



**HAL**  
open science

**Processus de stabilisation des pesticides dans les sols:  
mécanismes impliqués, caractérisation et  
bio-disponibilité des résidus liés (ou non-extractibles) de  
l'atrazine**

Laurence Loiseau

► **To cite this version:**

Laurence Loiseau. Processus de stabilisation des pesticides dans les sols: mécanismes impliqués, caractérisation et bio-disponibilité des résidus liés (ou non-extractibles) de l'atrazine. Sciences du Vivant [q-bio]. Université Pierre et Marie Curie - Paris 6, 2001. Français. NNT : . tel-02831140

**HAL Id: tel-02831140**

**<https://hal.inrae.fr/tel-02831140>**

Submitted on 7 Jun 2020

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



THÈSE de DOCTORAT de l'UNIVERSITÉ PARIS 6

Spécialité :

SCIENCE DE L'ENVIRONNEMENT

présentée par

**LUDOVIC LOISEAU**

pour obtenir le titre de DOCTEUR de l'UNIVERSITÉ PARIS 6

Sujet de la thèse :

**PROCESSUS DE STABILISATION DES PESTICIDES DANS LES SOLS : MÉCANISMES  
IMPLIQUÉS, CARACTÉRISATION ET BIO-DISPONIBILITÉ DES RÉSIDUS LIÉS (OU  
NON-EXTRACTIBLES) DE L'ATRAZINE**

Soutenue le 28 Septembre 2001

Devant le jury composé de :

André AMBLÈS (Professeur, Université de Poitiers) Rapporteur

Michel SCHIAVON (Professeur, INPL-ENSAIA, Nancy) Rapporteur

Jacques BOULEGUE (Professeur, Université Pierre et Marie Curie, Paris) Examineur

Camille COSTE (Professeur, Université de Perpignan) Examineur

André MARIOTTI (Professeur, Université Pierre et Marie Curie, Paris) Examineur

Enrique BARRIUSO (Directeur de Recherche, INRA, Grignon) Invité

Claude LARGEAU (Professeur, ENSCP, Paris) Invité

## **Avis aux lecteurs**

Le document qui suit est la première partie de ma thèse en version pdf téléchargeable (identique à la version papier exceptée cette page). La deuxième (et dernière!) partie est également téléchargeable à partir de l'adresse suivante :

<http://www.inra.fr/Internet/Departements/EA/index.html> (et/ou <http://www.inra.fr/ea>)

---

## Remerciements

Ce qui ne devrait être qu'une formalité se révèle en fait être une des parties les plus difficile à rédiger. Dois-je respecter le protocole ?, est-ce enfin «texte libre» ?, comment remercier et dans quel ordre pour ne froisser personne ?, ... Autant de questions qui font que le protocole est finalement une voie simple et, si ce n'est acceptée, connue de tous.

Je tiens donc tout d'abord à remercier André Mariotti de m'avoir permis de réaliser cette thèse. Merci à André Amblès et Michel Schiavon d'avoir accepté d'être rapporteurs (avec le travail que cela représente). Jacques Boulegue et Camille Coste ont également fait partie du jury, je les en remercie.

Je remercie également Claude Largeau et Sylvie Derenne qui ont tous deux suivis et soutenus ces travaux. Merci d'avoir participé au comité de pilotage, d'avoir été disponibles, actifs et à l'écoute.

Gérard Bardoux, Yahya Zegouagh, et Marie-France Dignac ont également participé activement à ces travaux. Soyez remerciés pour les remarques, les manips, les conseils, et également les séances de rattrapage sur la spectro!! Un merci un peu plus particulier à Yahya pour les quelques discussions qui n'étaient pas uniquement professionnelles.

Je remercie également toutes les personnes de l'Unité Environnement et Grandes Cultures de l'INRA de Grignon : Véronique Ethiévant qui m'a mis le pied à l'étrier en m'apprenant à manipuler, Valérie Bergheaud pour tous ses conseils techniques, Claudette de Saint Steban qui est toujours partante pour une petite discussion autour d'un café, Christophe Labat pour sa bonne humeur et son aide de bricoleur chevronné, Valérie Pot qui m'a fait découvrir VI, R et surtout les plaisirs de L<sup>A</sup>T<sub>E</sub>X, Yves Coquet pour tout ce qui concerne les statistiques (j'ai pas encore tout compris!), Pierre Vachier bien qu'il continue à chasser, ainsi que Pierre Benoit, Marie-Paule Charnay, Sabine Houot, Serge Bourgeois, Raoul Calvet, Joël Michelin, Simone Poncelet, Jean-Noël Rampon, Hélène Jean-Jacques et Marie-France Rousseau.

---

De nombreux thésards et stagiaires ont également participé au bon déroulement de cette thèse : Cédric Francou qui m'a fabriqué de superbes pares soleils et que j'ai pu admirer simplement en tournant la tête, Philippe Bataillard et Benoit James qui font partie du carré d'As du DEA de l'année mythique 1998, Nathalie Dakhel avec qui j'ai partagé réflexions, ras-le-bol, joies et déboires de paillasses, et moult discussions philo-scientifiques à refaire le monde et à tout critiquer (y compris Mr c'est vite fait !), Caroline Coutadeur qui est la première que j'ai converti à L<sup>A</sup>T<sub>E</sub>X et qui m'a également apporté son aide en stat , Jérôme Nicole, Ismael Madrigal, Christine (ex-Vergé) Leviel, Sylvain Diacre qui a participé aux manip d'adsorption et de désorption, Rémi Castéras et Rémi Baillard qui étaient là en 1998, Rahima Abdelhafid, Alina Loga, et d'autres qui ont fait un séjour au labo . . .

Le bon déroulement de cette thèse est également dû en grande partie au soutien moral et affectif de ma bien aimée Julia qui est toujours présente et qui a supporté et partagé tous les hauts et les bas, de mes parents, de ma soeur Véronique et de mes frères Eric et Patrick (partageant en partie le même patrimoine génétique cette thèse est également la votre !) ainsi que les pièces rapportées (Isabelle, Mireille et Gérard) et de leur progénitures (Victoria, Elisabeth, Jessica, Charles, Richard et Florian). Les amis ont eux aussi comptés pour beaucoup (les personnes citées précédemment peuvent aussi être des amis) : Sophie et Luigi, Phil C, Phil S (qui est le seul à avoir lu la thèse en entier!!! Chapeau!), Michael, Nadège et Carole (merci pour les histoires par mail), Brice, Olivier, Marlène, Sabine, Adeline, Annabelle et Joffrez, Servanne, Sally, Richard, Jan, Bertie, Lucinda, Paul, Sarah, Kirsteen et David, Nina et Tim, Richard et Grace, et tant d'autres qui, de près ou de loin, m'ont permis d'évacuer le stress, de parler des soucis et du déroulement de ces trois ans, et m'ont permis de me sentir soutenu et entouré.

Enfin, je remercie tout particulièrement le pilier de ces travaux qui m'a tant appris et qui a su me faire confiance : Mr Vite Fait (plus connu sous le nom d'Enrique Barriuso). Un grand merci à toi!

---

Note pour ceux qui veulent se procurer un exemplaire du présent document :

- contacter Enrique Barriuso : [barriuso@grignon.inra.fr](mailto:barriuso@grignon.inra.fr) ;
- contacter Ludovic Loiseau : [ludovic.loiseau2@libertysurf.fr](mailto:ludovic.loiseau2@libertysurf.fr) ;
- consulter (et télécharger en format .pdf) à partir de :

[http ://www.inra.fr/Internet/Departements/EA/index.html](http://www.inra.fr/Internet/Departements/EA/index.html)

# Table des matières

<b>ABRÉVIATIONS</b>	<b>16</b>
<b>INTRODUCTION GÉNÉRALE</b>	<b>18</b>
<b>1 Dissipation de l'atrazine dans les sols</b>	<b>22</b>
1.1 Introduction . . . . .	22
1.2 Matériels et méthodes . . . . .	25
1.2.1 Sols . . . . .	25
1.2.2 Atrazine . . . . .	26
1.2.3 Incubations des sols . . . . .	26
1.2.4 Extraction à l'eau et au méthanol . . . . .	27
1.2.5 Analyses . . . . .	27
1.3 Résultats . . . . .	29
1.3.1 Distribution des résidus $^{14}\text{C}$ totaux après incubation . . . . .	29
1.3.2 Caractérisation des résidus extractibles à l'eau . . . . .	31
1.3.3 Caractérisation des résidus extractibles au méthanol . . . . .	35
1.4 Discussion . . . . .	38
1.5 Conclusion . . . . .	39
<b>2 Rétention de l'atrazine et de ses principaux métabolites dans les sols</b>	<b>41</b>

---

2.1	Introduction . . . . .	41
2.2	Matériels et méthodes . . . . .	45
2.2.1	Atrazine et Métabolites . . . . .	45
2.2.2	Adsorption . . . . .	46
2.2.3	Désorption . . . . .	47
2.3	Résultats et discussion . . . . .	49
2.3.1	Caractérisation de l'adsorption . . . . .	49
2.3.2	Caractérisation de la désorption . . . . .	52
2.3.3	Effet du vieillissement sur la désorption de la DEA, de l'ATR et de l'HO-ATR . . . . .	62
2.4	Conclusion . . . . .	70
<b>3</b>	<b>Stabilisation de l'atrazine : caractérisation des résidus liés formés et mécanismes impliqués dans leur formation</b>	<b>72</b>
3.1	Introduction . . . . .	72
3.2	Matériels et méthodes . . . . .	75
3.2.1	Fractionnement granulométrique . . . . .	75
3.2.2	Extractions alcalines . . . . .	77
3.2.3	Traitement à l'acide fluorhydrique (HF) des humines < 20 $\mu\text{m}$ . . . . .	77
3.2.4	Hydrolyse acide des (humines) <sub>HF</sub> . . . . .	78
3.2.5	Concentration des extraits acides et basiques pour l'analyse HPLC . . . . .	78
3.2.6	Dialyse des acides fulviques et des acides humiques non-retenus «NR» . . . . .	79
3.2.7	Contrôle des artéfacts . . . . .	80
3.3	Résultats . . . . .	81
3.3.1	Distribution du carbone organique et des résidus liés $^{14}\text{C}$ dans les fractions granulométriques . . . . .	81



3.3.2	Carbone et résidus liés $^{14}\text{C}$ solubilisés par les traitements chimiques sur les fractions $< 20\mu\text{m}$ . . . . .	85
3.3.3	Caractérisation des résidus liés $^{14}\text{C}$ solubilisés . . . . .	88
3.4	Discussion . . . . .	92
3.4.1	Evolution de la distribution des résidus liés au sein des fractions granulométriques . . . . .	92
3.4.2	Relation entre l'activité spécifique microbienne minéralisatrice du noyau triazinique et la formation des résidus liés . . . . .	93
3.4.3	Influence du pH sur la formation des résidus liés . . . . .	94
3.4.4	Influence de la teneur en carbone sur la formation des résidus liés . . . . .	95
3.4.5	Informations sur les mécanismes de formation des résidus liés . . . . .	95
3.4.6	Influence du temps d'incubation sur la distribution et la nature des résidus stabilisés au sein des fractions chimiques . . . . .	97
3.5	Conclusion . . . . .	98
<b>4</b>	<b>Evaluation des techniques pyrolytiques et du marquage <math>^{13}\text{C}</math> pour l'étude des résidus liés</b> . . . . .	<b>100</b>
4.1	Introduction . . . . .	100
4.2	Matériels et méthodes . . . . .	102
4.2.1	Essais préliminaires en vue de l'utilisation de la pyrolyse «off-line» pour l'identification des résidus d'atrazine $^{14}\text{C}$ . . . . .	102
4.2.2	Pyrolyse flash au point de Curie couplée à la chromatographie en phase gazeuse et à la spectrométrie de masse à rapport isotopique (Py-GC-C-SIRMS), ou à la chromatographie en phase gazeuse et à la spectrométrie de masse (Py-GC-MS) . . . . .	104

4.2.3	Obtention des fractions contenant des résidus liés $^{13}\text{C}$ (et $^{14}\text{C}$ ) d'atrazine pour la Py-GC-C-SIRMS et la Py-GC-MS . . . . .	105
4.3	Résultats . . . . .	107
4.3.1	Faisabilité de l'utilisation de la pyrolyse «off-line» pour l'étude des résidus liés d'atrazine . . . . .	107
4.3.2	Faisabilité de l'utilisation de la Py-GC-C-IRMS et de la Py-GC-MS . . . . .	110
4.3.3	Distribution des résidus $^{14}\text{C}$ et $^{13}\text{C}$ totaux après 226 jours d'incubation . . . . .	115
4.3.4	Utilisation de la Py-GC-C-SIRMS pour la caractérisation des résidus liés d'atrazine $^{13}\text{C}$ . . . . .	115
4.4	Discussion . . . . .	118
4.4.1	Utilisation de la pyrolyse «off-line» pour l'étude des résidus liés d'atrazine . . . . .	118
4.4.2	Caractérisation des résidus liés d'atrazine par Py-GC-C-SIRMS et Py-GC-MS . . . . .	120
4.5	Conclusion . . . . .	121
<b>5</b>	<b>Evaluation de la bio-disponibilité des résidus liés d'atrazine vis-à-vis de la microflore du sol</b> . . . . .	<b>123</b>
5.1	Introduction . . . . .	123
5.2	Matériels et méthodes . . . . .	125
5.2.1	Incubation des résidus liés associés aux fractions granulométriques et chimiques obtenues après 55 jours d'incubation . . . . .	125
5.2.2	Extraction des fractions granulométriques et chimiques . . . . .	126
5.3	Résultats . . . . .	127
5.3.1	Bio-disponibilité pour les micro-organismes des résidus liés d'atrazine associées aux fractions granulométriques et chimiques . . . . .	127

---

5.3.2	Influence des mécanismes de stabilisation sur la bio-disponibilité des résidus liés d'atrazine . . . . .	130
5.4	Discussion . . . . .	133
5.5	Conclusion . . . . .	135
<b>CONCLUSIONS GÉNÉRALES</b>		<b>137</b>
<b>Bibliographie</b>		<b>143</b>
<b>A Test de comparaison de deux droites de régression (Aivazian, 1970)</b>		<b>159</b>
A.1	Test des variances . . . . .	160
A.2	Cas de variances homogènes . . . . .	160
A.2.1	Test de l'homogénéité des pentes des droites de régression . . . . .	160
A.2.2	Test de l'homogénéité des ordonnées à l'origine des droites de régression .	161
A.3	Cas de variances non homogènes . . . . .	162
A.3.1	Test de l'homogénéité des pentes des droites de régression . . . . .	163
A.3.2	Test de l'homogénéité des ordonnées à l'origine des droites de régression .	163
<b>B Cinétiques d'hydrolyses de l'atrazine dans NaOH 0.1 M et HF 2.5 %</b>		<b>165</b>
<b>C Mise au point de la récupération du <math>^{14}\text{C}</math> lors des concentrations sur cartouches ENV+</b>		<b>168</b>

# Table des figures

1	<i>Devenir des pesticides dans les sols, modèle schématisé d'interprétation de l'évolution de l'état des pesticides et de la formation des résidus non-extractibles (ou résidus liés) (Barriuso et al., 1996)</i> . . . . .	19
1.1	<i>Voies de dégradation de l'atrazine dans les sols (d'après Kruger et al., 1993)</i> . . .	24
1.2	<i>Cinétiques de minéralisation de la <sup>14</sup>C-atrazine pour les quatre sols (trois répétitions (points) et moyennes (lignes en pointillés))</i> . . . . .	30
1.3	<i>Caractérisation des résidus extractibles à l'eau par HPLC pour les quatre sols et les trois dates (moyennes des trois répétitions)</i> . . . . .	31
1.4	<i>Chromatogrammes <sup>14</sup>C caractéristiques des extraits aqueux pour les quatre sols après 55 jours d'incubation</i> . . . . .	34
1.5	<i>Caractérisation des résidus extractibles au méthanol par HPLC pour les quatre sols et les trois dates (moyenne des trois répétitions)</i> . . . . .	35
1.6	<i>Chromatogrammes <sup>14</sup>C caractéristiques des extraits méthanoliques pour les quatre sols après 55 jours d'incubation</i> . . . . .	37
2.1	<i>Isothermes d'adsorption de la dééthyl-atrazine (DEA), de l'atrazine (ATR) et de l'hydroxy-atrazine (HO-ATR) pour les quatres sols étudiés</i> . . . . .	49
2.2	<i>Quantités cumulées désorbées au cours des désorptions successives pour les quatre sols (exemple de l'atrazine)</i> . . . . .	53

2.3	<i>Isothermes de désorption de la dééthyl-atrazine (DEA), de l'atrazine (ATR) et de l'hydroxy-atrazine (HO-ATR) pour les quatre sols et les cinq solutions initiales . . .</i>	55
2.4	<i>Comparaison des isothermes de désorptions modélisées selon le formalisme de Freundlich et selon le formalisme de «Freundlich modifié» (exemple de l'atrazine pour les sols MG8 et MS5) . . . . .</i>	56
2.5	<i>Schéma hypothétique de la DEA, de l'ATR et de l'HO-ATR adsorbée sur des sites à caractère hydrophiles et/ou hydrophobes . . . . .</i>	61
2.6	<i>Evolution des quantités de DEA, d'ATR, et d'HO-ATR désorbées au cours du temps</i>	62
2.7	<i>Isothermes de désorption de la DEA, de l'ATR, et de l'HO-ATR après 55, 226, et 400 jours d'incubation pour les quatre sols (les lignes représentent les isothermes obtenues sans incubation, et les points représentent les isothermes après incubation (trois répétitions)) . . . . .</i>	64
2.8	<i>Evolution des paramètres <math>K_{f_{des}}</math>, <math>n_{f_{des}}</math> et <math>Q</math> des isothermes de désorption de la DEA, de l'ATR et de l'HO-ATR au cours du temps . . . . .</i>	65
2.9	<i>Comparaison des valeurs des quantités non-désorbables (<math>Q</math>) calculées à partir les isothermes de désorption après incubation par rapport aux valeurs de <math>Q</math> mesurées pour la DEA, l'ATR et l'HO-ATR dans les quatre sols . . . . .</i>	66
2.10	<i>Relation entre le coefficient de partage calculé à partir de la première désorption et la concentration mesurée à l'équilibre (<math>K_{d\ 24h} = f(C_{e\ 24h})</math>) pour les trois molécules et les quatre sols non-incubés . . . . .</i>	68
2.11	<i>Comparaison des <math>K_{d\ 24h}</math> théoriques (calculées à partir de la première désorption) et des <math>K_{d\ 24h}</math> après incubation pour l'HO-ATR dans le sol MV6 aux trois dates . . .</i>	69
3.1	<i>Protocole expérimental de fractionnement, et dénomination des fractions obtenues</i>	76
3.2	<i>Protocole de concentration sur cartouche ENV+ et dénomination des fractions obtenues . . . . .</i>	79

