

## Annexe 1 : Fabrication d'une enceinte UV-C

Cette annexe 1 est présentée sous forme d'un article de méthodologie soumis au « Cahier des techniques de l'INRA » (Figure 67, version acceptée en 2018).

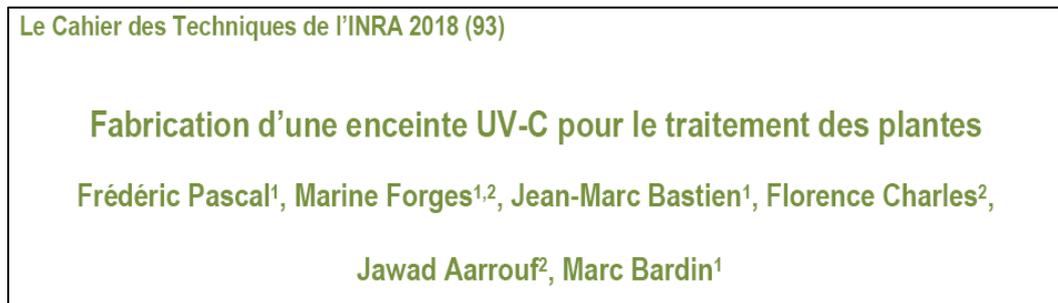


Figure 67 : **Article de méthodologie.** Frédéric Pascal et Marine Forges ont contribué de la même manière dans ce travail. Cet article a été publié dans le Cahier Technique de l'INRA en 2018.

### 1. Résumé

L'enceinte UV-C décrite dans cet article permet de traiter des lots de plantes avec des rayonnements ultraviolets C (UV-C) à très haute énergie. Cette enceinte est composée d'un plafond lumineux pivotant formé par neuf lampes UV-C ayant un pic à 254 nm, d'un plateau réglable en hauteur ainsi qu'un système de sécurité afin de protéger l'expérimentateur contre les rayonnements UV-C émis par les lampes. Cette enceinte permet de délivrer des doses précises d'UV-C, définies par un temps d'exposition mesuré en fonction de la puissance maximale des lampes. Elle est utilisée pour (1) estimer l'impact de ces rayonnements sur le photosystème des plantes et (2) déterminer leur effet sur la résistance induite vis à vis des agents phytopathogènes. La conception et la fabrication de l'enceinte UV-C a été l'occasion pour les membres de l'Atelier de l'Unité INRA Pathologie Végétale de partager leurs savoir-faire avec les chercheurs de l'Unité et ceux du Laboratoire Physiologie des Fruits et Légumes de l'Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse.

Mots clés : rayonnement UV-C, traitements, plantes, agents pathogènes

## 2. Introduction

Des travaux de recherche ont été initiés depuis plusieurs années dans l'équipe de Physiologie des Fruits et Légumes (UMR Qualisud, Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse) en collaboration avec l'Unité Pathologie Végétale (INRA PACA) pour évaluer la possibilité d'utiliser les rayonnements ultraviolets C (UV-C) comme outil de protection des plantes contre des agents pathogènes tels que *Botrytis cinerea* ou *Sclerotinia* sp. (Ouhibi *et al.*, 2015a,b ; Urban *et al.*, 2014, 2016, 2018 ; Vasquez *et al.*, 2017).

Les rayons UV-C sont des rayonnements électromagnétiques de très haute énergie dont le spectre de longueurs d'onde s'étend de 200 à 280 nm. Les rayonnements avec une longueur d'onde de 254 nm sont utilisés pour leurs propriétés germicides, en particulier bactéricides (Bank *et al.*, 1990). Ils agissent par dénaturation de l'ADN des micro-organismes. D'après une étude de l'INRS (*Institut national de recherche et sécurité*), les risques les plus importants d'une exposition humaine à ces rayons sont d'une part, les cancers de la peau et les mélanomes malins, et d'autres parts, les atteintes de la cornée et les risques de cataractes (Barlier-Salsi *et al.*, 1998).

Dans cet article, nous détaillons la construction d'une enceinte permettant de traiter les plantes avec des rayonnements UV-C à des doses optimisées et contrôlées. Cette enceinte a été construite en tenant compte des contraintes de sécurité liées à l'utilisation de tels rayonnements (enceinte entièrement fermée où les rayonnements sont confinés à l'intérieur) ainsi qu'aux besoins expérimentaux (traitements répétés de nombreux lots de plantes).

