose utilisée	Date de traitement

- Est-ce que vous pratiquez des mélanges de pesticides :
 - Oui
 - Non
- Est-ce que vous prenez note, après chaque passage (date, parcelle, quantité de pesticides, fiche du stock de pesticides)
 - Oui
 - Non
 - Oui, partiellement
 Sur quel support ?
- Lors du traitement pesticide, est ce que vous vous protégez avec :
 - Des gants
 - Un protège visage
 - Un tablier –combinaison
 - Des chaussures de protection
 - Si aucune protection, pourquoi ?
- Est-ce que vos vêtements de protection sont lavés après utilisation ?
 - Oui
 - Non
- Lors du traitement pesticide, vous fumez, ou vous buvez ?
 - Oui
 - Non
- Combien de temps après le traitement procédez-vous à la récolte ?

- Dans moins de 3 jours Après 3 jours
- Est-ce que vous contrôlez l'appareil de traitement avant de commencer le traitement ?
 Oui Non
- Quel est l'endroit où vous préparez la bouillie du traitement ?
.....
.....
- Comment vous faites pour éliminer les restes du pesticide dans la cuve du pulvérisateur ?
 Dans la nature (Oued, champs)
 Pas de précaution particulière
 Pulvérisation sur sol enherbé
 Autre
- Est-ce que vous recevez des visites de techniciens sur le thème « Traitement phytosanitaire » si oui, lequel ?
 Un spécialiste de service de protection des végétaux (CRDA, Ministère)
 Un vulgarisateur
 Un conseiller agricole
 Un chercheur
 Un revendeur
- Si oui, quel type d'information avez-vous reçue ?
 Encadrement technique
 Introduction de nouvelles techniques
 Information sur les circuits d'achat des pesticides
 Autres (précisez)
- Écoulement de la production :
 Vente sur pied.
 Marché local (précisez)
 Grandes surfaces
 Exportation

Quantité (T/ ha)	Prix (DT)

D'autres remarques

.....
.....

Annexe 4 : Exemple de calcul de l'indicateur de risque de pesticide du Québec (IRPeQ)

Cas de la substance active chlorpyriphos-éthyl

Toutes les données relatives aux propriétés physico-chimiques et écotoxicologiques ont été collectées à partir du site officiel du logiciel SAgE (SAgE pesticides, 2023) conçu pour le calcul de l'IRPeQ.

Indice de risque santé publique (IRS)

Le volet santé publique (IRS) comprend un indice de risque toxicologique (IRT) dont la formule est donnée ci-dessous :

$$\text{IRT} = [\sum \text{risques aigus} + (\sum \text{risques chroniques} \times \text{FPer})]^2$$

Les risques aigus prennent en considération 6 critères : les valeurs de DL₅₀ par voie orale (mg/kg), DL₅₀ par voie cutanée (mg/kg), CL₅₀, l'irritation cutanée, l'irritation oculaire et la sensibilisation. Selon les valeurs de ces paramètres, des points variant entre 0, 1, 2, 4 et 8 sont alloués selon la gravité (Samuel *et al.*, 2012).

Tableau 1. Critères de toxicité aiguë des matières actives (Samuel *et al.*, 2012)

Toxicité aiguë	Gravité de l'effet				
	Points alloués				
	8	4	2	1	0
DL₅₀ orale (mg/kg)	≤ 50	> 50-300	> 300-2000	> 2000	
DL₅₀ cutanée (mg/kg)	≤ 200	> 200-1000	> 1000-2000	> 2000	
CL₅₀ inhalation (mg/l)	≤ 0,5	> 0,5-1	> 1-5	> 5	
Irritation cutanée	Sévèrement à extrêmement	Modérément	Légèrement	Très peu ou pas	
Irritation oculaire	Sévèrement à extrêmement	Modérément	Légèrement	Très peu ou pas	
Sensibilisation	Oui	Possible			Non

Les risques chroniques tiennent compte de 5 critères : la cancérogénicité, la génotoxicité, la perturbation endocrinienne, ainsi que la toxicité sur la reproduction et sur le développement. Dans ce cas les points alloués sont 0, 1, 2, 4, 8 et 16 selon la gravité de l'effet (le score de 16 est attribué lorsque

l'effet est confirmé chez l'être humain). Ces risques sont multipliés par un facteur tenant compte de la persistance environnementale et du potentiel de bioaccumulation chez l'humain (FPer) qui se base le temps de demi-vie dans le sol (TD_{50}) et/ou le facteur de bioaccumulation BCF (qui correspond à $10^{\log((0,79 * \log(k_{oc}) - 0,4))}$). Le système de points attribués est illustré dans le guide de calcul de l'IRPeQ (Samuel *et al.*, 2012).