3.3	<i>Facteurs d'enrichissement en carbone et en résidus liés pour les fractions granulométriques des quatre sols . . . . .</i>	84
3.4	<i>Distribution du carbone dans les fractions chimiques obtenues pour les quatre sols après 55 jours d'incubation . . . . .</i>	85
3.5	<i>Evolution de la distribution des résidus liés <math>^{14}\text{C}</math> dans les fractions chimiques obtenues pour les quatre sols aux trois dates . . . . .</i>	86
3.6	<i>Relation entre les résidus liés solubilisés et le carbone organique solubilisé par le fractionnement chimique . . . . .</i>	87
3.7	<i>Caractérisation des résidus liés <math>^{14}\text{C}</math> solubilisés associés aux fractions <math>&lt; 20 \mu\text{m}</math> pour les quatre sols aux trois dates d'incubation (moyenne des trois répétitions) . . . . .</i>	91
4.1	<i>Schéma du montage réalisé pour la pyrolyse «off-line» . . . . .</i>	103
4.2	<i>Spectre de masse de l'atrazine <math>^{13}\text{C}</math> obtenu par ionisation par impact électronique . . . . .</i>	112
4.3	<i>Spectre de masse de l'hydroxy-atrazine <math>^{13}\text{C}</math> obtenu par ionisation par impact électronique . . . . .</i>	113
4.4	<i>Pyrochromatogrammes des fractions granulométriques et chimiques «dopées» avec de la <math>^{13}\text{C}</math>-atrazine . . . . .</i>	114
4.5	<i>Pyrochromatogrammes des fractions <math>\text{MOF} &gt; 50 \mu\text{m}</math> contenant des résidus liés de <math>^{13}\text{C}</math>-atrazine obtenus après incubation des sols traités avec de la <math>^{13}\text{C}</math>-atrazine . . . . .</i>	116
4.6	<i>Pyrochromatogrammes des fractions <math>&lt; 20 \mu\text{m}</math> contenant des résidus liés de <math>^{13}\text{C}</math>-atrazine obtenus après incubation des sols traités avec de la <math>^{13}\text{C}</math>-atrazine . . . . .</i>	117
5.1	<i>Cinétiques de minéralisation des résidus liés associés aux fractions granulométriques et chimiques . . . . .</i>	129

5.2	<i>Résultats de la ré-incubation des résidus liés, comparaison à leur extractibilité avant ré-incubation et comparaison avec leur caractérisation (Hum.=Humine, Hum.ap.HF=(Humine)<sub>ap</sub> Hum.HF=(Humine)<sub>HF</sub> et Hum.Réf.=Humine réfractaire)</i> . . . . .	132
5.3	<i>Schéma des principales voies de dissipation de l'atrazine en fonction de la capacité de la microflore à dégrader l'atrazine et des caractéristiques physico-chimiques du sol</i> . . . . .	138
5.4	<i>Formation des résidus liés d'atrazine pour les quatre sols : (i) % total de résidus liés formés, (ii) répartition des résidus liés totaux au sein des fractions granulométriques, (iii) caractérisation des résidus liés associés aux fractions &lt; 20 μm et (iv) regroupement des résidus liés caractérisés par type de mécanismes supposés impliqués dans leur formation</i> . . . . .	140
B.1	<i>Cinétiques d'hydrolyse de l'atrazine dans NaOH 0.1 M et HF 2.5 % à température ambiante ≈ 20 ° C (moyenne de deux répétitions)</i> . . . . .	166

# Liste des tableaux

1.1	<i>Principales caractéristiques des quatre sols utilisés.</i> . . . . .	25
1.2	<i>Gradient d'éluion utilisé pour les analyses HPLC</i> . . . . .	29
1.3	<i>Evolution de la distribution de la radioactivité provenant de la <sup>14</sup>C-atrazine entre les fractions minéralisée, extractible à l'eau et au méthanol, et les résidus liés pour les quatre sols (moyenne des trois répétitions et écarts-types)</i> . . . . .	29
1.4	<i>Caractérisation des résidus extractibles à l'eau pour les quatre sols et les trois dates (moyenne des trois répétitions et écarts-types)</i> . . . . .	33
1.5	<i>Caractérisation des résidus extractibles au méthanol pour les quatre sols et les trois dates (moyenne des trois répétitions et écarts-types)</i> . . . . .	36
2.1	<i>Valeurs des coefficients d'adsorption de Freundlich (<math>K_{fa}</math> et <math>n_{fa}</math>), des <math>K_d</math> et des <math>K_{oc}</math> obtenues pour les isothermes d'adsorption de la DEA, de l'ATR, et de l'HO-ATR</i>	50
2.2	<i>Quantités et pourcentages (relatifs aux quantités adsorbées) de dééthyl-atrazine, d'atrazine et d'hydroxy-atrazine adsorbées pour les quatre sols étudiés (moyenne des trois répétitions et écarts-types)</i> . . . . .	51
2.3	<i>Quantités de dééthyl-atrazine, d'atrazine, et d'hydroxy-atrazine désorbées pour les quatre sols et les cinq solutions initiales de concentrations différentes</i> . . . . .	54



2.4	<i>Paramètres de l'équation de Freundlich modifiée (équation 2.3) utilisée pour modéliser les isothermes de désorption pour les trois molécules, les quatre sols et les cinq solutions de concentrations différentes (valeurs moyennes et écarts-types) . . .</i>	57
2.5	<i>Evolution des quantités et des pourcentages des quantités totales initialement adsorbées de DEA, d'ATR, et d'HO-ATR non-désorbables au cours du temps (moyenne des trois répétitions et écarts-types) . . . . .</i>	67
3.1	<i>Distribution pondérale et teneur en carbone des fractions granulométriques après 55 jours d'incubation (moyenne des trois répétitions et écarts-types) . . . . .</i>	81
3.2	<i>Evolution de la distribution des résidus liés <math>^{14}C</math> au sein des fractions granulométriques des quatre sols (moyenne des trois répétitions et écarts-types) . . . . .</i>	82
3.3	<i>Caractérisation des résidus liés <math>^{14}C</math> solubilisés associés aux fractions <math>&lt; 20 \mu m</math> pour les trois dates (moyenne des trois répétitions et écarts-types) . . . . .</i>	88
4.1	<i>Résultats des tests préliminaires de la pyrolyse «off-line» (échantillons «dopés» en <math>^{13}C</math>-atrazine) . . . . .</i>	108
4.2	<i>Résultats de la pyrolyse «off-line» de résidus liés d'atrazine . . . . .</i>	109
4.3	<i>Distribution des résidus liés <math>^{14}C</math> (et <math>^{13}C</math>) au sein des fractions granulométriques des sols traités à une dose de <math>20 mg_{atrazine}.kg_{sol}^{-1}</math> (moyennes des trois répétitions et écarts-types) . . . . .</i>	115
5.1	<i>Rapport fraction/sol utilisé pour l'incubation des résidus liés d'atrazine associés aux fractions granulométriques et chimiques obtenues après 55 jours d'incubation</i>	125
5.2	<i>Rapport fraction/extractant utilisé pour les extractions aqueuses et méthanoliques des résidus liés associés aux fractions granulométriques et chimiques obtenues après 55 jours d'incubation . . . . .</i>	127

---

5.3	<i>Extractibilité et taux de minéralisation des résidus liés associés aux différentes fractions granulométriques et chimiques obtenues après 55 jours d'incubation, et ré-incubés dans le sol MG8</i>	128
B.1	<i>Evaluation des modifications induites sur les taux de récupération et la nature chimique de la <math>^{14}\text{C}</math>-atrazine lors des différents traitements chimiques utilisés (<math>\text{NaOH}/\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7</math> 0.1 M, HF 2.5 %, HCl 2 M en conditions de reflux) en présence des fractions solides des quatre sol</i>	167
C.1	<i>Rendement de récupération du <math>^{14}\text{C}</math> lors de la concentration sur cartouche ENV+ pour une solution de pH basique ou acide</i>	169
C.2	<i>Modification du rendement de récupération du <math>^{14}\text{C}</math> après passage de NaOH 0.1 M dans les cartouches ENV+</i>	170

# Liste des abréviations utilisées dans le texte

DEDIA = dééthyl-déisopropyl-atrazine

DIA = déisopropyl-atrazine

DEA = dééthyl-atrazine

ATR = atrazine

HO-DEDIA = hydroxy-dééthyl-déisopropyl-atrazine

HO-DIA = hydroxy-déisopropyl-atrazine

HO-DEA = hydroxy-dééthyl-atrazine

HO-ATR = hydroxy-atrazine

Déalkylés = DEDIA + DIA + DEA

Evaporés = perdu par évaporation lors de la préparation des échantillons pour l'analyse HPLC

Hydroxylés = HO-DEDIA, HO-DIA, HO-DEA, HO-ATR

Liés chimiquement = composés solubilisés avec les AH et non-dialysables à 5000 Da, et composés solubilisés par hydrolyse acide

N.I. = composés récupérés dans les extraits aqueux et méthanoliques, chromatographiés par HPLC mais non-identifiés

N.I.«Libres» = composés solubilisés avec les AF, AH, extraits HF et hydrolysats, chromatographiés par HPLC mais non-identifiés ou non-chromatographiés mais dialysables à 1000 Da

Piégés physiquement = composés solubilisés lors des extractions alcalines et du traitement HF, chromatographiés ou dialysable à 1000 Da

MG8 = sol Maïs Grignon pH=8

WG8 = sol blé (Wheat) Grignon pH=8

MV6 = sol Maïs Versailles pH=6

MS5 = sol Maïs Salinis pH=5

C.I. = Carbone Inorganique

C.O. = Carbone Organique

E.L. = Energie de liaison

HPLC = High Pressure Liquid Chromatography (Chromatographie Liquide Haute Pression)

$K_d$  = coefficient de partage sol/solution (en  $l.kg^{-1}$ )

$K_{OW}$  = coefficient de partage octanol/eau

MOS = matière organique du sol

Py-GC-MS = Pyrolysis-Gas Chromatography-Mass Spectrometry

Py-GC-C-SIRMS = Pyrolysis-Gas Chromatography-Combustion-Stable Isotopic Ratio Mass Spectrometry

# Introduction Générale

Les activités agricoles ont depuis toujours été confrontées à des pertes de récoltes ou des diminutions de rendements du fait de la compétition des adventices (ou «mauvaises herbes»), d'attaques d'insectes et/ou du développement de maladies fongiques. L'essor de la chimie a permis la synthèse de molécules permettant de lutter efficacement contre ces «fléaux» : les produits phyto-sanitaires, ou pesticides. Leur utilisation s'est vue surmultipliée avec le développement de l'agriculture intensive. On estime actuellement à 2.5 millions de tonnes les quantités de pesticides utilisées annuellement dans le monde : 50 à 60 % des pesticides utilisés sont des herbicides, 20 à 30 % des insecticides et 10 à 20 % des fongicides (Pimentel, 1995).

L'utilisation de pesticides qui sont des substances biocides pose le problème de leur devenir dans l'environnement : contamination des ressources en eau, de l'air et du sol, contamination ou présence dans les denrées alimentaires, toxicité sur des organismes non-cibles. Biradar et Rayburn (1995) ont mis en évidence un effet néfaste de l'atrazine présente à une concentration égale à la concentration maximale recommandée dans les végétaux pour la consommation humaine par l'USEPA (United States Environmental Protection Agency) sur des chromosomes de hamsters. Plusieurs études indiquent des effets toxiques des pesticides et d'autres polluants (PCB, HAP, . . .) à des niveaux de concentrations qui sont comparables à ceux mesurés dans l'environnement (Jacobson *et al.*, 1996 ; Carpenter, 1998 ; Waliszewski *et al.*, 1999). Le sol se trouve souvent être le réceptacle des pesticides utilisés. Leur comportement dans les sols conditionne leurs impacts sur d'autres compartiments de l'environnement, et il apparaît donc nécessaire d'étudier le devenir

de ces composés dans les sols afin de mieux en mesurer l'impact environnemental.

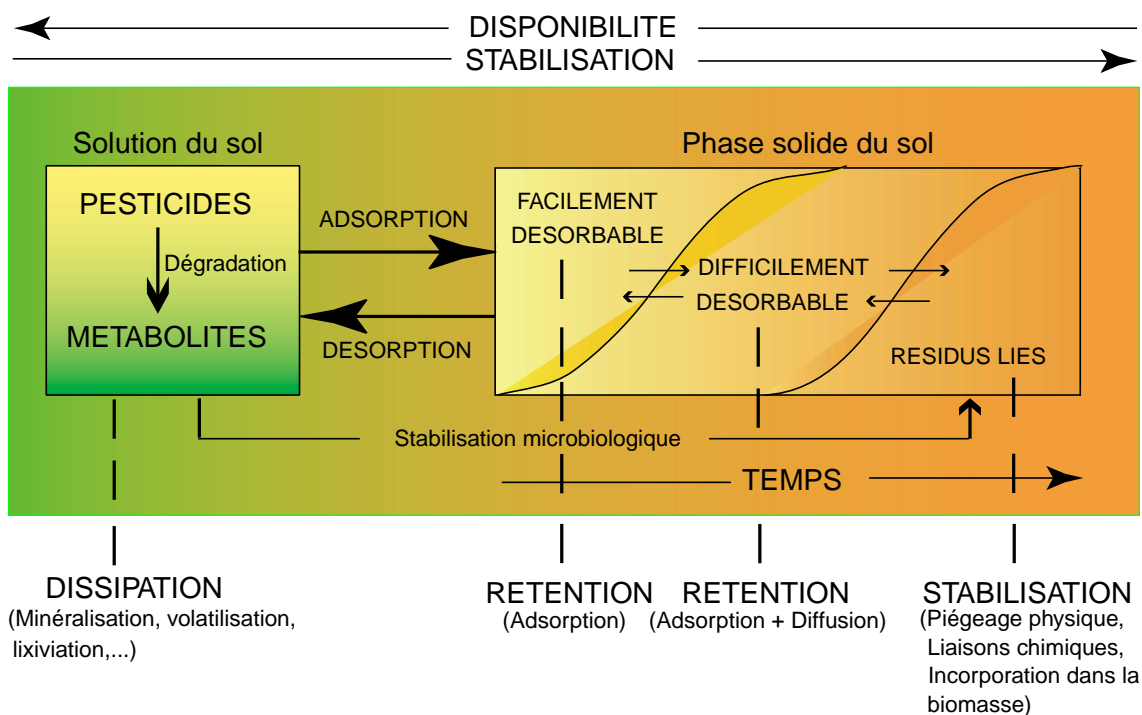


FIG. 1 – *Devenir des pesticides dans les sols, modèle schématisé d'interprétation de l'évolution de l'état des pesticides et de la formation des résidus non-extractibles (ou résidus liés)* (Barriuso et al., 1996)

De manière générale, la première étape régissant le devenir d'un pesticide après son arrivée au sol est l'adsorption, qui a pour conséquence le partage du produit entre la solution du sol et la phase solide du sol (Figure 1). Les quantités de produits adsorbées et celles présentes dans la solution sont conditionnées par la solubilité dans l'eau de la molécule concernée, et surtout par les caractéristiques de sa rétention par les constituants du sol (Nicholls, 1988 ; Calvet, 1989 ; Yaron, 1989). La dissipation des micro-polluants est liée à leur disponibilité dans le sol, disponibilité qui est elle-même liée à la présence de la molécule dans la solution du sol (Calvet, 1988). Cette disponibilité dans le sol régit d'une part l'efficacité de la molécule en tant que substance phytosanitaire, mais aussi sa possible dégradation par les micro-organismes du sol, et son possible transfert vers les eaux de surfaces et souterraines qui est à l'origine de contamination.

Les mécanismes physico-chimiques responsables de la rétention du polluant sur les consti-

tuants du sol débutent, comme mentionné précédemment, par l'adsorption, qui est un phénomène réversible (désorption). Les interactions mises en jeu peuvent évoluer dans le temps vers des interactions moins réversibles, les micro-polluants initialement facilement désorbables deviennent difficilement désorbables et voient leur extractibilité diminuée (Figure 1). Enfin, cette évolution des interactions responsables de la rétention culmine avec la formation de résidus non-extractibles, appelés «résidus liés», qui peuvent être considérés comme des résidus stabilisés. Cette stabilisation est souvent considérée comme un processus de dissipation contribuant à l'élimination du polluant, ou à la détoxification du sol pollué (Dec *et al.*, 1990). En effet, la mobilité du polluant stabilisé est fortement diminuée, entraînant alors une baisse de sa biodisponibilité et, pour les pesticides tout au moins, de son activité biologique (Barriuso et Koskinen, 1996 ; Dec *et al.*, 1997). Cependant, leur biodégradation s'en voit tout autant limitée (Calderbank, 1989). La formation de ces résidus liés peut être expliquée par trois principaux mécanismes : (i) la formation de liaisons covalentes entre le produit ou ses produits de dégradation avec les constituants du sol (Hsu et Bartha, 1976) ; (ii) un piégeage physique (ou séquestration) dans les agrégats et la micro-porosité des structures organiques et minérales colloïdales (Schiavon *et al.*, 1977 ; Khan et Ivarson, 1982) ; (iii) l'incorporation dans la biomasse microbienne (Barriuso et Koskinen, 1996).

Les deux premières hypothèses de formation des résidus liés mettent en avant le rôle prépondérant de la matière organique des sols, et il apparaît ainsi nécessaire, pour comprendre le devenir des pesticides dans les sols, d'étudier les dynamiques des matières organiques des sols et des pesticides en parallèle. Cependant, la stabilisation, bien que présentant des avantages à court terme, pose la question du devenir des résidus liés à long terme. S'agit-il d'un mécanisme de dissipation avec modification complète de l'identité chimique de la molécule de départ ? Ou s'agit-il d'un mécanisme de stockage avec préservation de l'identité moléculaire ? Si c'est le cas, peut-il être réversible ?

Les objectifs de ce travail sont : (i) d'étudier les processus intervenant dans la stabilisation

des pesticides ; (ii) de caractériser les résidus stabilisés (ou résidus liés) ; (iii) d'étudier l'influence de la capacité des micro-organismes des sols à dégrader l'atrazine ainsi que l'influence de deux caractéristiques pédologiques des sols (pH et teneur en matière organique) sur la stabilisation des pesticides ; (iv) d'évaluer l'utilisation des techniques pyrolytiques, spectrométriques et du marquage au  $^{13}\text{C}$  pour l'étude des résidus liés ; et (v) d'étudier la bio-disponibilité pour les micro-organismes des résidus liés.

Dans ce cadre général, ce mémoire débute par la présentation des résultats de dissipation de l'atrazine et de formation des résidus liés en conditions contrôlées de laboratoire (Chapitre 1). Nous étudions ensuite le phénomène d'adsorption (et de désorption) qui peut être considéré comme la phase initiale de la stabilisation (Chapitre 2). La caractérisation des résidus liés formés et les mécanismes responsables de la stabilisation sont ensuite présentée et discutés (Chapitre 3). Puis nous présentons l'apport du marquage au  $^{13}\text{C}$  et des techniques pyrolytiques et spectrométriques pour l'étude des résidus liés (Chapitre 4). Enfin, la bio-disponibilité des résidus liés est évaluée par inoculation avec une population microbienne spécifique (Chapitre 5).

L'ensemble de ce travail est réalisé sur de l'atrazine (6-chloro- $\text{N}^2$ éthyl- $\text{N}^4$ isopropyl-1,3,5-triazine-2,4-diamine, ATR) uniformément marquée au  $^{14}\text{C}$  ou au  $^{13}\text{C}$  sur le noyau triazinique. Cette molécule a été choisie comme modèle, avec un intérêt spécifique du fait de son utilisation massive (5000 T/an en France) et des problèmes généralisés de pollution des ressources en eau qu'elle engendre (Dubois de la Sablonière, 2000 ; Gobbo-Butty, 2000 ; Welté et Soffietti, 2000). Il s'agit d'un herbicide systémique inhibiteur de la photosynthèse des plantes C3 qui est utilisé pour les cultures de maïs, sorgho à grains (The pesticide manual, 1994) dont les voies de dégradation de l'atrazine dans les sols sont connues (Kruger *et al.*, 1993 ; Metabolic pathways of agrochemicals, 1998). Cependant, la démarche d'analyse et de caractérisation des processus de stabilisation se veut généralisable à d'autres polluants, et traite de la problématique générale de pollution des sols par des polluants organiques.