## 3. Construction de l'enceinte

L'enceinte est construite en contreplaqué de 20 mm, ces dimensions intérieures sont : longueur 1110 mm, largeur 485 mm, hauteur sous lampes 740 mm, hauteur totale 1150 mm. Les panneaux sont découpés puis vissés sur le champ des panneaux adjacents par des vis à bois en inox. Le fond arrière vissé assure la stabilité de l'ensemble. En-dessous de la cabine, trois chevrons de 50 mm x 70 mm sont vissés, cela permet au panneau du fond de ne pas appuyer directement sur la table de culture qui est souvent

humide et évite ainsi sa dégradation prématurée. Pour éviter l'absorption interne des rayons par le contreplaqué, une tôle en inox poli miroir de 1 mm d'épaisseur et d'une hauteur de 650 mm a été fixée sur tout le pourtour, sur les portes, ainsi qu'au-dessus des lampes UV-C. Les rayons sont ainsi reflétés de tous les côtés sans pertes d'efficacité, tout en gardant un environnement lumineux le plus homogène possible. Sur la partie avant, deux portes de 735 mm de hauteur et une imposte fixe viennent fermer l'ensemble (Figure 68).



**Figure 68 : Enceinte en cours de construction.** Les tôles en inox sont revêtues d'un film plastique qui protège de l'oxydation, et qui sera retiré au dernier moment. On aperçoit également le support des lampes et des ballasts. (Photo : Frédéric Pascal, INRA PACA).

Afin de pouvoir utiliser l'enceinte avec différentes espèces végétales, une étagère de fond amovible permettant d'ajuster la hauteur des plantes par rapport aux lampes a été mise en place. Les plantes traitées aux UV-C doivent avoir leurs sommets à 30 cm de distance minimum des lampes pour éviter les brûlures des feuilles. La hauteur de l'étagère du fond est réglée en intercalant des cales de dimensions appropriées sous celle-ci (Figure 69).



**Figure 69 : Étagère amovible permettant d’ajuster la distance entre les plantes et les lampes UV-C. (Photo : Frédéric Pascal, INRA PACA).**

Afin de réaliser les traitements UV-C, nous avons construit un plafond lumineux permettant de travailler en toute sécurité. Les lampes UV-C que nous avons utilisées sont de la marque OSRAM® et de type PURITEC HNS L 24W 2G11. Les lampes sont montées sur des douilles 2G11 et sont alimentées par des ballasts électroniques de marque OSRAM® et de type QUICKTRONIC PROFESSIONAL QTP-DL 1 x 18-24. Elles sont au nombre de neuf pour couvrir toute la surface de l’enceinte. À l’allumage, les lampes nécessitent un temps minimum de 10 min pour atteindre leur puissance nominale et se stabiliser. Pour cette raison, nous avons mis en place un système de support de lampes rotatif qui permet :

- ✓ de laisser les lampes allumées durant tout le temps nécessaire à la réalisation de l’expérimentation, sans interruption entre chaque lot de plantes traitées ;
- ✓ d’introduire et de sortir les plantes de l’enceinte sans risque pour l’opérateur d’une exposition aux rayons UV-C ;
- ✓ de contrôler précisément le temps d’exposition des plantes.

Le châssis de support de lampes, réalisé en acier inoxydable, comprend deux rectangles réalisés en tubes de forme carrée de 20 mm de côté : un pour porter les lampes et l'autre pour les ballasts. Un tube carré de 30 mm est soudé au milieu entre les deux rectangles, il sert d'axe central et permet d'avoir un espace assurant une meilleure ventilation (Figure 70). Entre les lampes et les ballasts, une tôle en acier inoxydable de finition « miroir » a été fixée, ce qui permet de réfléchir les rayons des lampes et de protéger les ballasts d'un échauffement excessif. La rotation de l'ensemble d'un demi-tour selon un axe horizontal permet :

- ✓ quand les lampes sont tournées vers le bas d'exposer les plantes aux rayons UV-C ;
- ✓ quand les lampes sont tournées vers le haut d'introduire ou de sortir les plantes en toute sécurité.