Tableau 2. Critères de toxicité chronique des matières actives (Samuel *et al.*, 2012)

Toxicité Chronique	Gravité de l'effet					
	Points alloués					
	16	8	4	2	1	0
Cancérogénicité	Cancérogène pour l'humain	Cancérogène possible chez l'humain	Cancérogène probable chez l'humain	Données insuffisantes pour l'évaluation du potentiel cancérogène chez l'humain	-	Cancérogène peu probable chez l'humain
Génotoxicité	-	Génotoxique chez l'humain	Potentiel génotoxique chez l'humain	-	Données inexistantes ou insuffisantes	Non génotoxique chez l'humain
Perturbation endocrinienne	-	Perturbateur endocrinien évident	Perturbateur endocrinien potentiel	-	Données inexistantes ou insuffisantes	Effets endocriniens peu probables
Reproduction	Effets confirmés chez l'humain	Effets suspectés chez l'humain	Effets confirmés chez l'animal	Effets suspectés chez l'animal	Données inexistantes ou insuffisantes	Aucun effet rapporté
Développement	Effets confirmés chez l'humain	Effets suspectés chez l'humain	Effets confirmés chez l'animal	Effets suspectés chez l'animal	Données inexistantes ou insuffisantes	Aucun effet rapporté

Dans le cas du chlorpyrifos-éthyl le calcul est comme suit :

$$IRT_{\text{chlorpyrifos-éthyl}} = [(4+4+8+1+1+0) + ((0+0+0+0+8) * 2.5)]^2 = 1444$$

Avec :

- K_{oc} (coefficient de partage avec le carbone organique) = 2785 mL/g ;
- TD_{50} (jours) = 68 (SAGe pesticides, 2023)

La valeur de l'IRS_{substance active} est obtenue selon la formule ci-dessous :

$$IRS = \frac{(IRT \times FCP \times FPF)}{10}$$

Avec :

- IRT : Indice de risque toxicologique
- FCP : facteur prenant en considération la dose repère appliquée (DRA) (g ou mL substance active appliquée/ ha) (pour une DRA < 2000 : FCP= 0.00075 * (DRA) + 0,5 ; pour une DRA ≥ 2000 : FCP= 2)
- FPF : facteur de pondération considérant la formulation de la substance active dans le produit commercial. Les points alloués varient entre 1 (les formulations à risque d'exposition faible) et 2 (les formulations à risque d'exposition élevée)
- La division par un coefficient de 10 vise à générer des valeurs de IRS qui se situent dans une plage d'ordre de grandeur acceptable, en particulier pour les substances actives présentant un indice toxicologique très élevé (Samuel *et al.*, 2012).

Dans le cas du chlorpyrifos-éthyl, la DRA est égale à 600 mL/ha (FCP= (0,00075 * 600) + 0,5 = 0,95) et la formulation (produit commercial Pyrical®) est un concentré émulsifiable avec un FPF = 2.

$IRS_{\text{chlorpyrifos-éthyl}} = (1444 * 0.95 * 2) / 10 = 274,4$
--

L'indice de risque pour l'environnement (IRE)

L'estimation de l'IRE est obtenue selon la formule ci-dessous :

$$IRE_{\text{substance active}} = [1.75 \times (T + O) + A + M + B + P]^2$$

Avec :

- T : Impact sur les invertébrés terrestres (le cas des abeilles dans la présente étude). Ce paramètre se réfère à la DL_{50} orale ou de contact chez les abeilles (µg/abeille). Les points attribués à T dépendent du quotient d'exposition orale (Qeo) ou de contact (Qec) qui se calcule comme suit :

$Q_{50} = \text{Dose repère appliquée (g ou mL substance active/ ha)} / \text{Toxicité (DL}_{50} \text{ orale ou de contact)}$. Les valeurs de T varient entre 0, 2 et 4,

- O : Impact sur les oiseaux qui se base sur les DL₅₀ aiguës pour les espèces Colin de Virginie ou Canard Colvert. Les points attribués se basent sur le rapport entre la toxicité et l'exposition. La toxicité est la valeur de DL₅₀ aiguë tandis que l'exposition (QPI) présente la quantité de pesticide ingérée quotidiennement (mg/kg de poids corporel). La formule du QPI varie selon l'espèce d'oiseau :

- $QPI \text{ (canard Colvert)} = 0,528 * 142 * DRA / 1000$
- $QPI \text{ (colin de Virginie)} = 0,865 * 87 * DRA / 1000$

Les valeurs de O varient entre 0, 1, 2, 3 et 4,

- M : La mobilité est estimée selon l'indice de GUS (Groundwater Ubiquity Source) illustrant la contamination des eaux souterraines par lessivage et des eaux de surface par drainage. L'indice de GUS est obtenu selon la formule : $GUS = \log(TD_{50} * (4 - \log(K_{oc}))$ (avec TD₅₀ est la valeur du temps de demi-vie dans le sol en jours et K_{oc} est le coefficient d'adsorption sur carbone organique). Les calculs effectués sont présentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 3. Valeur de M en fonction de l'indice GUS et de la quantité appliquée