# Chapitre 1

## Dissipation de l'atrazine dans les sols

### 1.1 Introduction

Les principales voies de dissipation de l'atrazine dans les sols sont la dégradation (partielle et/ou complète) et la stabilisation sous forme de résidus liés (ou non-extractibles). En effet, plusieurs études au champ et en laboratoire ont montré que la lixiviation de l'atrazine est faible (Schiavon, 1988a et 1988b ; Kruger *et al.*, 1993 ; Dousset, 1994 ; Mbuya *et al.*, 2001). De manière générale, ces résultats montrent que l'atrazine appliquée reste principalement dans les 25 premiers centimètres du sol (de 70 à 90 % des résidus d'atrazine) et que de faibles quantités sont récupérées dans les lixiviats (de 1 à 5 % des résidus d'atrazine). Cependant, ces résultats sont basés sur une application unique et ne tiennent pas compte des effets cumulatifs liés à des applications répétées au champ. En effet, de nombreuses études ont montré la présence d'atrazine et de ses résidus dans les eaux de surfaces, les eaux souterraines et les eaux destinées à la consommation humaine (Liu *et al.*, 1996 ; Kolpin *et al.*, 1998 ; Harman-Fetcho, 1999 ; Dubois de la Sablonière, 2000 ; Welté et Soffietti, 2000 ; Gobbo-Butty, 2000 ; [www.santé.gouv.fr](http://www.santé.gouv.fr)).

La dégradation de l'atrazine dans les sols (Figure 1.1) se fait par : (i) déalkylation qui est le départ du groupement éthyle et/ou isopropyle ; (ii) par hydroxylation qui est le remplacement

du chlore par un groupement hydroxyle ; (iii) puis ouverture du noyau triazinique (Kaufman et Kearney, 1970 ; Kruger *et al.*, 1993 ; Mandelbaum *et al.*, 1993 ; Rouseaux, 2001). La dégradation peut être partielle ou totale, et dans ce dernier cas on parle de minéralisation. L'atrazine a été longtemps considérée comme récalcitrante à la minéralisation (Kaufman et Kearney, 1970). Néanmoins, des études récentes ont mis en évidence que des applications répétées d'atrazine au champ ont pour effet l'adaptation et la croissance d'une communauté microbienne capable de minéraliser le noyau triazinique de l'atrazine très rapidement (plus de 70 % de l'atrazine appliquée peut être minéralisée en deux semaines)(Barriuso et Houot, 1996 ; Pussenier *et al.*, 1997). Cette adaptation et/ou la croissance de la population microbienne adaptée semble toutefois être ralentie et/ou limitée pour les sols à pH acides (Houot *et al.*, 2000). On constate qu'il y a une compétition entre la minéralisation et la formation de résidus liés : l'augmentation de la minéralisation provoque une diminution de la proportion des résidus liés. Cependant, la part des résidus liés par rapport aux résidus non-minéralisés est plus importante dans les sols avec une activité minéralisatrice de l'atrazine importante (Barriuso et Houot, 1996 ; Abdelhafid, 1998 ; Castéras, 98 ; Loiseau, 1998 ; Houot *et al.*, 2000).

Les objectifs de ce chapitre sont de (i) caractériser la dissipation de l'atrazine dans le sol ; (ii) étudier l'effet d'historiques culturaux différents vis-à-vis de l'utilisation de l'atrazine, ainsi que (iii) l'influence de caractéristiques physico-chimiques (pH et teneur en matière organique) contrastées sur la dissipation de l'atrazine. La démarche expérimentale consiste en la mise en incubation en conditions contrôlées de laboratoire de quatre sols traités avec de l'atrazine marquée au  $^{14}\text{C}$  sur le noyau triazinique. Le suivi de la minéralisation est réalisé par le piégeage du  $\text{CO}_2$  produit et la quantification du  $^{14}\text{C-CO}_2$  issue de la minéralisation du noyau triazinique. Parallèlement, des extractions à l'eau et au méthanol permettent de quantifier et de caractériser les résidus d'atrazine extractibles. Enfin, les résidus liés (ou non-extractibles) sont quantifiés.

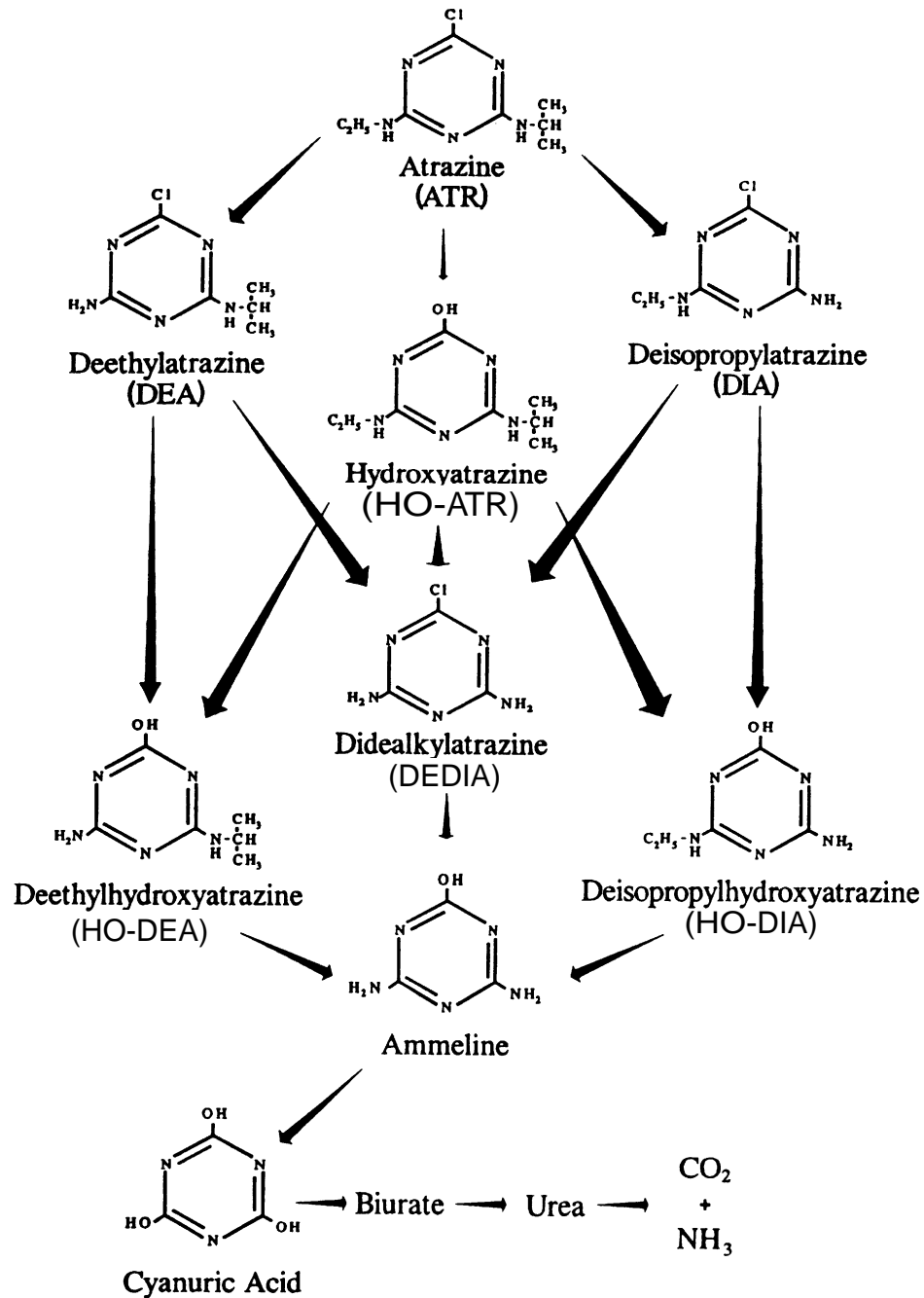


FIG. 1.1 – Voies de dégradation de l'atrazine dans les sols (d'après Kruger et al., 1993)

## 1.2 Matériels et méthodes

### 1.2.1 Sols

Quatre sols ont été utilisés (Tableau 1.1). Ce sont des sols agricoles limono-argileux qui se différencient par leur historique cultural, par leur pH, ou par leur teneur en carbone organique. MG8 et WG8 ont été prélevés dans un même dispositif expérimental (parcelles «TTF») de l'INRA de Grignon (Yvelines). Ces deux sols ont une texture limono-argileuse et un pH alcalin. MG8 est sous monoculture de maïs et reçoit de l'atrazine annuellement depuis 1973. WG8 est sous monoculture de blé depuis 1973 et n'a donc jamais reçu d'atrazine. MV6 provient du dispositif expérimental «Les Clouzeaux» de l'INRA de Versailles (Yvelines). Ce sol a une texture limono-argileuse, un pH acide, et est sous monoculture de maïs sans traitement d'atrazine depuis 1993. Enfin MS5 provient de Salinis (Pyrénées), a une texture limono-argileuse, un pH acide, et est sous monoculture de maïs avec traitement annuel à l'atrazine depuis 1994.

De quatre à six prélèvements de l'horizon 0-20 cm ont été réalisés fin novembre 99 pour chacun des sols. Ces prélèvements ont ensuite été mélangés et séchés à température ambiante avant d'être tamisés à 5 mm. L'humidité résiduelle des sols après tamisage était comprise entre 13 et 25 % (% pondéral rapporté à la masse de sol sec).

TAB. 1.1 – *Principales caractéristiques des quatres sols utilisés.*

Nom	Localisation	Historique	Argiles†	Limons†	Sables† (g.kg <sup>-1</sup> )	CO‡	CaCO <sub>3</sub>	pH (eau)
MG8	Grignon	Maïs traité à l'atrazine depuis 1973	272	587	125	17.1	16	8.1
WG8	Grignon	Blé sans atrazine depuis 1973	269	590	124	19.9	17	8.0
MV6	Versailles	Maïs sans atrazine depuis 1993	168	527	304	12.3	2	6.4
MS5	Salinis	Maïs traité à l'atrazine	253	570	176	45.5	0	5.5

† : granulométrie après décarbonatation

‡ : carbone organique (méthode Anne)

### 1.2.2 Atrazine

De la  $^{14}\text{C}$ -atrazine (6-chloro- $\text{N}^2$ éthyl- $\text{N}^4$ isopropyl-1,3,5-triazine-2,4-diamine, ATR) (Sigma), avec une pureté radiochimique  $> 99\%$  et une activité spécifique de  $7.9 \cdot 10^8 \text{ Bq}\cdot\text{mmol}^{-1}$ , est utilisée. L'atrazine est une molécule de la famille des triazines avec une masse moléculaire de  $215.7 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ . C'est une base faible ( $\text{pK}_a = 1.7$ ), avec un caractère hydrophobe modéré ( $\log K_{OW} = 2.5$  à  $25^\circ \text{C}$ ), une faible solubilité dans l'eau ( $33 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$  à  $20^\circ \text{C}$  et à  $\text{pH} = 7$ ) et il s'agit d'une molécule faiblement volatile (pression de vapeur  $0.039 \text{ mPa}$ )(The pesticide manual, 1994). Une solution aqueuse à  $27.4 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$  ( $62.7 \text{ kBq}\cdot\text{ml}^{-1}$ ) a été préparée pour application sur les quatre sols à incuber.

### 1.2.3 Incubations des sols

L'équivalent de  $50 \text{ g}$  de sols secs (de  $57.5$  à  $66.8 \text{ g}$  de sols frais) et tamisés à  $5 \text{ mm}$  sont placés dans des bocaux en verre hermétiquement fermés.  $1.8 \text{ ml}$  de la solution aqueuse de  $^{14}\text{C}$ -atrazine sont ajoutés aux sols afin d'obtenir une concentration de  $1 \text{ mg}_{\text{atrazine}}\cdot\text{kg}_{\text{sol}}^{-1}$  ( $2.3 \text{ MBq}\cdot\text{kg}^{-1}$ ). De l'eau milliQ (Waters) est ajoutée si nécessaire pour se placer à une humidité équivalente à  $100\%$  de la capacité de rétention. Un pillulier de  $10 \text{ ml}$  d'eau et un contenant  $2 \text{ ml}$  de  $\text{NaOH } 2 \text{ M}$  sont également placés dans les bocaux pour respectivement maintenir une humidité constante et piéger le  $\text{CO}_2$  produit. Les bocaux sont ensuite placés à  $28 \pm 1^\circ \text{C}$  dans l'obscurité pendant  $56$  jours. Les pièges de  $\text{NaOH}$  sont remplacés périodiquement, et le  $^{14}\text{C}\text{-CO}_2$  piégé est mesuré par scintillation en milieu liquide. Trois répétitions sont conduites pour chacun des quatre sols et pour chaque date de prélèvement ( $55$ ,  $226$  et  $400$  jours). Ces conditions d'incubation ont été choisies afin de favoriser l'activité de la micro-flore des sols capable de dégrader l'atrazine.

### 1.2.4 Extraction à l'eau et au méthanol

A la fin de la période d'incubation, les échantillons de sols sont extraits cinq fois avec une solution aqueuse de  $\text{CaCl}_2$   $10^{-2}$  M, puis cinq fois avec du méthanol par retournement à  $20 \pm 2^\circ$  C. Les extraits, après chaque extraction, sont récupérés par centrifugation (centrifugeuse Sorvall RC5B) à 2600 g pendant 20 min (rapport sol/extractant : 1/2 v/v, extractions : 4 \* 24 h et 1 \* 72 h pour l'eau et le méthanol).

La radioactivité des extraits aqueux et méthanol est mesurée par scintillation en milieu liquide, puis ces extraits sont évaporés sous vide à un volume de 0.5 ml approximativement, et 0.5 ml d'une solution méthanolique de dodécyl sulfate de sodium (SDS)  $5 \cdot 10^{-3}$  M, ajustée à un pH de 2.8 avec de l'HCl, y sont ajoutés. Les échantillons sont ensuite filtrés à  $0.45 \mu\text{m}$  (filtre Nalgène nylon) pour être analysés par HPLC. Les résidus non-extractibles (ou résidus liés) présents dans les culots de sol sont quantifiés. Un contrôle des pertes de  $^{14}\text{C}$  lors des évaporations est systématiquement réalisé par comptage du  $^{14}\text{C}$  contenu dans le ballon de récupération des condensats de l'évaporateur.

### 1.2.5 Analyses

La radioactivité des échantillons liquides est mesurée par scintillation en milieu liquide (compteur Betamatic Kontron Instruments BETAMATIC V), avec correction du quenching par standard externe et de l'Ultima Gold XR Packard comme liquide scintillant.

La radioactivité des échantillons solides est mesurée par scintillation en milieu liquide du  $^{14}\text{C}$ - $\text{CO}_2$  récupéré après combustion à l'aide d'un Sample Oxidizer Packard Model 307, utilisant du Carbosorb (Packard) comme piège à  $\text{CO}_2$  et du Permafluor (Packard) comme liquide scintillant. Trois répétitions sont analysées pour chaque échantillon.

Le carbone total (CT) et le carbone inorganique (CI) des échantillons solides, sont déterminés après combustion des échantillons dans un analyseur de carbone organique total (TOC-5050A,

Shimadzu) couplé à un module de combustion d'échantillons solides (SSM-5000A, Shimadzu). Le carbone organique total résulte de la différence entre CT et CI. Trois répétitions sont analysées pour chaque échantillon. Les analyses de carbone ont été réalisées uniquement après 55 jours d'incubation. L'hypothèse étant faite que la variation des teneurs en carbone entre 55, 226 et 400 jours d'incubation est négligeable.

Tous les échantillons liquides obtenus après concentration et/ou évaporation sont analysés par Chromatographie Liquide Haute Pression (CLHP, ou HPLC). L'atrazine et ses métabolites étant des bases faibles, la technique utilisée est une chromatographie par paires d'ions. La chaîne HPLC est constituée d'un passeur automatique (Autosampler Waters 717), d'un système de pompage et de contrôle de gradient (System controller Waters 600E), d'un détecteur à barrette de diodes (Waters 996) couplé en ligne avec un détecteur de radioactivité en flux continu (Radiomatic Flo-one Series A-500 Packard) utilisant du Packard Ultima Flo AP comme liquide scintillant à un débit de  $3 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ . Une colonne Waters Nova-Pak C18 ( $60 \text{ \AA}$ ,  $4 \mu\text{m}$ ,  $4.6 \times 250 \text{ mm}$ ) est utilisée. La phase mobile utilisée consiste en un gradient d'une solution aqueuse de dodécyl sulfate de sodium  $5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$  ajustée à  $\text{pH} = 2.8$  par de l'HCl (Solvant A), et d'une solution eau/méthanol 10/90 de dodécyl sulfate de sodium  $5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$  ajustée à  $\text{pH} = 2.8$  par de l'HCl (Solvant B). Le gradient utilisé est indiqué sur le tableau 1.2 et le débit utilisé est de  $1 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ . Les étalons utilisés (DEDIA, DIA, DEA, ATR, HO-DEDIA, HO-DIA, HO-DEA, HO-ATR) proviennent de chez C.I.L. Cluzeaux (qualité standard analytique). Pour la suite du document, on définit les dérivés «déalkylés» comme étant la somme DEDIA+DIA+DEA, et les dérivés «hydroxylés» comme étant la somme HO-DEDIA+HO-DIA+HO-DEA+HO-ATR. Certains composés analysés par HPLC ne sont identifiés et sont notés N.I.

TAB. 1.2 – Gradient d'éluion utilisé pour les analyses HPLC

Solvant	Temps d'éluion (min)				
	0	1	8	12	30
A : eau, SDS† 5.10 <sup>-3</sup> M, pH = 2.8	100	62	60	40	0
B : eau/méthanol 10/90, SDS† 5.10 <sup>-3</sup> M, pH = 2.8	0	38	40	60	100

† : dodécyl sulfate de sodium

## 1.3 Résultats

### 1.3.1 Distribution des résidus <sup>14</sup>C totaux après incubation

Après 400 jours d'incubation, 85.8, 37.0, 30.7, 68.2 % de l'atrazine appliquée ont été minéralisés pour les sols MG8, WG8, MV6, et MS5, respectivement (Tableau 1.3).