Figure 70 : **Châssis support des lampes et des ballasts.** (Photo : Frédéric Pascal, INRA PACA).

L'alimentation électrique du dispositif se fait par un câble souple de type H07VV-F 3G2.5 qui passe à l'intérieur de l'axe central. Grâce à cela, la rotation d'un demi-tour sur plus d'un mètre ne pose aucune contrainte au câble (Figure 71).



**Figure 71 : Passage du câble électrique souple au travers de l'axe central de rotation des lampes.** (Photo : Frédéric Pascal, INRA PACA).

La rotation d'un demi-tour est assurée par un système simple de manivelle rendue solidaire du support des lampes par une clavette. Des loquets permettent de maintenir la manivelle dans la position voulue (Figure 72). Des contacts électriques de sécurité positionnés contre le bras de manivelle et sur chaque porte coupent l'alimentation électrique en cas d'ouverture inopinée des portes quand les lampes sont tournées vers le bas (Figure 73). L'opérateur est ainsi protégé de tout risque d'exposition aux rayonnements.



Figure 72 : **Manivelle et loquets maintenant la position.** On voit également le contact électrique de sécurité. (Photo : Frédéric Pascal, INRA PACA).



Figure 73 : **Contacts de sécurité des portes et du loquet de maintien.** (Photo : Frédéric Pascal, INRA PACA).

#### 4. Mesures de l'intensité des rayonnements UV-C des lampes

Afin de déterminer le temps nécessaire à la stabilisation du rayonnement reçu au niveau des plantes et de pouvoir calculer exactement le temps d'exposition des plantes aux rayons correspondant à une dose d'UV-C souhaitée, des mesures des rayonnements émis par les lampes ont été réalisées. Pour cela, nous avons utilisé un photomètre/radiomètre SOLAR LIGHT PMA 2100 (Figure 74-A) équipé d'un capteur PMA-2122 (UV Germicidal Detector) (Figure 74-B).

Afin de vérifier l'homogénéité du rayonnement sur toute la surface de l'enceinte, le capteur a été placé à différents points de la plateforme (Figure 75). À chaque point, la mesure de l'intensité maximale du rayonnement reçu ( $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ ) est réalisée pendant 1 min.

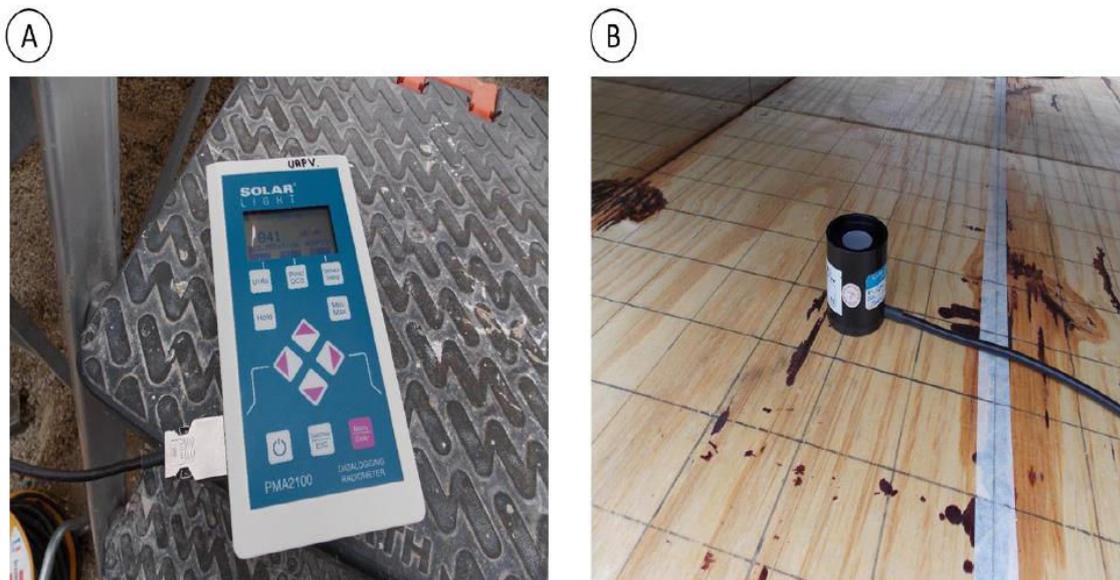


Figure 74 : Mesure de l'intensité des rayonnements UV-C. A) Photomètre/radiomètre SOLAR LIGHT PMA 2100 utilisé pour réaliser les mesures des rayonnements. B) Capteur PMA-2122 (UV Germicidal Detector) utilisé. (Photos Marine Forges, INRA PACA et Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse).