GUS	Dose repère appliquée (g ou mL substance active /ha)	
	< 2000	≥ 2000
< 1,8	0	
≥ 1,8 - 2,8	$M = 0,000375 (DRA) + 1,25$	2
≥ 2,8	$M = 0,00075 (DRA) + 2,5$	4

- P : La persistance se base sur la valeur de TD₅₀ (jours) et la valeur de la dose repère appliquée (DRA) (g ou mL substance active/ ha). Les valeurs de ce paramètre sont calculées selon le tableau ci-dessous :

Tableau 4. Valeur de P en fonction de la demi-vie et de la quantité appliquée

TD ₅₀ (jours)	Dose repère appliquée (g ou mL substance active /ha)	
	< 2000	≥ 2000
< 10	0	
≥ 10 - 30	$P = 0,00075 (DRA) - 0,5$	1
≥ 30 - 60	$P = 0,00075 (DRA) + 0,5$	2

$\geq 60 - 90$	$P = 0,00075 \text{ (DRA)} + 1,5$	3
$\geq 90 - 180$	$P = 0,00075 \text{ (DRA)} + 2,5$	4
≥ 180	4	

- B : Le potentiel de bioaccumulation se calcule en se référant à la valeur de TD_{50} (jours) et la valeur du logarithme du coefficient de partage octanol-eau ($\log P_{oe}$). Les valeurs de ce paramètre sont estimées selon le tableau ci-dessous :

Tableau 5. Valeur de B en fonction de la demi-vie et du $\log P_{oe}$

TD ₅₀ (jours)	Coefficient de partage octanol-eau ($\log P_{oe}$)		
	< 3	3 - 4	> 4
< 10	0	0	1
$\geq 10 - 90$	0	0	2
$\geq 90 - 180$	0	1	3
≥ 180	0	2	4

Dans le cas du chlorpyrifos-éthyl :

- DL₅₀ orale ou de contact chez les abeilles = 0,04 ($\mu\text{g}/\text{abeilles}$) : T = 4
- DL₅₀ Colin de Virginie = 32 (mg/kg poids corporel) : O = 3
- TD_{50 sol} = 68 jours ; K_{oc} = 2785 mL/g ; P_{oe} = 4,7 : M = 0, P = 1,9 et B = 2

$$\text{IRE}_{\text{chlorpyrifos-éthyl}} = [1,75 * (4+3) + 0 + 1,95 + 2 + 1]^2 = 295,8$$

Annexe 5 : Exemple de chromatogramme et de droite de calibration dans le cas de la présente étude

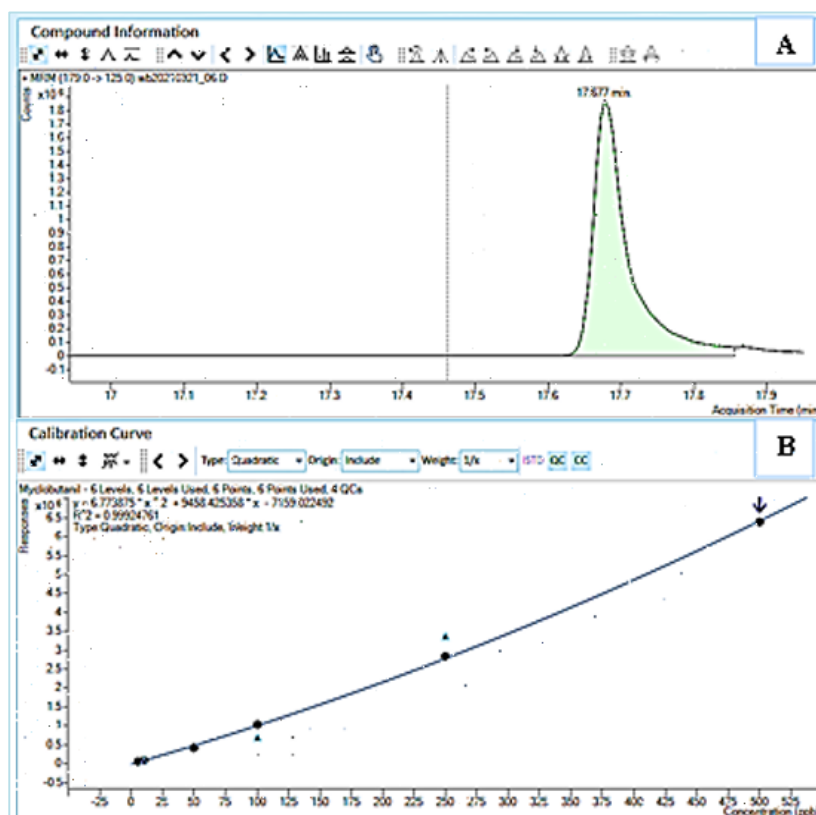


Figure 1. Représentation du chromatogramme (A) et de la droite de calibration (B) obtenus suite à l'analyse de la substance active myclobutanil par GC- MS/MS