TAB. 1.3 – Evolution de la distribution de la radioactivité provenant de la <sup>14</sup>C-atrazine entre les fractions minéralisée, extractible à l'eau et au méthanol, et les résidus liés pour les quatre sols (moyenne des trois répétitions et écarts-types)

		MG8	WG8	MV6	MS5
		(% du <sup>14</sup> C-appliqué)			
55 jours	Minéralisation	83.8 ± 0.9	17.7 ± 4.8	10.4 ± 1.1	46.7 ± 1.4
	Extractibles à l'eau	2.1 ± 0.2	28.8 ± 2.3	31.3 ± 1.3	9.2 ± 0.3
	Extractibles au méthanol	2.4 ± 0.1	21.9 ± 3.7	17.2 ± 1.1	15.1 ± 0.7
	Résidus liés	9.8 ± 0.4	31.0 ± 0.3	40.8 ± 0.3	26.7 ± 0.9
226 jours	Minéralisation	87.2 ± 1.2	34.9 ± 2.2	24.2 ± 2.4	69.8 ± 0.3
	Extractibles à l'eau	1.2 ± 0.1	15.6 ± 0.4	16.0 ± 1.0	2.0 ± 0.1
	Extractibles au méthanol	1.1 ± 0.1	8.4 ± 0.4	8.4 ± 0.4	3.4 ± 0.1
	Résidus liés	8.1 ± 0.1	39.3 ± 0.5	49.1 ± 1.7	25.2 ± 2.3
400 jours	Minéralisation	85.8 ± 5.4	37.0 ± 3.3	30.7 ± 0.7	68.2 ± 2.6
	Extractibles à l'eau	0.9 ± 0.2	11.0 ± 1.2	11.6 ± 0.4	1.7 ± 0.4
	Extractibles au méthanol	0.7 ± 0.1	5.7 ± 0.8	6.4 ± 0.4	2.1 ± 0.1
	Résidus liés	8.0 ± 0.5	44.6 ± 1.7	46.9 ± 1.1	23.4 ± 0.3

Les cinétiques de minéralisation obtenues (Figure 1.2) montrent trois comportements différents. Après 14 jours d'incubation 76.2 % de la <sup>14</sup>C-atrazine est minéralisée pour le sol MG8, et à partir de 21 jours on observe un plateau. La minéralisation de l'atrazine dans les sols WG8, et MV6 est lente et elle ralentit à partir de 100 jours d'incubation. Après une phase de latence de 4 jours, la vitesse de minéralisation de l'atrazine dans le sol MS5 augmente et devient supérieure à celle de WG8 et MV6. Les deux sols qui minéralisent le plus d'atrazine sont ceux qui reçoivent annuellement de l'atrazine au champ (MG8 et MS5 comparés à WG8 et MV6). De plus, les sols présentant des pH ≤ 6 minéralisent moins que les sols ayant des pH ≈ 8 (MS5 comparé à MG8,



et MV6 comparé à WG8).

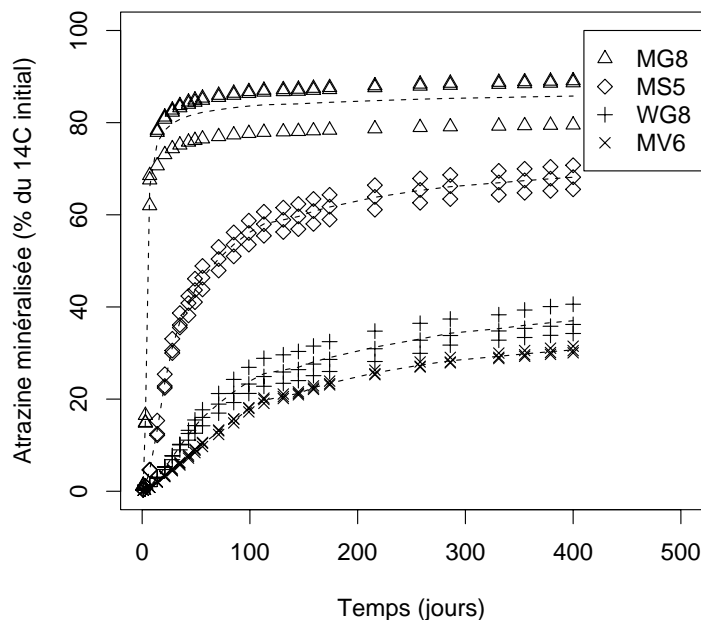


FIG. 1.2 – Cinétiques de minéralisation de la  $^{14}\text{C}$ -atrazine pour les quatre sols (trois répétitions (points) et moyennes (lignes en pointillés))

Pour le sol MG8, qui est le sol minéralisant le plus, seul 4 % du  $^{14}\text{C}$ -appliqué est extractible après 55 jours. Pour les deux sols minéralisant le moins (WG8 et MV6), environ 30 % du  $^{14}\text{C}$ -appliqué est extractible à l'eau et 20 % extractible au méthanol après 55 jours. Pour le sol MS5, qui présente un taux de minéralisation intermédiaire, les résidus extractibles au méthanol sont plus importants que les résidus extractibles à l'eau. Pour les quatre sols, le  $^{14}\text{C}$  extractible à l'eau et au méthanol diminue au cours du temps. La proportion de la radioactivité extractible à l'eau par rapport à la radioactivité extractible totale est plus faible pour les sols ayant fortement minéralisé (MG8 et MS5) comparée au sols minéralisant peu (WG8 et MV6), et ce pour les trois pas de temps étudiés.

Pour les deux sols minéralisant le plus, les quantités totales de résidus liés diminuent légèrement entre 55 et 400 jours d'incubation. Elles représentaient 9.8 et 26.7 % du  $^{14}\text{C}$ -appliqué après

55 jours d'incubation pour MG8 et MS5, respectivement. Elles ne représentent plus que 8.0 et 23.4 % après 400 jours d'incubation.

Pour les deux sols minéralisant le moins, les quantités de résidus liés augmentent au cours du temps (de 31.0 et 40.8 % du  $^{14}\text{C}$ -appliqué après 55 jours pour WG8 et MV6, respectivement, à 44.6 et 46.9 % après 400 jours).

### 1.3.2 Caractérisation des résidus extractibles à l'eau

Après 55 jours d'incubation 12, 19, et 26 % des résidus extractibles à l'eau pour respectivement WG8, MV6 et MS5 correspondent à de l'atrazine (Figure 1.3).

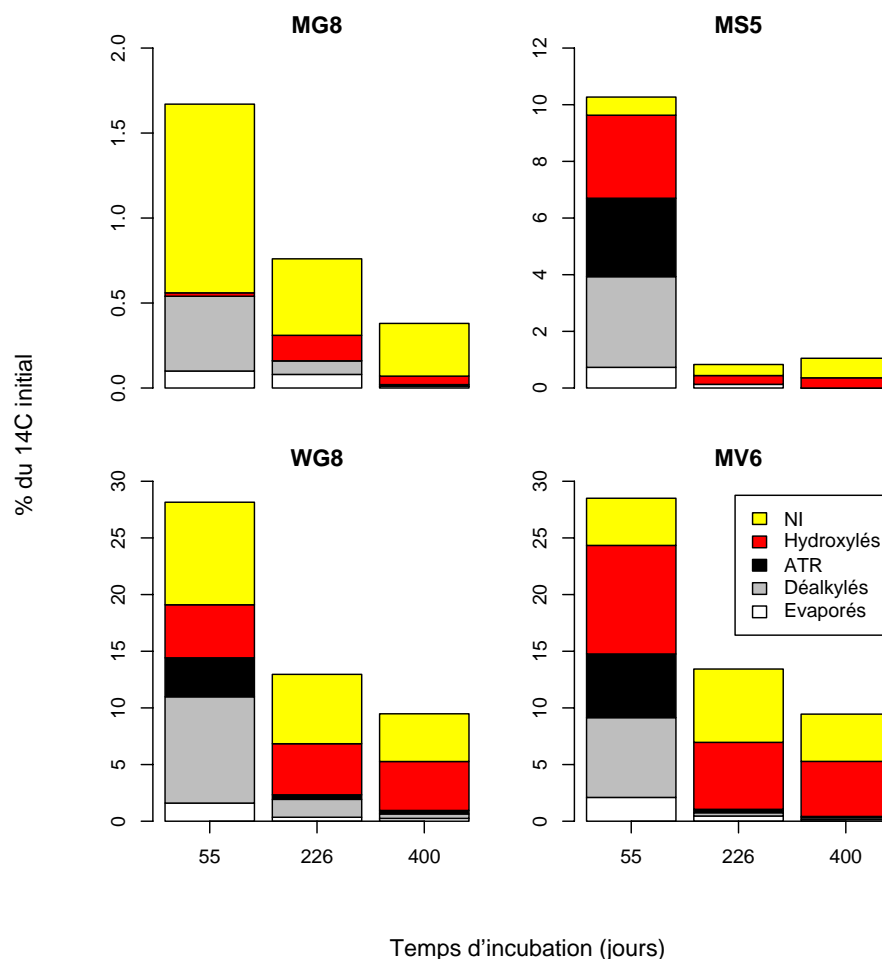


FIG. 1.3 – Caractérisation des résidus extractibles à l'eau par HPLC pour les quatre sols et les trois dates (moyennes des trois répétitions)

Ces trois sols présentent également des proportions élevées de dérivés hydroxylés (de 13 à 32 % des résidus extractibles à l'eau après 55 jours) qui sont principalement sous forme d'hydroxy-atrazine (Tableau 1.4)(Figure 1.1). Les quatre sols présentent des proportions importantes de dérivés déalkylés (de 23 à 35 % des résidus extractibles à l'eau après 55 jours), dont la plupart sont de la dééthyl-atrazine. Les quatre sols présentent également des proportions élevées de résidus chromatographiés non identifiés par HPLC (N.I., de 13 à 32 % des extractibles à l'eau après 55 jours pour WG8, MV6 et MS5, et 62% pour le sol MG8 qui est le sol minéralisant le plus)(Figure 1.4).

L'évolution des résidus d'atrazine extractibles à l'eau au cours du temps montre une diminution de l'atrazine et de tous ses métabolites pour les quatre sols. Cependant, la diminution des résidus déalkylés et de l'atrazine est en proportion plus forte que pour les résidus hydroxylés et non-identifiés. Après 400 jours, seuls WG8 et MV6 présentent encore de l'atrazine et des dérivés déalkylés extractibles à l'eau. A l'inverse, les dérivés hydroxylés représentent de 8 à 49 % des résidus extractibles à l'eau après 400 jours. Enfin, les proportions de résidus non-identifiés augmentent pour les quatre sols et atteignent de 48 à 89 % après 400 jours.

Après 55 jours d'incubation, les deux sols présentant les plus fortes proportions d'atrazine et de dérivés hydroxylés étaient les deux sols les plus acides (MV6 et MS5). Après 226 et 400 jours d'incubation, ce sont les deux sols qui minéralisent le moins (WG8 et MV6) qui présentent les proportions d'atrazine et de dérivés hydroxylés les plus fortes.

TAB. 1.4 – *Caractérisation des résidus extractibles à l'eau pour les quatre sols et les trois dates (moyenne des trois répétitions et écarts-types)*

Sol	Molécule	55 jours	226 jours	400 jours
		% du $^{14}\text{C}$ appliqué		
MG8	Evaporés†	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.0
	DEDIA	0.2 ± 0.0	< 0.1 ± 0.0	0.0
	DIA	< 0.1 ± 0.0	0.0	0.0
	DEA	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.1	0.0
	ATR	0.0	0.0	0.0
	HO-DEDIA	0.0	0.0	0.0
	HO-DIA	0.0	< 0.1 ± 0.0	0.0
	HO-DEA	< 0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.1	< 0.1 ± 0.0
	HO-ATR	0.0	0.0	< 0.1 ± 0.0
	N.I.‡	1.1 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.3 ± 0.1
WG8	Evaporés†	1.6 ± 0.2	0.4 ± 0.0	0.3 ± 0.0
	DEDIA	2.5 ± 0.2	0.5 ± 0.1	0.4 ± 0.2
	DIA	1.4 ± 0.3	0.0	0.0
	DEA	5.5 ± 0.5	1.1 ± 0.0	0.0
	ATR	3.4 ± 1.2	0.4 ± 0.2	0.3 ± 0.2
	HO-DEDIA	0.0	0.0	0.0
	HO-DIA	0.0	0.5 ± 0.0	0.1 ± 0.0
	HO-DEA	0.9 ± 0.7	0.3 ± 0.1	0.2 ± 0.1
	HO-ATR	3.7 ± 0.7	3.8 ± 0.2	4.1 ± 0.4
	N.I.‡	9.1 ± 1.2	6.1 ± 0.6	4.2 ± 0.7
MV6	Evaporés†	2.1 ± 0.1	0.5 ± 0.0	0.2 ± 0.0
	DEDIA	0.8 ± 0.2	0.0	0.2 ± 0.0
	DIA	1.3 ± 0.2	0.0	0.0
	DEA	5.0 ± 0.6	0.3 ± 0.1	0.0
	ATR	5.6 ± 1.2	0.3 ± 0.2	0.1 ± 0.1
	HO-DEDIA	0.0	0.0	0.0
	HO-DIA	0.4 ± 0.7	1.0 ± 0.3	0.1 ± 0.1
	HO-DEA	2.6 ± 0.2	0.2 ± 0.0	0.9 ± 0.1
	HO-ATR	6.6 ± 0.9	4.8 ± 0.2	3.9 ± 0.3
	N.I.‡	4.2 ± 0.4	6.5 ± 1.1	4.2 ± 0.5
MS5	Evaporés†	0.7 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.0
	DEDIA	0.1 ± 0.1	0.0	0.0
	DIA	0.3 ± 0.1	0.0	0.0
	DEA	2.8 ± 0.1	0.0	0.0
	ATR	2.4 ± 0.2	0.0	0.0
	HO-DEDIA	0.0	0.0	0.0
	HO-DIA	0.0	< 0.1 ± 0.0	0.0
	HO-DEA	0.6 ± 0.0	0.0	< 0.1 ± 0.0
	HO-ATR	0.6 ± 0.1	0.3 ± 0.0	0.3 ± 0.1
	N.I.‡	1.4 ± 0.2	0.4 ± 0.1	0.7 ± 0.2

† : Evaporés = perdu par évaporation lors de la préparation des échantillons pour l'analyse HPLC

‡ : N.I. = Non identifiés

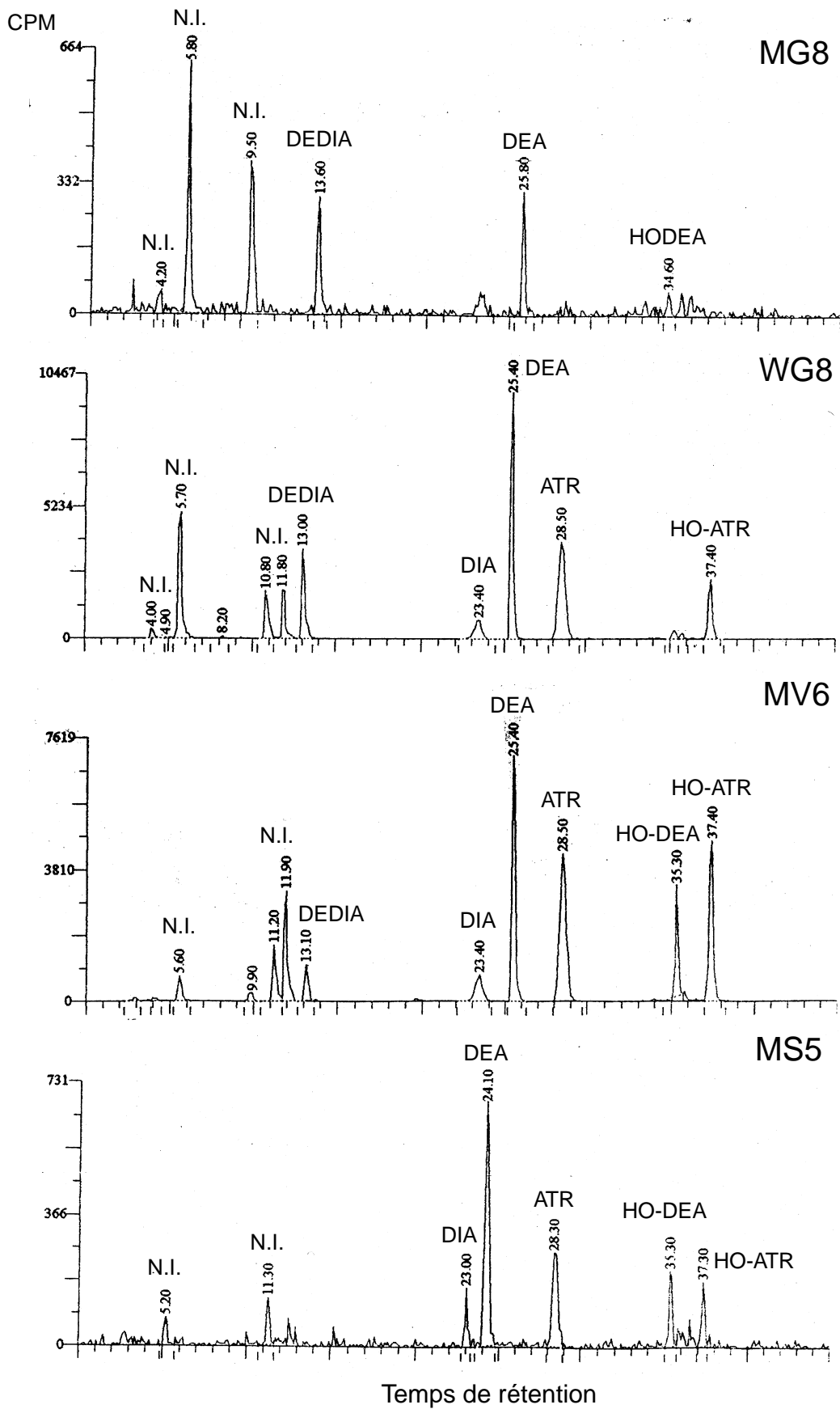


FIG. 1.4 – Chromatogrammes  $^{14}\text{C}$  caractéristiques des extraits aqueux pour les quatre sols après 55 jours d'incubation

### 1.3.3 Caractérisation des résidus extractibles au méthanol

La caractérisation des résidus extractibles au méthanol nous indique la présence d'atrazine pour les quatre sols, et en plus forte proportion que pour les résidus extractibles à l'eau (de 29 à 45 % des résidus extractibles au méthanol après 55 jours)(Figure 1.5).

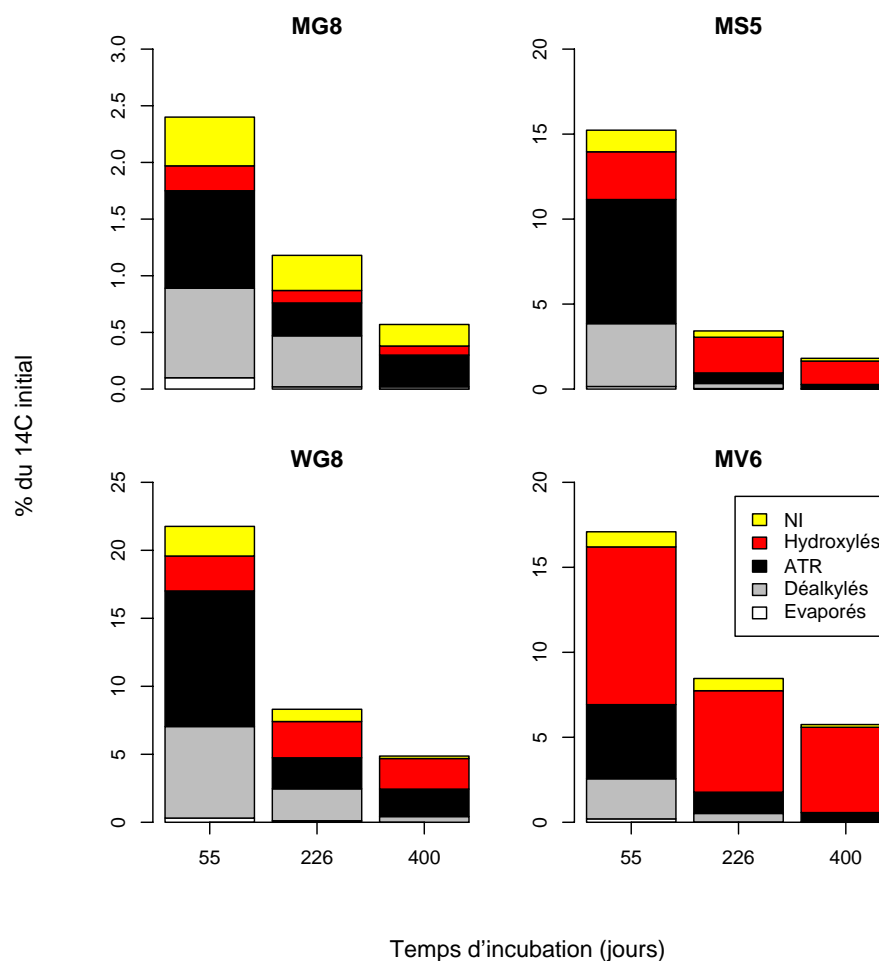


FIG. 1.5 – Caractérisation des résidus extractibles au méthanol par HPLC pour les quatre sols et les trois dates (moyenne des trois répétitions)

Les proportions de dérivés déalkylés et hydroxylés (relatives au <sup>14</sup>C extractible au méthanol) sont également plus grandes que pour les résidus extractibles à l'eau. La majorité des résidus déalkylés consistent en de la dééthyl-atrazine, et l'hydroxy-atrazine est le métabolite hydroxylé majoritairement analysé par HPLC (Tableau 1.5). Par contre les proportions de résidus non identifiés extractibles au méthanol sont inférieures à celles extractibles à l'eau (Figure 1.6).