Pour estimer les temps de traitements correspondant aux doses d'UV-C souhaitées, l'intensité lumineuse reçue par le capteur PMA-2122 (en  $\mu\text{W}/\text{cm}^2$  et en

mJ/cm<sup>2</sup>) est mesurée pendant 1 min et convertie en kJ/m<sup>2</sup>. Les mesures sont effectuées sur plusieurs points de la zone de traitement (28 au total représentant l'ensemble de la surface de traitements UV-C). Ainsi pour chaque dose d'UV-C souhaitée pour les expérimentations, on peut calculer un temps de traitement associé.

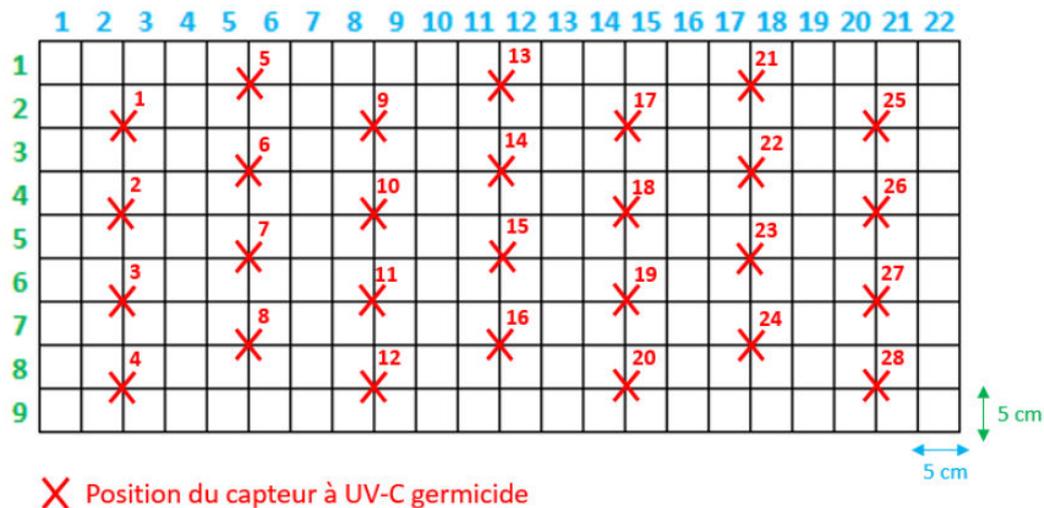


Figure 75 : Schéma du positionnement du capteur à UV-C germicide sur la plateforme de traitement lumineux.

## 5. Résultats

### a. Spectres lumineux des lampes UV-C

Le spectre lumineux des lampes UV-C utilisées a été mesuré avec un spectromètre et est présenté dans la Figure 76. Un pic étroit, caractéristique de ce rayonnement, est observé à 254 nm. On remarque également quelques autres rayonnements lumineux de types UV-A (de 320 à 400 nm) et UV-B (de 280 à 320 nm) mais de faible intensité par rapport à l'intensité du pic mesuré à 254 nm.

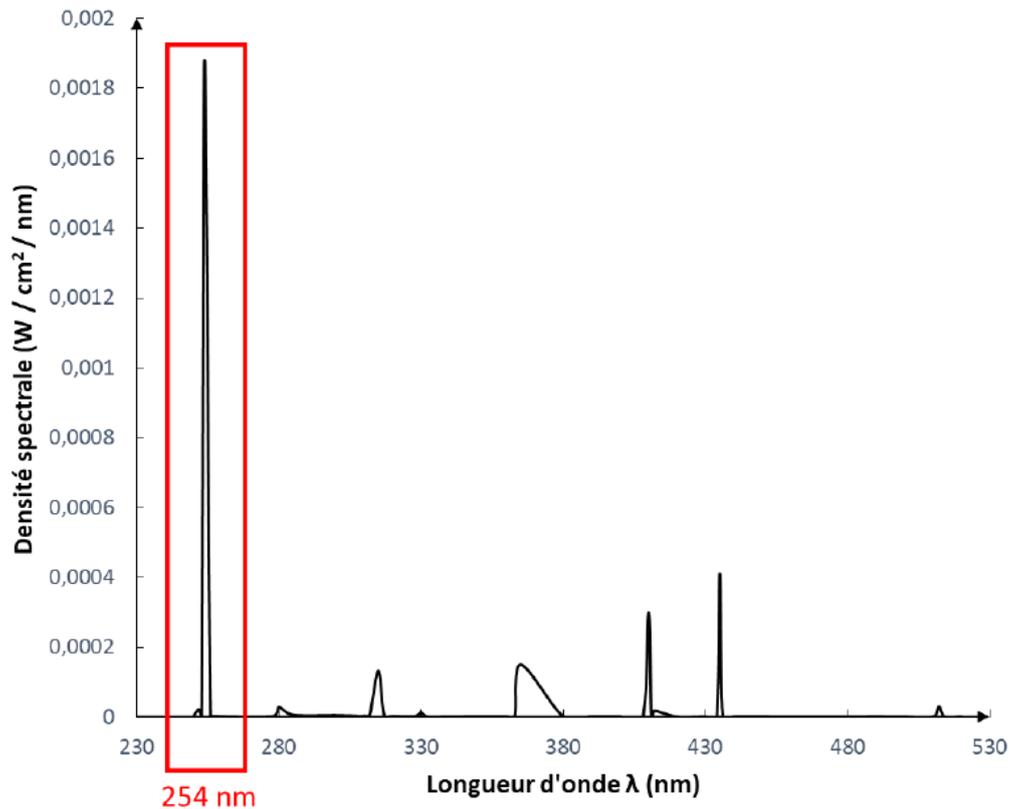


Figure 76 : Spectre lumineux des lampes UV-C utilisées.

*b. Homogénéité du rayonnement UV-C à l'intérieur de l'enceinte*

La distribution du rayonnement UV-C reçu au niveau de la surface de l'enceinte a montré que l'environnement lumineux n'est pas complètement homogène sur la plateforme de réception des plantes (Figure 77). En effet, l'intensité lumineuse est maximale au centre de la plateforme de traitement et diminue fortement lorsqu'on s'éloigne de cette zone. Cette cartographie permet donc d'identifier la zone centrale de l'enceinte comme zone où l'intensité des rayonnements UV-C est la plus forte. Dans cette zone, quatre points présentent un niveau d'intensité proche (entre 744 et 944  $\mu W/cm^2$ ). C'est sur ces quatre positions que seront placées les plantes soumises aux rayonnements UV-C.

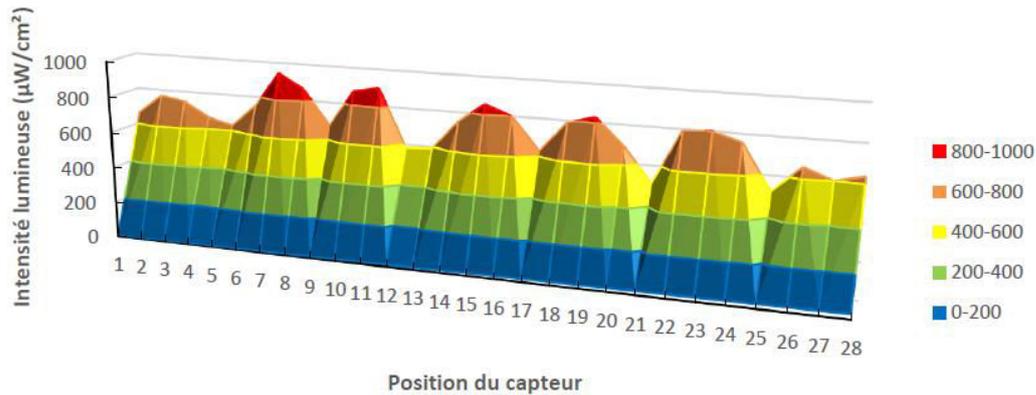


Figure 77 : Intensité lumineuse induite par les lampes UV-C sur les 28 mesures réalisées à l'intérieur de l'enceinte.