Les proportions de résidus déalkylés et d'atrazine dans les extraits au méthanol diminuent au cours du temps, alors qu'elles augmentent pour les dérivés hydroxylés et les résidus non-identifiés. Dans tous les cas, les extraits méthanoliques se différencient des extraits aqueux par des proportions d'atrazine plus élevées. Les deux sols à pH alcalin (MG8 et WG8) présentent les proportions de dérivés déalkylés et d'atrazine extractibles au méthanol les plus grandes. Les deux sols acides présentent les proportions de dérivés hydroxylés les plus élevées .

TAB. 1.5 – *Caractérisation des résidus extractibles au méthanol pour les quatre sols et les trois dates (moyenne des trois répétitions et écarts-types)*

Sol	Molécule	55 jours	226 jours	400 jours
		% du $^{14}\text{C}$ appliqué		
MG8	Evaporé†	0.1 ± 0.0	< 0.1 ± 0.0	0.0
	DEDIA	0.1 ± 0.2	0.2 ± 0.0	0.0
	DIA	0.3 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.0
	DEA	0.4 ± 0.0	0.2 ± 0.0	< 0.1 ± 0.0
	ATR	0.9 ± 0.1	0.3 ± 0.0	0.3 ± 0.0
	HO-DEDIA	0.0	0.0	0.0
	HO-DIA	0.0	< 0.1 ± 0.0	0.0
	HO-DEA	0.1 ± 0.0	< 0.1 ± 0.0	0.0
	HO-ATR	0.2 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.1
	N.I.‡	0.4 ± 0.2	0.3 ± 0.1	0.2 ± 0.0
WG8	Evaporé†	0.3 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.0
	DEDIA	0.1 ± 0.2	0.2 ± 0.0	0.2 ± 0.0
	DIA	2.3 ± 0.3	0.8 ± 0.1	0.1 ± 0.0
	DEA	4.3 ± 0.7	1.4 ± 0.1	0.1 ± 0.0
	ATR	10.0 ± 2.7	2.3 ± 0.4	2.0 ± 0.4
	HO-DEDIA	0.0	< 0.1 ± 0.0	0.0
	HO-DIA	< 0.1 ± 0.0	0.2 ± 0.0	0.0
	HO-DEA	0.2 ± 0.0	0.1 ± 0.1	0.1 ± 0.0
	HO-ATR	2.3 ± 0.1	2.3 ± 0.1	2.1 ± 0.2
	N.I.‡	2.2 ± 0.1	0.9 ± 0.1	0.2 ± 0.0
MV6	Evaporé†	0.2 ± 0.0	< 0.1 ± 0.0	0.0
	DEDIA	0.1 ± 0.1	< 0.1 ± 0.0	0.0
	DIA	0.7 ± 0.0	0.2 ± 0.0	< 0.1 ± 0.0
	DEA	1.6 ± 0.1	0.3 ± 0.0	< 0.1 ± 0.0
	ATR	4.4 ± 0.4	1.2 ± 0.3	0.5 ± 0.3
	HO-DEDIA	0.0	< 0.1 ± 0.0	0.0
	HO-DIA	0.1 ± 0.0	0.4 ± 0.0	< 0.1 ± 0.0
	HO-DEA	0.8 ± 0.1	0.4 ± 0.2	0.2 ± 0.0
	HO-ATR	8.4 ± 1.1	5.2 ± 0.2	4.8 ± 0.1
	N.I.‡	0.9 ± 0.1	0.7 ± 0.1	0.2 ± 0.1
MS5	Evaporé†	0.2 ± 0.0	< 0.1 ± 0.0	0.0
	DEDIA	0.0	0.0	0.0
	DIA	0.9 ± 0.1	0.1 ± 0.0	0.0
	DEA	2.8 ± 0.1	0.2 ± 0.0	0.0
	ATR	7.3 ± 0.6	0.6 ± 0.1	0.3 ± 0.1
	HO-DEDIA	0.0	< 0.1 ± 0.0	0.0
	HO-DIA	< 0.1 ± 0.0	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.0
	HO-DEA	0.5 ± 0.0	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.0
	HO-ATR	2.3 ± 0.2	1.7 ± 0.1	1.2 ± 0.1
	N.I.‡	1.3 ± 0.2	0.4 ± 0.0	0.2 ± 0.1

† : Evaporés = perdu par évaporation lors de la préparation des échantillons pour l'analyse HPLC

‡ : N.I. = Non identifiés

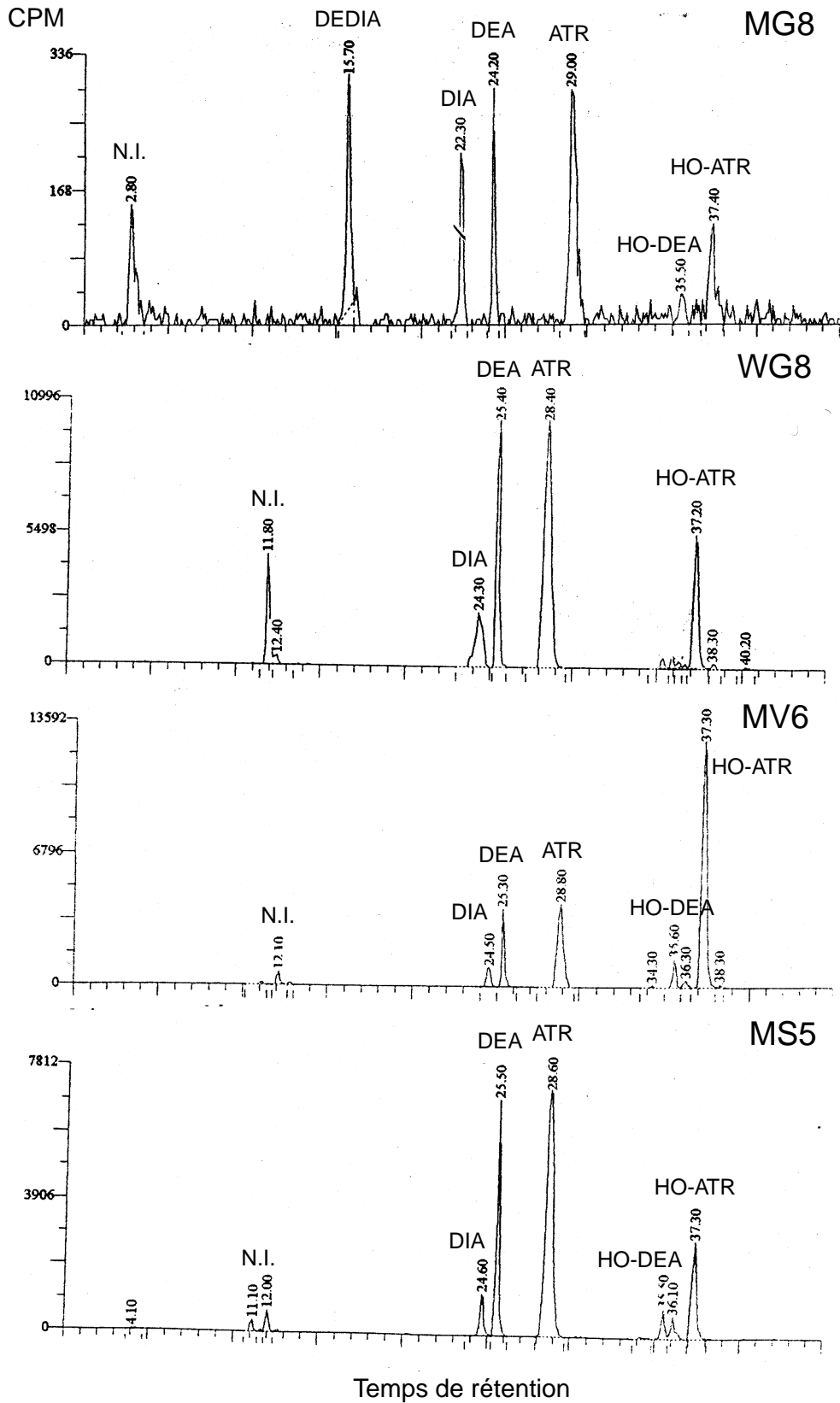


FIG. 1.6 – Chromatogrammes  $^{14}C$  caractéristiques des extraits méthanoliques pour les quatre sols après 55 jours d'incubation



## 1.4 Discussion

La cinétique de minéralisation de l'atrazine obtenue pour MG8 peut être expliquée par la présence d'une microflore adaptée à la minéralisation de l'atrazine du fait d'applications répétées de cet herbicide au champ (Houot *et al.*, 2000). Pour MS5, une microflore adaptée à la minéralisation de l'atrazine semble être présente, mais MS5 minéralise moins que MG8. Plusieurs causes peuvent être à l'origine de cette plus faible minéralisation : (i) la teneur en matière organique élevée de MS5 favorise l'adsorption de l'atrazine (Chapitre 2), diminue sa désorption et par conséquent sa bio-disponibilité ; (ii) le pH plus faible de MS5 ralentit le développement et/ou l'activité de la communauté microbienne minéralisatrice du noyau triazinique, (iii) l'hydroxy-atrazine formée lors de la dégradation de l'atrazine (Mandelbaum *et al.*, 1993 ; Abdelhafid, 1998 ; Castéras, 1998) est très fortement retenue dans le sol MS5 (Chapitre 2 ; Harris, 1966 ; Hayes, 1970, Barriuso et Calvet, 1992 ; Pussenier *et al.*, 1997), ce qui ralentirait sa minéralisation. En effet, il a été montré par ces auteurs que la minéralisation accélérée du noyau triazinique suppose une hydroxylation préalable du noyau. Houot *et al.* (2000) ont également montré que dans les sols présentant des  $\text{pH} \leq 6.5$ , la mise en place du phénomène de minéralisation accélérée était ralentie par rapport aux sols avec des  $\text{pH} \geq 7$  pour un même historique cultural.

Les sols WG8 et MV6 n'ont jamais reçu d'atrazine au champ, ce qui explique une faible minéralisation. Lors de la période d'incubation, on observe pas de modification du comportement de la microflore dégradante. Il ne semble pas y avoir d'adaptation suffisamment importante pour voir un effet sur les cinétiques de minéralisation dans ces deux sols. Il faudrait pour cela réaliser des plusieurs applications successives (Abdelhafid, 1998).

La diminution des résidus extractibles à l'eau et au méthanol pour les quatre sols au cours du temps est un résultat classiquement obtenu lors d'incubations de sols traités avec des pesticides (Schiavon *et al.*, 1977 ; Winklemann et Klaine, 1991a et 1991b ; Barriuso et Houot, 1996 ; Barriuso et Koskinen, 1996 ; Dec *et al.*, 1997 ; Abdelhafid, 1998 ; Burauel et Führ, 2000). Cette diminution

se fait au profit de la minéralisation et de la stabilisation sous forme de résidus liés. Pour WG8 et MV6 l'augmentation des quantités minéralisées est supérieure à la diminution de la fraction extractible à l'eau. Afin de combler ce déficit, il y a donc un passage possible des résidus de la fraction extractibles au méthanol vers la fraction extractible à l'eau.

On constate une diminution en quantité et en proportion (relative aux résidus extractibles à l'eau) de l'atrazine et de ses principaux métabolites (déalkylés et hydroxylés) au cours du temps. Parallèlement, il y a diminution en quantité et augmentation en proportion de résidus non identifiés dans la fraction extractible à l'eau pour les quatre sols. Ceci indique que ces résidus non identifiés sont des résidus fortement dégradés de l'atrazine. Il pourrait s'agir pour partie de l'acide cyanurique, du biuret et de l'urée. En effet, ces métabolites ont des temps de rétention courts dans les conditions d'analyses chromatographiques utilisées, ils n'absorbent pas dans l'UV, contrairement à l'atrazine et ses métabolites, d'où une impossibilité d'utiliser les spectres UV pour leur caractérisation. Or, une proportion importante des résidus  $^{14}\text{C}$  extractibles à l'eau après incubation, pouvant atteindre près de 90 % du  $^{14}\text{C}$  de certains extraits aqueux, ont des temps de rétention du même ordre de grandeur et sans absorbance dans l'UV.

La comparaison des résidus extractibles à l'eau et au méthanol pour WG8 et MV6 indique de plus grandes quantités d'hydroxy-atrazine dans le sol acide. On ne peut conclure si ces quantités plus importantes sont dues à une hydroxylation physico-chimique de l'atrazine en raison du pH plus faible de MV6 (Armstrong, 1967), ou à la présence d'une communauté microbienne dégradante différente dans MV6 par rapport à WG8.

## 1.5 Conclusion

La minéralisation et la stabilisation sont deux phénomènes de dissipation complémentaires. En effet, tous deux participent à la disparition de l'atrazine dans la solution du sol. En même temps, ces deux phénomènes sont compétitifs car quand la minéralisation est importante, la

proportion de radioactivité stabilisée sous forme de résidus liés est faible (cas des sols MG8 et MS5), et inversement (cas des sols WG8 et MV6). Cependant, contrairement à la minéralisation, la stabilisation est un phénomène de dissipation apparente car les résidus stabilisés sont toujours présents dans le sol. On a pu observer une légère diminution des quantités de résidus liés dans les deux sols minéralisant le plus (MG8 et MS5), ce qui indique que la stabilisation de l'atrazine sous forme de résidus liés ne peut être considérée comme un processus de dissipation définitive.

L'application répétée d'atrazine au champ a pour effet le développement d'une population microbienne capable de minéraliser le noyau triazinique très rapidement. Cependant, un  $\text{pH} \leq 6.5$  ralentit cette adaptation et/ou l'activité de cette population microbienne adaptée.

La caractérisation des résidus extractibles à l'eau et au méthanol nous a permis de constater que les deux voies de dégradation principales, la déalkylation et l'hydroxylation, co-existent pour les quatre sols. Les sols à pH alcalin présentent les plus grandes proportions (relatives au  $^{14}\text{C}$  extractible total) de métabolites déalkylés (principalement sous forme de dééthyl-atrazine) et non-identifiés. Les sols acides (MV6 et MS5) présentent les fortes proportions de dérivés hydroxylés (principalement sous la forme d'hydroxy-atrazine). Bien que les deux voies de dégradation de l'atrazine co-existent pour les quatre sols, on peut se demander si la différence observée pour la caractérisation des résidus extractibles entre les sols acides et basiques provient : (i) de différence dans les voies de dégradation (*i.e.* la déalkylation est favorisée dans les sols basique et l'hydroxylation est favorisée dans les sols acides) ; ou (ii) si cette différence provient de caractéristiques d'adsorption/désorption de l'atrazine, des métabolites déalkylés et des métabolites hydroxylés différentes pour les sols acides et basiques.

## Chapitre 2

# Rétention de l'atrazine et de ses principaux métabolites dans les sols

### 2.1 Introduction

D'après la définition de l'IUPAC (1972), l'adsorption correspond à «l'enrichissement (adsorption positive) ou à l'appauvrissement (adsorption négative) d'une interface en une ou plusieurs espèces chimiques». Pour les composés organiques à faible pression de vapeur dans les sols, l'interface solide/liquide est la plus importante. Ainsi, l'adsorption est le passage de la phase liquide (solution du sol) à l'interface solide/liquide du sol, la désorption étant le phénomène inverse (Calvet, 1989). L'adsorption est un des premiers phénomènes auquel sont soumis les pesticides arrivant dans un sol. Elle résulte de plusieurs types d'interactions dont : (i) les interactions ioniques et (ii) les liaisons de coordination (E.L.<sup>1</sup> > 80 kJ.mol<sup>-1</sup>), (iii) les interactions par transfert de charges (E.L. :  $\approx \leq$  80 kJ.mol<sup>-1</sup>), (iv) les liaisons hydrogène (E.L. : 10 à 25 kJ.mol<sup>-1</sup>), (v) des forces de dispersion de London - Van Der Waals / d'exclusion hydrophobe (E.L. :  $\leq$  8 kJ.mol<sup>-1</sup> à 80 kJ.mol<sup>-1</sup>) (Calvet *et al.*, 1980 ; Calderbank, 1989 ; Calvet, 1989 ; Israelachvili et Pashley, 1982 ;

---

<sup>1</sup>E.L. : énergie de liaison

Senesi, 1992, Pignatello, 2000) ).

Dans le cas des s-triazines, qui ont un caractère de bases faibles, Sullivan et Felbeck (1968) et Weber *et al.*(1969) ont montré l'intervention d'interactions ioniques lors de leur adsorption, par l'intermédiaire des groupements carboxyliques et hydroxy-phénol des acides humiques et les groupements amino des s-triazines. L'importance de ces interactions est dépendante des valeurs de  $pK_a$  de la triazine. L'adsorption des s-triazines par transfert de charges a été démontrée par Senesi et Testini (1982, 1983), ces auteurs suggérant les s-triazines comme donneur d'électrons, et les unités type quinone des acides humiques comme accepteurs. Cependant, Martin-Neto *et al.* (1994) n'ont pu mettre en évidence ce type d'interactions pour l'atrazine, ce qu'ils expliquent par la présence de l'atome de chlore en position 6 sur le noyau triazinique. Le chlore, en raison de son électronégativité, diminuerait le caractère «donneur d'électron(s)» du noyau triazinique par rapport aux groupements méthylthio- et méthoxy- présents en position 6 pour d'autres s-triazines. Ces mêmes auteurs ont par contre constaté la formation de liaisons hydrogène entre l'atrazine et des acides humiques, particulièrement pour des  $pH < 4$ , tout comme Senesi et Testini (1982, 1983). L'adsorption due à des forces de dispersion London - Van Der Waals et/ou exclusion hydrophobe a été suggérée par Walker et Crawford (1968), et semble confirmée par les résultats de Celis *et al.*(1997), Piccolo *et al.*(1998 et 1999) et Martin-Neto *et al.* (2001).

Les principaux facteurs pédologiques influençant l'adsorption des triazines dans les sols sont la teneur en matière organique et le pH. Walker et Crawford (1968) ont montré que l'adsorption était corrélée positivement à la teneur en matière organique pour 36 sols. Coquet et Barriuso (2001) ont également obtenu cette corrélation pour 51 échantillons de sols. De nombreux autres travaux ont montré l'importance de la matière organique dans l'adsorption des triazines, et ce dès le début des années 1960 (Hayes, 1970). Cependant, pour des sols à teneurs en matière organique faibles, l'adsorption des triazines par les minéraux des sols n'est pas à négliger comme indiqué dans les travaux de Talbert et Fletchall (1965), Barriuso *et al.*(1994) et Laird *et al.*(1994). L'adsorption

des triazines est également fortement influencée par le pH, et une adsorption maximale est observée pour des pH proches des valeurs des  $pK_a$  des molécules (Armstrong et Chesters, 1968 ; Weber *et al.*, 1969). En effet, les s-triazines étant des bases faibles, la diminution du pH provoque leur protonation, ce qui favorise la formation de liaisons hydrogène et/ou liaisons ioniques entre les molécules et les groupements carboxyliques et phénoliques de la matière organique (Senesi et Testini, 1983). Cependant, une diminution du pH au-delà du maximum d'adsorption a également pour effet de provoquer une diminution de l'adsorption, ce que Harris et Warren (1964) et Weber *et al.* (1969) ont expliqué par une compétition entre les ions  $H_3O^+$  et les s-triazines protonées pour les sites d'adsorption.

L'adsorption des molécules s-triaziniques par les constituants des sols a pour effet la diminution de leur disponibilité pour les plantes et pour les micro-organismes du sol responsables de leur dégradation, ainsi que la diminution de leur mobilité dans le sol. Harris (1966) a ainsi démontré que pour provoquer un effet phyto-toxique réduisant la masse fraîche de l'avoine (plante sensible à l'atrazine) de 50 %, il fallait une dose d'application nettement supérieure pour les sols présentant une forte adsorption comparé à des sols qui présentaient une adsorption plus faible. Ceci se traduit par des doses d'application plus fortes pour des sols présentant une forte adsorption comparés à des sols présentant une adsorption plus faible, pour obtenir une efficacité phyto-toxique équivalente. Par ailleurs, Harris (1966) a pu constater qu'une forte adsorption ralentissait le mouvement des s-triazines dans une colonne de sol. Des observations similaires pour la mobilité ont été obtenues par Schiavon (1988).

Bien que la mobilité et la phyto-toxicité des s-triazines soient diminuées du fait de l'adsorption, ces molécules adsorbées n'en restent pas moins potentiellement disponibles et peuvent soit (i) repasser dans la solution du sol par désorption, soit (ii) voir leurs interactions avec les constituants des sols évoluer vers des interactions plus fortes. L'étude du phénomène de désorption permet l'évaluation des quantités de produits adsorbés susceptibles d'être relargués dans la

solution du sol ainsi que l'évaluation de l'intensité relative des mécanismes d'adsorption pour différents adsorbants (Seybold et Mersie, 1996 ; Celis *et al.*, 1997). On peut penser que les produits non-désorbables sont susceptibles de voir leurs interactions avec les constituants du sol évoluer vers des interactions de plus en plus fortes pour aboutir à la formation de résidus liés. L'adsorption peut donc être considérée comme la phase initiale de la stabilisation des pesticides dans les sols.

L'augmentation du temps de résidence des composés dans le sol (ou leur vieillissement) a pour conséquence de diminuer leur bio-disponibilité pour les micro-organismes et les plantes (Alexander, 2000). En conditions abiotiques, cette diminution de la disponibilité au cours du temps peut s'expliquer par des phénomènes lents de sorption (Pignatello et Xing, 1996). Ainsi Dakhel (2001) a pu constater que l'adsorption de l'amitrole augmente au cours du temps, et que sa désorption varie également en fonction du temps. Johnson *et al.* (1999) ont constaté que la désorption de l'atrazine augmente pendant les premières 24 h de désorption, puis diminue quand le temps de désorption augmente, indiquant ainsi une ré-adsorption. Barriuso *et al.* (1992) ont également pu constater une influence du temps de résidence sur la désorption de l'atrazine appliquée au champ.

Les objectifs de ce chapitre sont de caractériser l'adsorption et la désorption de l'atrazine (ATR). Deux de ses principaux métabolites, la dééthyl-atrazine (DEA) et l'hydroxy-atrazine (HO-ATR), sont également étudiés. En effet, la dégradation de l'atrazine par les micro-organismes provoque l'apparition de métabolites qui sont également soumis au phénomène d'adsorption/désorption. La DEA et l'HO-ATR sont les deux principaux métabolites qui ont été identifiés dans les extraits aqueux pour les quatre sols et les trois temps étudiés (Chapitre 1, tableau 1.3, page 31). Les quatre sols utilisés (*cf.* Chapitre 1) présentant des caractéristiques physico-chimiques différentes, l'influence du pH et de la teneur en MO est discutée. L'effet du vieillissement de la DEA, de l'ATR et l'HO-ATR dans les sols sur leur désorption est également étudié via les désorptions

réalisées après 55, 226 et 400 jours d'incubation.

## 2.2 Matériels et méthodes

### 2.2.1 Atrazine et Métabolites

De la  $^{14}\text{C}$ -atrazine (6-chloro- $\text{N}^2$ éthyl- $\text{N}^4$ isopropyl-1,3,5-triazine-2,4-diamine, ATR) (Sigma), avec une pureté radiochimique  $> 99\%$  et une activité spécifique de  $7.9 \cdot 10^8 \text{ Bq}\cdot\text{mmol}^{-1}$ , est utilisée. Son métabolite, la  $^{14}\text{C}$ -dééthyl-atrazine (6-chloro-2-amino- $\text{N}^4$ isopropyl-1,3,5-triazine-4-amine, DEA) (Isotopchim) a une pureté radiochimique  $> 97\%$  et une activité spécifique de  $1.8 \cdot 10^8 \text{ Bq}\cdot\text{mmol}^{-1}$ . Ces deux molécules sont uniformément marquées par le  $^{14}\text{C}$  sur le noyau triazinique.

La  $^{14}\text{C}$ -hydroxy-atrazine (6-hydroxy- $\text{N}^2$ éthyl- $\text{N}^4$  isopropyl-1,3,5-triazine-2,4-diamine, HO-ATR) a été préparée au laboratoire par hydrolyse acide de  $^{14}\text{C}$ -atrazine. 0.1 ml d'une solution de  $^{14}\text{C}$ -atrazine à  $4.2 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$  (activité spécifique  $7.9 \cdot 10^8 \text{ Bq}\cdot\text{mmol}^{-1}$ ) sont additionnés à 15 ml d'une solution aqueuse de HCl 2M, et chauffés pendant 16 h en condition de reflux. La solution est purifiée par extraction solide-liquide sur cartouche Isolute ENV+ (IST) préalablement activée par un passage de 6 ml de méthanol suivi de 6 ml d'eau. Après percolation de l'hydrolysate acide, la cartouche est lavée par passage de 6 ml d'eau, et éluée une première fois avec 6 ml de méthanol qui sont récupérés. 0.5 ml de NaOH 0.1 M sont ajoutés à la cartouche, laissés au contact de celle-ci pendant 5 min, et lavés par passage de 6 ml d'eau. La cartouche est éluée une deuxième fois avec 6 ml de méthanol, qui sont cumulés au premier éluat méthanolique. La pureté de la solution méthanolique de  $^{14}\text{C}$ -hydroxy-atrazine est contrôlée par HPLC (*cf.* section 1.2.5), et était  $> 90\%$ . La concentration de cette solution a été calculée par la mesure de la concentration en  $^{14}\text{C}$  par scintillation en milieu liquide (compteur Kontron Instruments BETAMATIC V), en faisant l'hypothèse que le produit d'hydrolyse conserve la même activité spécifique que la  $^{14}\text{C}$ -atrazine. Dans ces conditions, le rendement global (hydrolyse plus récupération) a été de 54 % de l'atrazine



initiale, et la concentration de la solution de  $^{14}\text{C}$ -hydroxy-atrazine obtenue était de  $44.6 \mu\text{mol.l}^{-1}$ .

Les standards analytiques non-marqués d'atrazine, de dééthyl-atrazine, et d'hydroxy-atrazine proviennent de C.I.L. Cluzeau.

Cinq solutions aqueuses ( $\text{CaCl}_2$   $10^{-2}$  M) d'atrazine (0.23, 0.46, 2.27, 4.64, and  $13.90 \mu\text{mol.l}^{-1}$ ), de dééthyl-atrazine (0.27, 0.54, 2.56, 5.23, et  $16.23 \mu\text{mol.l}^{-1}$ ), et d'hydroxy-atrazine (0.23, 0.47, 1.80, 4.25, et  $14.94 \mu\text{mol.l}^{-1}$ ) sont préparées.

### 2.2.2 Adsorption

10 ml de chacune des solutions de  $^{14}\text{C}$ -atrazine (ou  $^{14}\text{C}$ -dééthyl-atrazine, ou  $^{14}\text{C}$ -hydroxy-atrazine) sont ajoutés à 5 g de chacun des quatres sols séchés (*cf.* Chapitre 1) et tamisés à 2 mm, dans des tubes à centrifuger en verre de 25 ml (Corex). Ces tubes sont mis en agitation par retournement pendant 24 h à  $20 \pm 2^\circ \text{C}$  dans l'obscurité, puis centrifugés à 2000 g pendant 30 min (centrifugeuse Sorvall RC-5B). Ces expériences sont réalisées en double, ainsi que deux témoins (10 ml de chacune des solutions dans des tubes identiques et sans sol). Les concentrations des surnageants récupérés sont calculées par la mesure du  $^{14}\text{C}$  sur des parties aliquotes de 1 ml par scintillation en milieu liquide. Les quantités adsorbées sont calculées par la différence de concentration entre les surnageants et la moyenne des témoins correspondants.

Les isothermes d'adsorption obtenues sont décrites par le formalisme de Freundlich suivant :

$$\frac{x}{m} = K_{fa} C_e^{n_{fa}} \quad (2.1)$$

où :

- $(x/m)$  est la quantité adsorbée par masse de sol sec en  $\mu\text{mol.kg}_{\text{sol}}^{-1}$  ;
- $C_e$  est la concentration de la solution à l'équilibre en  $\mu\text{mol.l}^{-1}$  ;
- $K_{fa}$  et  $n_{fa}$  sont les paramètres d'adsorption de Freundlich avec  $K_{fa}$  en  $\mu\text{mol}^{1-n_{fa}}.\text{l}^{n_{fa}}.\text{kg}^{-1}$ .

Les paramètres d'adsorption de Freundlich sont calculés par régression linéaire sur la forme

logarithmique de l'équation de Freundlich :

$$\lg \frac{x}{m} = \lg K_{fa} + n_{fa} \lg C_e \quad (2.2)$$

Les coefficients de partage de la DEA, de l'ATR et l'HO-ATR entre les phases solide et liquide  $K_d$ , sont calculés par régression linéaire sur l'équation (2.1) avec  $n_{fa} = 1$ . Les coefficients de partage  $K_{OC}$  normalisés par rapport à la teneur en carbone organique (CO) sont calculés comme suit :  $K_{oc} = K_d/CO$ , où CO est exprimé en  $g_{carbone} \cdot g_{sol}^{-1}$ . Des études statistiques sont réalisées sur les valeurs de  $K_{fa}$ ,  $n_{fa}$ , et  $K_d$  comme décrit par Aivazian (1970) (Annexe A).

### 2.2.3 Désorption

Les surnageants obtenus par centrifugation après l'adsorption sont remplacés par un volume équivalent d'une solution aqueuse de  $CaCl_2$   $10^{-2}$  M, *i.e.* 7 ml. Les culots sont dispersés par vibration mécanique (vortex), agités par retournement pendant 24 h à  $20 \pm 2$  ° C dans l'obscurité, centrifugés à 2000 g pendant 30 min, et les surnageants récupérés remplacés par un volume équivalent de  $CaCl_2$   $10^{-2}$  M. Ces opérations sont répétées jusqu'à ce que les concentrations de  $^{14}C$  mesurées dans les surnageants soient faibles, *i.e.* 7 ou 8 fois. Les teneurs en radioactivité des surnageants sont mesurées sur des parties aliquotes de 1 ml par scintillation en milieu liquide, et les quantités de DEA, d'ATR et d'HO-ATR désorbées à chaque désorption sont calculées par la différence entre la DEA (ou l'ATR ou l'HO-ATR) en solution (surnageant et solution du culot) à la désorption  $n$  et la DEA (ou l'ATR ou l'HO-ATR) présente dans la solution du culot ( $n-1$ ). Les quantités  $(x/m)_n$  restant adsorbées à la désorption  $n$  sont calculées par la différence entre les quantités adsorbées sur le culot ( $n-1$ ) et les quantités désorbées à la désorption  $n$ .

Dans le cas des échantillons traités avec de l'ATR, trois extractions au méthanol sont réalisées après les désorptions, en remplaçant le dernier surnageant récupéré par un même volume de méthanol pour les quatre sols.

Les extractions aqueuses ( $\text{CaCl}_2$   $10^{-2}$  M) conduites après les incubations de 55, 226 et 400 jours sont équivalentes aux désorptions décrites préalablement. Elles permettent d'obtenir les isothermes de désorptions de la DEA, de l'ATR, et de l'HO-ATR après 55, 226, et 400 jours.

Toutes les isothermes de désorption ont été ajustées par un formalisme de Freundlich modifié (équation 2.3). Pour les échantillons incubés uniquement, les valeurs initiales des (x/m) pour les trois molécules sont respectivement la somme de la DEA, de l'ATR, et de l'HO-ATR totale analysée dans les extraits aqueux, les extraits méthanol, et les résidus liés (cf Chapitres 1 et 3).

$$\frac{x}{m} = K_{fdes} C_e^{n_{fdes}} + Q \quad (2.3)$$

où :

- (x/m) est la quantité restant adsorbées par masse de sol sec en  $\mu\text{mol.kg}_{sol}^{-1}$  ;
- $C_e$  est la concentration de la solution à l'équilibre en  $\mu\text{mol.l}^{-1}$  ;
- $K_{fdes}$  et  $n_{fdes}$  sont les paramètres de désorption de Freundlich avec  $K_{fdes}$  en  $\mu\text{mol}^{1-n_{fdes}} . \text{l}^{n_{fdes}} . \text{kg}^{-1}$  ;
- Q est la quantité non-désorbable en en  $\mu\text{mol.kg}_{sol}^{-1}$ .

Les paramètres  $K_{fdes}$ ,  $n_{fdes}$ , et Q ont été calculés par régression non-linéaire à l'aide de l'algorithme de Marquardt-Levenberg du logiciel Sigma-Plot (version 5 pour Windows, SPSS Inc.). Des contraintes sur les paramètres  $K_{fdes}$ ,  $n_{fdes}$ , et Q des isothermes de désorption après incubation ont dû être appliquées selon les règles suivantes :

- $Q \geq 0$  ;
- $n_{fdes} \leq n_{fdes0}$ , où  $n_{fdes0}$  est la courbure de l'isotherme de désorption calculée sur des échantillons des sols non incubés (t=0).

## 2.3 Résultats et discussion

### 2.3.1 Caractérisation de l'adsorption

Pour la DEA, l'ATR et l'HO-ATR, l'adsorption est supérieure pour le sol MS5, qui est le sol le plus riche en carbone organique (Figure 2.1). Le sol MV6 présente une adsorption légèrement supérieure aux sols MG8 et WG8 pour la DEA et l'ATR, et nettement plus forte pour l'HO-ATR, MV6 se différenciant de MG8 et WG8 par un pH plus faible ( $\text{pH}(\text{MV6}) = 6$ ). L'adsorption des trois composés sur les sols MG8 et WG8 est similaire.

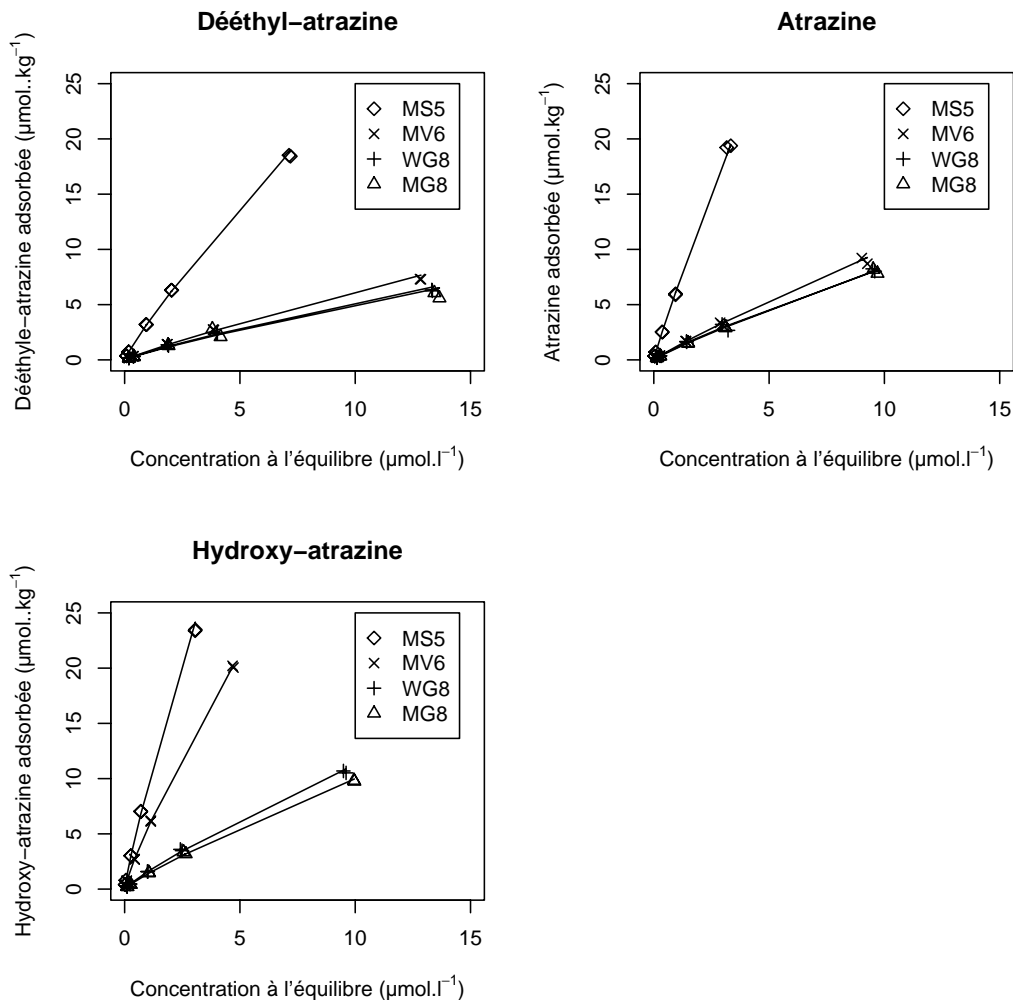


FIG. 2.1 – Isothermes d'adsorption de la dééthyl-atrazine (DEA), de l'atrazine (ATR) et de l'hydroxy-atrazine (HO-ATR) pour les quatre sols étudiés

Les valeurs de  $R^2$  obtenues par régression linéaire sur l'équation de Freundlich (2.2) sont comprises entre 0.99 et 1.00, ce qui indique une bonne description des isothermes d'adsorption par ce modèle (Tableau 2.1).