*c. Mesure du temps d'exposition des plantes aux rayons UV-C*

Le temps de traitement correspondant à une dose d'UV-C souhaitée est calculé grâce aux mesures effectuées sur la plateforme intérieure de réception des plantes dans l'enceinte. Sur les 28 points de mesures effectuées précédemment (Figure 75), seuls 15 points correspondant aux quatre zones où sont placées les plantes dans l'enceinte, sont conservés (Tableau 7). Plusieurs mesures (en général trois répétitions au minimum) sont réalisées dans chacune des zones. Les données du radiomètre en  $\text{mJ}/\text{cm}^2$  permettent alors de calculer le temps de traitement des plantes.

**Tableau 7 : Intensité lumineuse du plafond lumineux reçue sur la plateforme de l'enceinte UV-C mesurée pendant une minute et correspondance entre  $\mu\text{W}/\text{cm}^2$  et  $\text{mJ}/\text{cm}^2$ .** Le capteur est placé dans l'enceinte sur 15 positions correspondant aux quatre zones où sont placées les plantes.

Position du capteur (selon Figure 9)	Zone de positionnement des plantes	Intensité lumineuse (pendant 1 min)		
		$\mu\text{W}/\text{cm}^2$	$\text{mJ}/\text{cm}^2$	Moyenne +/- ES ( $\text{mJ}/\text{cm}^2$ )
2	1	767	46,200	47,5 +/- 3,2
3	1	744	44,811	
6	1	751	42,132	
7	1	944	56,751	
8	2	863	52,007	50,9 +/- 2,0
10	2	874	52,491	
11	2	899	54,128	
14	2	750	45,081	
15	3	855	51,364	49,1 +/- 0,9
16	3	800	47,912	
18	3	791	47,505	
19	3	828	49,711	
22	4	794	47,790	47,1 +/- 0,9
23	4	802	48,320	
24	4	756	45,248	

Les valeurs de l'intensité lumineuse sont alors moyennées pour les 15 points mesurés. Par exemple dans le cas présenté dans le Tableau 7, la moyenne de l'intensité lumineuse reçue en 1 min de traitement dans l'enceinte est de  $48,82 \pm 1,06 \text{ mJ}/\text{cm}^2$ . Selon les doses d'UV-C souhaitées, le temps nécessaire de traitement correspondant est calculé. Par exemple, pour traiter les plantes avec une dose de  $0,85 \text{ kJ}/\text{m}^2$ , les plantes seront exposées durant 1 min et 44 s aux UV-C dans l'enceinte.

L'intensité maximale des lampes UV-C est vérifiée avant chaque expérimentation pour ajuster le temps de traitement correspondant aux doses UV-C choisies. En effet, les fabricants de lampe garantissent une perte d'intensité lumineuse de 10 % sur les 8000 premières heures d'utilisation des lampes UV-C, mais au-delà le tube devient de plus en plus opaque engendrant des pertes d'intensité potentiellement plus importantes et non linéaires dans le temps. La Figure 78 met en évidence les pertes d'intensité lumineuse constatées au cours de trois campagnes de mesures réalisées dans l'enceinte. Dès la

deuxième campagne de mesures (après environ 20 h de fonctionnement des lampes, de mai à septembre) la perte d'intensité lumineuse est de 2 %. A la troisième campagne de mesures, la perte d'intensité lumineuse est de 15 % pour 40 h de fonctionnement des lampes. Cette perte d'intensité lumineuse est supérieure aux données du constructeur et à l'estimation réalisée suite aux premières mesures (environ 4 % de perte estimée). Il est donc nécessaire de vérifier l'intensité lumineuse avant chaque expérimentation dans le but de délivrer des doses précises sur les plantes.