TAB. 2.1 – Valeurs des coefficients d'adsorption de Freundlich ( $K_{fa}$  et  $n_{fa}$ ), des  $K_d$  et des  $K_{oc}$  obtenues pour les isothermes d'adsorption de la DEA, de l'ATR, et de l'HO-ATR

		$K_{fa}$	$n_{fa}$	$R^2$	$K_d$	$K_{oc}$
		$(\mu\text{mol}^{1-n} \cdot \text{l}^n \cdot \text{kg}^{-1})$			$(\text{l} \cdot \text{kg}_{\text{sol}}^{-1})$	$(\text{l} \cdot \text{kg}_{\text{carbone}}^{-1})$
MG8	DEA	0.67 (0.64-0.70)†	0.87 (0.03)‡	0.99	0.45 (0.02)‡	26.3 (1.2)‡
	ATR	1.08 (1.06-1.09)†	0.89 (0.01)‡	1.00	0.85 (0.02)‡	49.7 (1.2)‡
	HO-ATR	1.38 (1.37-1.40)†	0.86 (0.01)‡	1.00	1.00 (0.03)‡	58.5 (1.8)‡
WG8	DEA	0.71 (0.70-0.73)†	0.86 (0.01)‡	1.00	0.49 (0.02)‡	24.6 (1.0)‡
	ATR	1.15 (1.13-1.18)†	0.86 (0.02)‡	1.00	0.87 (0.02)‡	43.7 (1.0)‡
	HO-ATR	1.59 (1.57-1.60)†	0.85 (0.01)‡	1.00	1.14 (0.03)‡	57.3 (1.5)‡
MV6	DEA	0.79 (0.78-0.80)†	0.89 (0.01)‡	1.00	0.58 (0.02)‡	47.2 (1.6)‡
	ATR	1.25 (1.23-1.26)†	0.90 (0.01)‡	1.00	1.00 (0.02)‡	81.3 (1.6)‡
	HO-ATR	5.50 (5.47-5.53)†	0.84 (<0.01)‡	1.00	4.36 (0.11)‡	354.5 (8.9)‡
MS5	DEA	3.33 (3.30-3.35)†	0.88 (0.01)‡	1.00	2.63 (0.06)‡	57.8 (1.3)‡
	ATR	6.43 (6.35-6.51)†	0.92 (0.01)‡	1.00	5.98 (0.07)‡	131.4 (1.5)‡
	HO-ATR	9.22 (9.13-9.32)†	0.86 (<0.01)‡	1.00	7.80 (0.20)‡	171.4 (4.4)‡

† : intervalle de confiance (IC) à 95 % calculés comme suit ;  $K_{fmin} = \text{antilog}(\lg K_f - IC \lg K_f)$ , et  $K_{fmax} = \text{antilog}(\lg K_f + IC \lg K_f)$   
‡ : écart types

Les études statistiques menées sur les valeurs de  $K_{fa}$ ,  $n_{fa}$ , et  $K_d$  obtenues, ont permis de comparer ces valeurs pour un composé sur les quatre sols, et pour les trois composés sur un sol, *i.e.*  $K_{fa}(\text{HO-ATR MV6})$  *vs.*  $K_{fa}(\text{HO-ATR MS5})$ ,  $K_{fa}(\text{DEA MG8})$  *vs.*  $K_{fa}(\text{ATR MG8})$ ,... Les comparaisons croisées des paramètres, *i.e.* sols et composés différents, n'ont pas été réalisées.

Les valeurs des  $K_{fa}$  traduisent les capacités d'adsorption des sols en DEA, d'ATR et d'HO-ATR. Pour les quatre sols, on observe que  $K_{fa}(\text{DEA}) < K_{fa}(\text{ATR}) < K_{fa}(\text{HO-ATR})$ , et pour les trois composés, on a  $K_{fa}(\text{MG8}) \leq K_{fa}(\text{WG8}) < K_{fa}(\text{MV6}) \ll K_{fa}(\text{MS5})$ , ce qui est en accord avec les quantités adsorbées pour les trois composés et les quatre sols (Tableau 2.1 et 2.2). Pour les trois espèces et les quatre sols, les valeurs de  $n_{fa}$  sont comprises entre 0.84 et 0.92, ce qui indique que les isothermes sont proches de la linéarité.

L'analyse statistique indique que les valeurs des coefficients  $n_{fa}$  ne sont pas, dans la plupart des cas, significativement différents (excepté  $n_{fa}(\text{HO-ATR}) \leq n_{fa}(\text{ATR}) = n_{fa}(\text{DEA})$  pour MV6 et MS5). Les isothermes d'adsorption étant proches de la linéarité ( $0.84 < n_{fa} < 0.92$ ), on peut estimer les valeurs du coefficient de partage sol/solution  $K_d$  par régression linéaire sur l'équation

TAB. 2.2 – Quantités et pourcentages (relatifs aux quantités adsorbées) de dééthyl-atrazine, d’atrazine et d’hydroxy-atrazine adsorbées pour les quatre sols étudiés (moyenne des trois répétitions et écarts-types)

Sol <sup>n</sup> ( $\mu\text{mol.l}^{-1}$ )		Quantités adsorbées ( $\mu\text{mol.kg}^{-1}$ )† et (% de l’appliquée)†				
		0.25	0.50	2.50	5.00	15.00
MG8	DEA	0.16 (30.1)	0.28 (26.4)	1.30 (26.0)	2.44 (23.8)	5.83 (18.1)
	ATR	0.19 (39.7)	0.35 (37.6)	1.52 (33.2)	2.93 (31.4)	8.00 (28.7)
	HO-ATR	0.22 (48.7)	0.42 (45.1)	1.48 (41.5)	3.27 (38.8)	9.79 (33.4)
WG8	DEA	0.16 (30.7)	0.32 (29.4)	1.32 (26.3)	2.39 (23.2)	6.29 (19.4)
	ATR	0.20 (42.0)	0.37 (40.2)	1.64 (36.0)	2.94 (31.6)	8.13 (29.3)
	HO-ATR	0.24 (52.5)	0.46 (49.7)	1.59 (44.6)	3.53 (42.3)	10.61 (36.1)
MV6	DEA	0.17 (32.3)	0.33 (30.9)	1.41 (27.9)	2.73 (26.3)	7.30 (22.4)
	ATR	0.20 (42.6)	0.38 (41.2)	1.70 (37.3)	3.28 (35.4)	8.95 (32.2)
	HO-ATR	0.37 (82.0)	0.74 (80.6)	2.71 (76.0)	6.16 (73.3)	20.13 (68.5)
MS5	DEA	0.36 (68.5)	0.73 (67.7)	3.20 (63.3)	6.31 (61.1)	18.48 (56.7)
	ATR	0.34 (80.4)	0.71 (80.6)	2.52 (77.7)	5.94 (76.0)	19.30 (75.0)
	HO-ATR	0.40 (88.4)	0.81 (87.4)	3.03 (85.1)	7.03 (83.5)	23.43 (79.5)

† : moyenne des deux répétitions

de Freundlich (2.1) avec  $n_{fa} = 1$  (Calvet, 1989), ce qui nous permet le calcul du coefficient de partage normalisé par rapport à la teneur en CO,  $K_{oc}$ . Les valeurs de  $K_d$  obtenues varient dans le même sens que les valeurs de  $K_{fa}$ , et on constate que les valeurs des  $K_{oc}$ , pour les trois molécules dans les deux sols acides (MV6 et MS5), sont de deux à six fois supérieures à celles obtenues pour les sols à pH alcalin (de 24.6 à 58.5 pour MG8 et WG8, et de 47.2 à 354.5 pour MV6 et MS5).

D’après la classification proposée par Giles *et al.*(1960) toutes les isothermes d’adsorption obtenues sont de type-L ( $n_{fa} < 1$ ), ce qui signifie une diminution des sites d’adsorption disponibles quand la concentration de la solution augmente. Ceci peut être également interprété par une adsorption sans compétition avec les molécules du solvant. Des résultats similaires ont été obtenus par Barriuso *et al.* (1992) et Celis *et al.* (1998) .

Le paramètre  $n_{fa}$  traduit la courbure de l’isotherme et donne une indication de l’affinité du composés pour la surface (Giles *et al.*, 1960 ; Calvet, 1989). Les  $n_{fa}$  obtenus pour la DEA, l’ATR, et l’HO-ATR sont similaires, excepté pour l’HO-ATR dans les sols MV6 et MS5 qui présente des valeurs significativement plus faibles qui indiquent une affinité plus importante. Ceci tend à indiquer une adsorption impliquant des mécanismes différents pour l’HO-ATR dans les deux sols acides. En effet, le  $pK_a$  de l’HO-ATR étant assez proche des valeurs du pH des sols MV6 et

MS5 comparé aux  $pK_a$  de la DEA et de l'ATR ( $pK_a(\text{DEA})=1.7$ ,  $pK_a(\text{ATR})=1.7$  et  $pK_a(\text{HO-ATR})=5.2$ ), l'HO-ATR est partiellement protonée. Ceci favorise l'adsorption de l'HO-ATR par interactions ioniques avec les groupements acides de la matière organique. McGlamery et Slife (1966) ont expliqué des résultats similaires pour l'atrazine, par la protonation des groupements amino. Le paramètre  $K_{fa}$  augmente dans l'ordre  $\text{DEA} < \text{ATR} < \text{HO-ATR}$  pour les quatre sols, ce qui est en accord avec les résultats de Mersie et Seybold (1996), et dans l'ordre  $\text{MG8} \approx \text{WG8} < \text{MV6} < \text{MS5}$  pour les trois composés.

Ces résultats confirment l'augmentation de l'adsorption quand le pH se rapproche du  $pK_a$  du composé (Armstrong et Chesters, 1968 ; Weber *et al.*, 1969). Ceci peut s'expliquer par une protonation partielle des molécules de DEA, d'ATR et d'HO-ATR qui favorise les interactions ioniques entre les molécules et les groupements carboxyliques et phénoliques de la matière organique (Senesi et Testini, 1983). Cet effet est particulièrement sensible pour l'HO-ATR dans les sols MV6 et MS5 qui ont des pH proches de son  $pK_a$ . Des résultats comparables ont été obtenus par Clay et Koskinen (1990).

Par ailleurs, l'adsorption des trois molécules augmente quand la teneur en carbone organique (CO) augmente, ce qui confirme les résultats obtenus par Walker et Crawford (1968) et Laird *et al.* (1994) montrant que la matière organique est la principale cause de l'adsorption de l'atrazine dans les sols. Celis *et al.* (1998) ont aussi observé un effet positif du CO sur l'adsorption de l'atrazine par ajout de boues de station d'épuration sur un sol, ayant pour effet d'augmenter la teneur en carbone organique et l'adsorption.

### 2.3.2 Caractérisation de la désorption

Pour la DEA et l'ATR, les quantités cumulées désorbées augmentent rapidement au cours des premières désorptions successives puis atteignent un plateau pour les sols MG8, WG8 et MV6

(Figure 2.2). Les quantités de DEA et d'ATR désorbées après 6 désorptions sont faibles par rapport aux quantités désorbées lors des premières désorptions. Pour le sol MS5, les quantités cumulées n'atteignent pas de plateau. Les quantités désorbées après plusieurs désorptions restent importantes par rapport aux premières désorptions pour MS5.

Pour l'HO-ATR, les résultats sont comparables à ceux de la DEA et de l'ATR pour MG8 et WG8, et l'allure de la courbe représentant les quantités cumulées désorbées pour MV6 est comparable à celle de la DEA et de l'ATR pour le sol MS5.

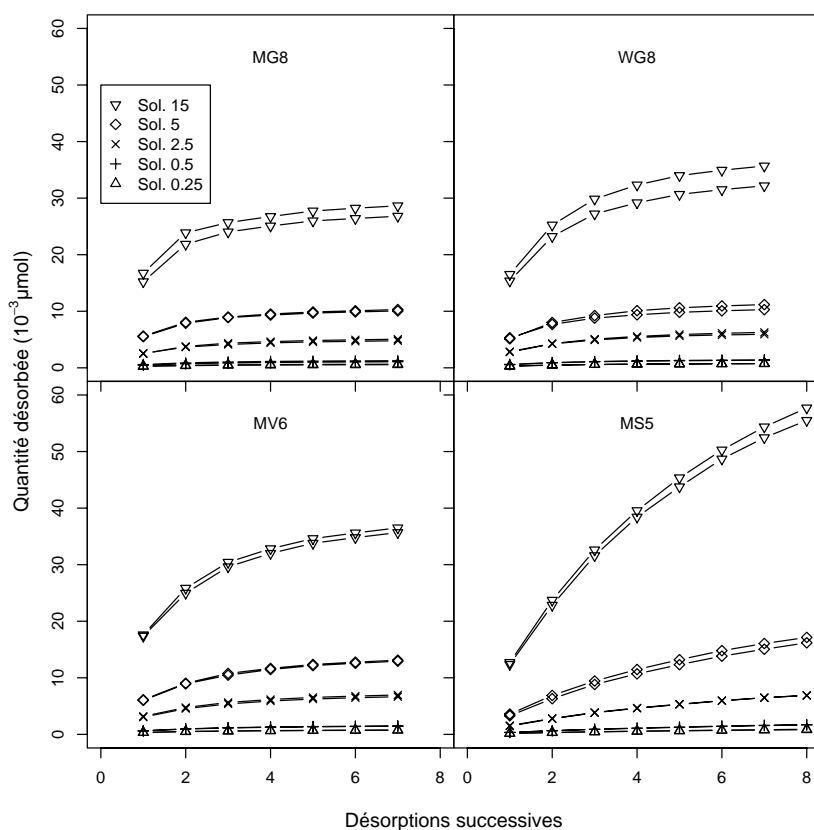


FIG. 2.2 – Quantités cumulées désorbées au cours des désorptions successives pour les quatre sols (exemple de l'atrazine)

Les quantités totales désorbées, exprimées en % des quantités initialement adsorbées, sont comprises entre 53 et 78 % pour la DEA, 67 et 86 % pour l'ATR, et 38 et 80 % pour l'HO-ATR (Tableau 2.3). Pour l'atrazine, les trois extractions supplémentaires réalisées avec du méthanol après les désorptions successives ont permis d'extraire de 5 à 21 % supplémentaires d'ATR



adsorbée selon le sol et la concentration initiale de la solution utilisée.

TAB. 2.3 – Quantités de dééthyl-atrazine, d'atrazine, et d'hydroxy-atrazine désorbées pour les quatre sols et les cinq solutions initiales de concentrations différentes

Sol <sup>n</sup> ( $\mu\text{mol.l}^{-1}$ )		Quantités désorbées exprimée en $\mu\text{mol.kg}^{-1}\dagger$ et en (% de l'adsorbée) <sup>‡</sup>					Moyenne (%)
		0.25	0.50	2.50	5.00	15.00	
MG8	DEA	0.09 (53.0)	0.18 (61.9)	0.74 (57.1)	1.43 (60.8)	3.54 (60.9)	(58.7 $\pm$ 3.3) <sup>‡</sup>
	ATR	0.12 (67.1)	0.24 (69.6)	1.02 (66.8)	2.10 (71.7)	5.72 (71.5)	(69.3 $\pm$ 2.1) <sup>‡</sup>
	HO-ATR	0.15 (70.1)	0.28 (67.3)	1.07 (72.6)	2.28 (69.8)	7.35 (75.0)	(71.0 $\pm$ 2.6) <sup>‡</sup>
WG8	DEA	0.12 (73.8)	0.20 (64.1)	0.94 (70.9)	1.81 (75.9)	4.77 (76.6)	(72.3 $\pm$ 4.5) <sup>‡</sup>
	ATR	0.15 (78.6)	0.29 (76.2)	1.26 (76.3)	2.21 (75.5)	6.99 (85.9)	(78.5 $\pm$ 3.8) <sup>‡</sup>
	HO-ATR	0.16 (67.4)	0.34 (72.3)	1.17 (73.7)	2.51 (71.0)	8.50 (80.2)	(72.9 $\pm$ 4.2) <sup>‡</sup>
MV6	DEA	0.13 (75.4)	0.25 (74.3)	1.11 (78.3)	2.12 (77.7)	5.25 (71.8)	(75.5 $\pm$ 2.4) <sup>‡</sup>
	ATR	0.16 (78.4)	0.30 (79.2)	1.39 (82.0)	2.67 (81.5)	7.39 (82.5)	(80.7 $\pm$ 1.6) <sup>‡</sup>
	HO-ATR	0.14 (38.1)	0.30 (40.2)	1.30 (48.2)	3.18 (51.6)	11.48 (57.0)	(47.0 $\pm$ 7.0) <sup>‡</sup>
MS5	DEA	0.21 (57.1)	0.43 (59.2)	1.90 (59.4)	4.01 (63.6)	12.14 (65.7)	(61.0 $\pm$ 3.2) <sup>‡</sup>
	ATR	0.18 (50.5)	0.34 (47.9)	1.38 (54.6)	3.34 (56.3)	11.35 (58.8)	(53.6 $\pm$ 3.9) <sup>‡</sup>
	HO-ATR	0.17 (42.7)	0.36 (44.1)	1.44 (47.6)	3.94 (44.0)	13.79 (58.8)	(47.4 $\pm$ 5.9) <sup>‡</sup>

<sup>†</sup> : moyenne des deux répétitions

<sup>‡</sup> : écart-type

Les pourcentages de DEA désorbée par rapport aux quantités totales adsorbées, sont inférieurs aux pourcentage d'ATR désorbée pour les sols MG8, WG8 et MV6 (Tableau 2.3). Dans le sol MS5, le sol le plus riche en matière organique, on obtient l'inverse : le pourcentage d'ATR désorbée est inférieur au pourcentage de DEA désorbée. Pour l'HO-ATR, on constate que les proportions désorbées sont inférieures pour les deux sols acides comparés aux sols basiques.

Les isothermes de désorption obtenues présentent une hystérésis pour les trois molécules et les quatre sols (Figure 2.3). Le formalisme de Freundlich modifié (équation (2.3)) utilisé pour modéliser les isothermes de désorption permet de ne pas forcer le passage de l'isotherme de désorption par le point (0,0) (Figure 2.4), contrairement au formalisme de Freundlich «classique» (équation (2.1)).