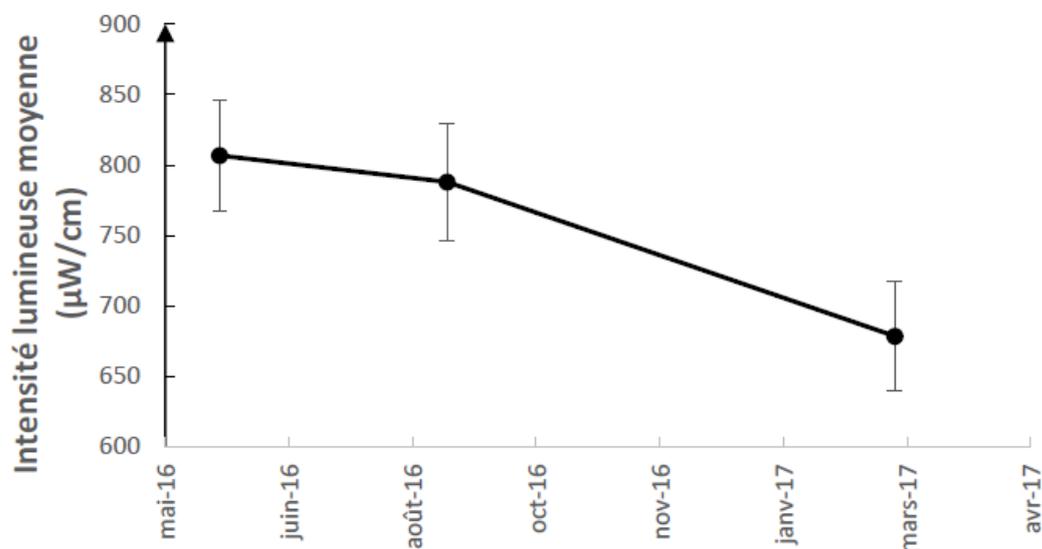


Figure 78 : Perte de l'intensité lumineuse des lampes UV-C au cours du temps. Les mesures sont effectuées sur les 15 points de la zone de traitement UV-C.

## 6. Conclusion et perspectives

L'enceinte construite permet de répondre aux objectifs fixés : traiter simultanément quatre plantes avec des rayonnements UV-C à des doses parfaitement contrôlées, en tenant compte des contraintes de sécurité liées à l'utilisation de tels rayonnements nocifs pour l'Homme. Une sécurité optimale d'utilisation pour l'expérimentateur est obtenue grâce au système de rotation du plafond lumineux. Ce système permet aussi de mesurer précisément la dose d'UV-C à appliquer sur les plantes (en mesurant le temps d'exposition).

Cette enceinte est maintenant opérationnelle et régulièrement utilisée dans le cadre d'une thèse de doctorat (2015-2018) visant à évaluer l'impact des rayonnements UV-C sur la sensibilité du fraisier (*Fragaria x ananassa*) aux deux agents pathogènes majeurs de cette culture, *Botrytis cinerea* et *Podosphaera aphanis*, respectivement responsables de la pourriture grise et de l'oïdium.

Elle a permis :

- ✓ d'évaluer l'impact des UV-C sur le photosystème des plantes et déterminer les doses d'UV-C non délétères pour la plante ;
- ✓ d'évaluer l'impact des traitements UV-C sur le niveau de sensibilité de la plante à des agents pathogènes cryptogamiques foliaires ;
- ✓ d'estimer l'effet de l'application des rayonnements UV-C sur la qualité et le potentiel de conservation des fruits.

Grâce à la plateforme mobile à l'intérieur de l'enceinte UV-C, d'autres plantes cultivées pourront être étudiées dans l'avenir, comme par exemple la tomate ou encore le melon. Ceci permettra de valider l'hypothèse que les espèces végétales ne réagissent pas de la même manière face aux traitements UV-C (Urban *et al.*, 2016). Dans cet objectif précis, il sera nécessaire de trouver des moyens d'améliorer l'homogénéité des rayonnements au niveau de la surface réceptrice, toujours dans le but d'optimiser la qualité des traitements UV-C réalisés sur les plantes.

## 7. Remerciements

Nous souhaitons remercier tout particulièrement Joël Béraud, responsable des installations expérimentales de l'Unité, ainsi que Michel Pascal pour leur aide précieuse dans le suivi des cultures sous serre.