Le modèle (équation 2.3) décrit bien les résultats expérimentaux. En effet, la plupart des  $R^2$  obtenus sont  $\geq 0.95$  (Tableau 2.4, page 57). Les valeurs de Q représentent les quantités non-désorbables. Elles sont du même ordre de grandeur pour la DEA et l'ATR, et inférieures pour l'HO-ATR. Les valeurs de  $K_{fdes}$  représentent les capacités de désorption. On obtient le classement  $K_{fdes}(\text{DEA}) < K_{fdes}(\text{ATR}) < K_{fdes}(\text{HO-ATR})$  pour tous les sols, qui est identique au classement des  $K_{fa}$ . Les valeurs de  $n_{fdes}$  traduisent la courbure des isothermes de désorption ; plus

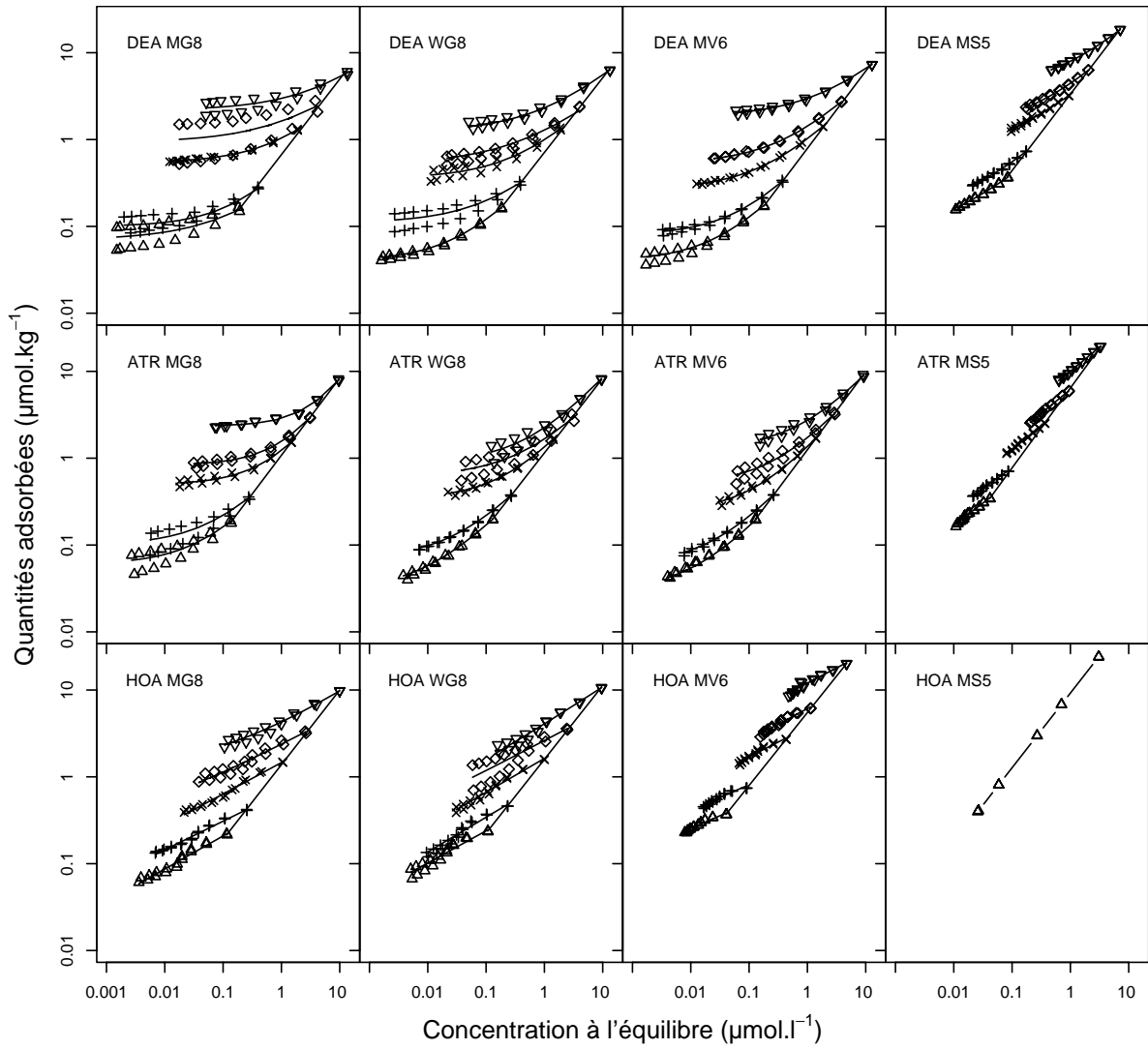


FIG. 2.3 – Isothermes de désorption de la dééthyl-atrazine (DEA), de l'atrazine (ATR) et de l'hydroxy-atrazine (HO-ATR) pour les quatre sols et les cinq solutions initiales

$n_{fdes} \rightarrow 0$ , plus la pente à l'origine augmente. Ces valeurs varient dans l'ordre  $n_{fdes}(\text{HO-ATR}) \ll n_{fdes}(\text{DEA}) < n_{fdes}(\text{ATR})$  dans les sols MG8, WG8, et MV6, et  $n_{fdes}(\text{DEA}) \approx n_{fdes}(\text{ATR})$  dans le sol MS5.

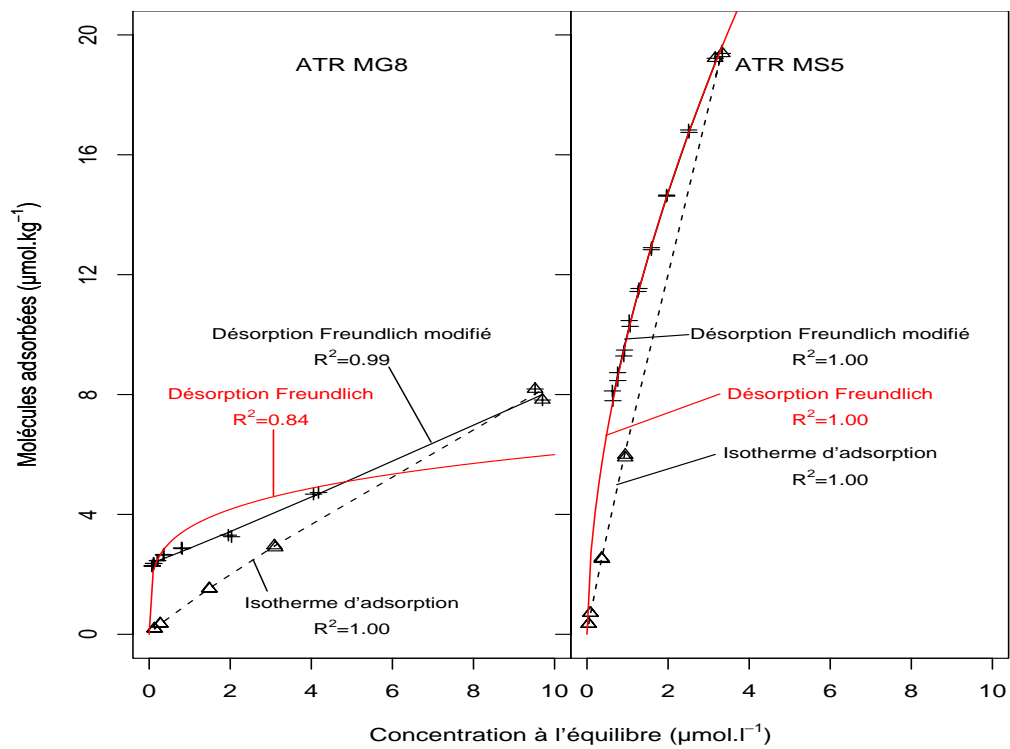


FIG. 2.4 – Comparaison des isothermes de désorptions modélisées selon le formalisme de Freundlich et selon le formalisme de «Freundlich modifié» (exemple de l'atrazine pour les sols MG8 et MS5)

TAB. 2.4 – Paramètres de l'équation de Freundlich modifiée (équation 2.3) utilisée pour modéliser les isothermes de désorption pour les trois molécules, les quatre sols et les cinq solutions de concentrations différentes (valeurs moyennes et écarts-types)

		Sol <sup>n</sup> initiales ( $\mu\text{mol.l}^{-1}$ )	$K_{f_{des}}\dagger$ ( $\mu\text{mol}^{1-n} \cdot \text{l}^n \cdot \text{kg}^{-1}$ )	$n_{f_{des}}\dagger$	$Q\dagger$ ( $\mu\text{mol.kg}^{-1}$ )	$Q\dagger$ (% de l'adsorbé)	R <sup>2</sup>
MG8	DEA	0.25	0.22(0.12)	0.57(0.37)	0.07(0.02)	43.8	0.61
		0.50	0.34(0.06)	0.74(0.18)	0.10(0.01)	35.7	0.89
		2.50	0.49(0.01)	0.68(0.03)	0.54(0.01)	41.5	1.00
		5.00	0.69(0.55)	0.55(0.46)	0.93(0.38)	38.1	0.45
		15.00	0.79(0.32)	0.59(0.14)	2.18(0.24)	37.4	0.90
	ATR	0.25	0.57(0.24)	0.75(0.23)	0.06(0.01)	31.6	0.89
		0.50	0.63(0.16)	0.72(0.23)	0.10(0.03)	28.6	0.88
		2.50	0.72(0.03)	0.89(0.07)	0.50(0.02)	32.9	0.99
		5.00	0.71(0.05)	0.95(0.05)	0.84(0.03)	28.7	0.99
		15.00	0.52(0.06)	1.05(0.05)	2.35(0.06)	29.4	0.99
	HO-ATR	0.25	0.50(0.04)	0.38(0.08)	0.00(0.03)	0.0	0.98
		0.50	0.66(0.02)	0.33(0.06)	0.00(0.04)	0.0	0.99
		2.50	1.44(0.09)	0.37(0.05)	0.02(0.09)	1.4	0.99
		5.00	2.17(0.40)	0.37(0.08)	0.21(0.36)	6.4	0.97
		15.00	3.12(0.51)	0.44(0.05)	1.17(0.44)	12.0	0.99
WG8	DEA	0.25	0.42(0.02)	0.72(0.03)	0.04(<0.01)	25	1.00
		0.50	0.38(0.07)	0.64(0.19)	0.11(0.02)	34.4	0.86
		2.50	0.63(0.05)	0.67(0.09)	0.36(0.04)	27.3	0.99
		5.00	0.76(0.06)	0.65(0.05)	0.52(0.04)	21.8	0.99
		15.00	1.08(0.11)	0.60(0.04)	1.23(0.09)	19.6	0.99
	ATR	0.25	0.70(0.04)	0.70(0.04)	0.03(<0.01)	15.0	1.00
		0.50	0.78(0.02)	0.72(0.03)	0.07(<0.01)	18.9	1.00
		2.50	1.00(0.02)	0.77(0.03)	0.34(0.01)	20.7	1.00
		5.00	1.04(0.28)	0.70(0.79)	0.62(0.19)	21.1	0.90
		15.00	1.35(0.20)	0.75(0.06)	0.90(0.17)	11.1	0.99
	HO-ATR	0.25	0.56(0.07)	0.37(0.14)	0.00(0.05)	0.0	0.95
		0.50	0.86(0.05)	0.40(0.11)	0.00(0.08)	0.0	0.96
		2.50	1.63(0.13)	0.39(0.06)	0.00(0.14)	0.0	0.99
		5.00	2.55(1.01)	0.36(0.18)	0.07(0.93)	2.0	0.88
		15.00	3.87(0.52)	0.44(0.04)	0.21(0.17)	2.0	0.99
MV6	DEA	0.25	0.47(0.05)	0.73(0.06)	0.04(<0.01)	23.5	0.99
		0.50	0.52(0.02)	0.74(0.04)	0.08(<0.01)	24.2	0.99
		2.50	0.75(0.08)	0.69(0.01)	0.27(0.01)	19.1	1.00
		5.00	0.89(0.02)	0.67(0.01)	0.53(0.01)	19.4	1.00
		15.00	1.13(0.08)	0.62(0.03)	1.84(0.06)	25.0	1.00
	ATR	0.25	0.76(0.05)	0.75(0.04)	0.03(<0.01)	15.0	1.00
		0.50	0.87(0.03)	0.75(0.03)	0.06(<0.01)	15.8	1.00
		2.50	1.12(0.02)	0.78(0.03)	0.24(0.02)	14.1	1.00
		5.00	1.22(0.13)	0.76(0.08)	0.50(0.09)	15.2	0.98
		15.00	1.41(0.18)	0.76(0.05)	1.31(0.16)	14.6	0.99
	HO-ATR	0.25	0.97(0.15)	0.29(0.27)	0.00(0.29)	0.0	0.94
		0.50	1.58(0.15)	0.29(0.29)	0.00(0.60)	0.0	0.92
		2.50	3.72(0.91)	0.34(0.19)	0.00(1.16)	0.0	0.96
		5.00	6.11(2.19)	0.36(0.19)	0.00(2.22)	0.0	0.96
		15.00	12.00(6.36)	0.35(0.15)	0.00(6.24)	0.0	0.97
MS5	DEA	0.25	1.22(0.08)	0.57(0.04)	0.07(0.01)	19.4	1.00
		0.50	1.84(0.04)	0.68(0.04)	0.17(0.02)	23.3	1.00
		2.50	2.74(0.18)	0.55(0.07)	0.55(0.20)	17.2	0.99
		5.00	3.12(0.18)	0.65(0.04)	1.33(0.16)	21.1	1.00
		15.00	4.27(0.26)	0.63(0.02)	3.71(0.26)	20.1	1.00
	ATR	0.25	1.77(0.44)	0.51(0.13)	0.00(0.06)	0.0	0.99
		0.50	2.28(0.23)	0.47(0.10)	0.00(0.11)	0.0	0.99
		2.50	4.31(0.12)	0.53(0.09)	0.00(0.30)	0.0	0.99
		5.00	6.18(0.47)	0.55(0.07)	0.00(0.50)	0.0	1.00
		15.00	9.29(0.97)	0.59(0.05)	0.75(0.96)	3.9	1.00

† : les valeurs entre parenthèses sont les écarts-types

Les résultats obtenus nous indiquent des pourcentages de DEA désorbée inférieurs aux pourcentages désorbés d'ATR pour les sols MG8, WG8, et MV6 ayant une teneur en CO similaire. Par contre, pour le sol MS5 plus riche en matière organique, le pourcentage de DEA désorbée est supérieur à celui de l'ATR, ce qui est en accord avec les résultats de Mersie et Seybold (1996) obtenus pour un sol ayant un pH=6.3 et une teneur en carbone organique de 9%. La comparaison des résultats obtenus pour les sols ayant des pH différents ne permet pas de mettre en évidence un effet du pH sur la désorption de la DEA et de l'ATR, contrairement à l'adsorption. Le pH plus faible des sols MV6 et MS5 reste éloigné des valeurs de  $pK_a$  de la DEA et l'ATR pour provoquer une protonation importante des molécules. Cette protonation étant probablement très faible, on ne favorise pas d'interactions ioniques qui diminuerait la désorption de ces composés en favorisant des interactions plus fortes entre les molécules protonées et la matière organique des sols.

Pour l'HO-ATR, les pourcentages désorbés (relativement à l'HO-ATR adsorbée) sont plus faibles pour les sols acides (MV6 et MS5) par rapport aux sols basiques (MG8 et WG8). La comparaison des résultats obtenus pour MG8, WG8 et MV6 permettent de mettre en évidence cet effet pH sur la désorption de l'HO-ATR. Ils confirment les interactions plus fortes mises en jeu entre l'HO-ATR et la matière organique du fait de la protonation partielle des molécules d'HO-ATR favorisant les interactions ioniques.

Les valeurs des  $n_{fdes}$  pour le sol MS5 sont plus faibles pour la DEA et l'ATR par rapport aux trois autres sols. Le coefficient  $n_{fdes}$  représente la courbure des isothermes de désorption, qui est en relation avec l'affinité du composé pour le sol. Plus  $n_{fdes}$  est petit, plus la pente à l'origine des isothermes est importante ( $C_e \rightarrow 0$ ), et plus la pente des isothermes de désorption pour des valeurs élevées de  $C_e$ . Dans les conditions expérimentales de cette étude, ceci se traduit par des désorptions moins efficaces quand  $n_{fdes}$  est petit. Les pourcentages de DEA et d'ATR désorbées sont plus faibles pour MS5 comparé au trois autres sols, et les quantités désorbées

à chaque désorption successive sont du même ordre de grandeur. Ceci peut s'expliquer par la diffusion des molécules de DEA et d'ATR vers des sites d'adsorption à caractère hydrophobe et/ou moins accessibles (d'un point de vue stérique). Le sol MS5 étant plus riche en matière organique par rapport aux trois autres sols, les sites à caractère hydrophobe sont probablement plus nombreux, et la structure colloïdale de la matière organique présente une micro-structure plus importante. Ces sites sont moins accessibles pour la aqueuse et induisent une diminution de la désorption. Cette diffusion des molécules vers des sites à caractère hydrophobe (ou dans la micro-structure) est importante pour le sol MS5, et existe également pour les trois autres sols. En effet, les plateaux obtenus pour les quantités désorbées au cours des désorptions successives (Figure 2.2) indiquent que la DEA et l'ATR restant adsorbées sur les sols MG8, WG8 et MV6 sont difficilement désorbables. Les extractions au méthanol réalisées sur les sols traités avec de l'ATR confirment la diffusion des molécules d'atrazine dans des sites peu accessibles pour l'eau, mais accessibles pour des solvants organiques. Clay et Koskinen (1990) ont constaté qu'après une désorption au  $\text{CaCl}_2$   $10^{-2}\text{M}$ , l'atrazine restant adsorbée était totalement extraite avec du méthanol, alors qu'après un cycle de cinq désorptions successives, l'atrazine restant adsorbée ne pouvait être complètement extraite avec du méthanol, de 5.5 à 15.5 % restaient non-extractibles au méthanol. Ceci tend à confirmer une diffusion de l'ATR vers des sites moins accessibles au cours du processus de désorption. Celis *et al.*(1997) ont également observé une désorption de l'ATR plus faible quand elle est adsorbée sur des acides humiques par rapport à de l'ATR adsorbée sur une montmorillonite, du fait de la contribution d'interactions de type hydrophobe. Piccolo *et al.* (1998) ont montré une désorption plus faible de l'atrazine pour des substances humiques à caractère hydrophobe comparée à des substances humiques moins hydrophobes. Walker and Crawford (1968) ont également expliqué l'adsorption des triazines par la matière organique des sols, par la contribution de sites à caractère hydrophobe.

Pour l'HO-ATR, les valeurs des  $n_{fdes}$  sont systématiquement plus faibles que ceux de la DEA

et de l'ATR, indiquant donc une désorption moins efficace. Ce qui est à mettre en relation avec des interactions HO-ATR/MOS plus fortes.

Les quantités non-désorbables  $Q$  calculées nous indiquent une réversibilité de l'adsorption plus importante pour l'HO-ATR que pour la DEA et l'ATR, ce qui peut paraître en contradiction avec des interactions HO-ATR/MOS plus fortes comparativement aux interactions DEA ou ATR/MOS. Une hypothèse pour lever cette contradiction est de considérer l'accessibilité des sites d'adsorption. En effet, on peut penser que les sites d'adsorption de l'HO-ATR sont plus accessibles aux solvants aqueux que les sites d'adsorption de la DEA et de l'ATR. Cette différence d'accessibilité pouvant s'expliquer par un caractère plus hydrophile des sites d'adsorption de l'HO-ATR comparé à un caractère plus hydrophobe des sites d'adsorption de la DEA et de l'ATR, du fait de conformations moléculaire différentes (Chassin et Calvet, 1985).

Celis *et al.* (1997) ont émis l'hypothèse qu'une protonation de l'atrazine et de la simazine pouvait provoquer un mouvement des molécules adsorbées sur des sites à caractère hydrophobe vers des sites à caractère hydrophile. Ceci tend à confirmer l'adsorption préférentielle de l'HO-ATR sur des sites à caractère hydrophile plus accessibles pour une désorption à l'eau pour les sols MV6 et MS5 dont les pH sont proches du  $pK_a$  de cette molécule. Ainsi, pour la DEA et l'ATR, on peut supposer une première étape d'adsorption des molécules sur des sites facilement accessibles, suivi d'une diffusion de celles-ci vers des sites d'adsorption à caractère hydrophobe et moins accessibles. L'HO-ATR quant à elle s'adsorberait sur des sites plus accessibles à caractère hydrophile, avec des interactions plus fortes comparées à la DEA et à l'ATR (Figure 2.5).

Lors de la désorption, les molécules de DEA et d'ATR adsorbées sur des sites à caractère hydrophile sont facilement désorbées. Puis les molécules ayant diffusé vers des sites à caractère hydrophobe sont difficilement désorbées (plateau obtenu sur les courbe de la figure 2.2). Les interactions HO-ATR/MOS étant plus intenses, la désorption de l'HO-ATR est moins efficace. Cependant, les sites d'adsorption de l'HO-ATR ayant un caractère hydrophile, des désorptions

successives peuvent permettre de désorber de plus grande proportion d'HO-ATR par rapport à l'HO-ATR initialement adsorbée.

On peut proposer un classement pour la facilité de désorption selon l'ordre : (DEA/ATR adsorbée sur sites hydrophiles) > (HO-ATR adsorbée sur sites hydrophiles) > (DEA/ATR adsorbée sur sites hydrophobes).

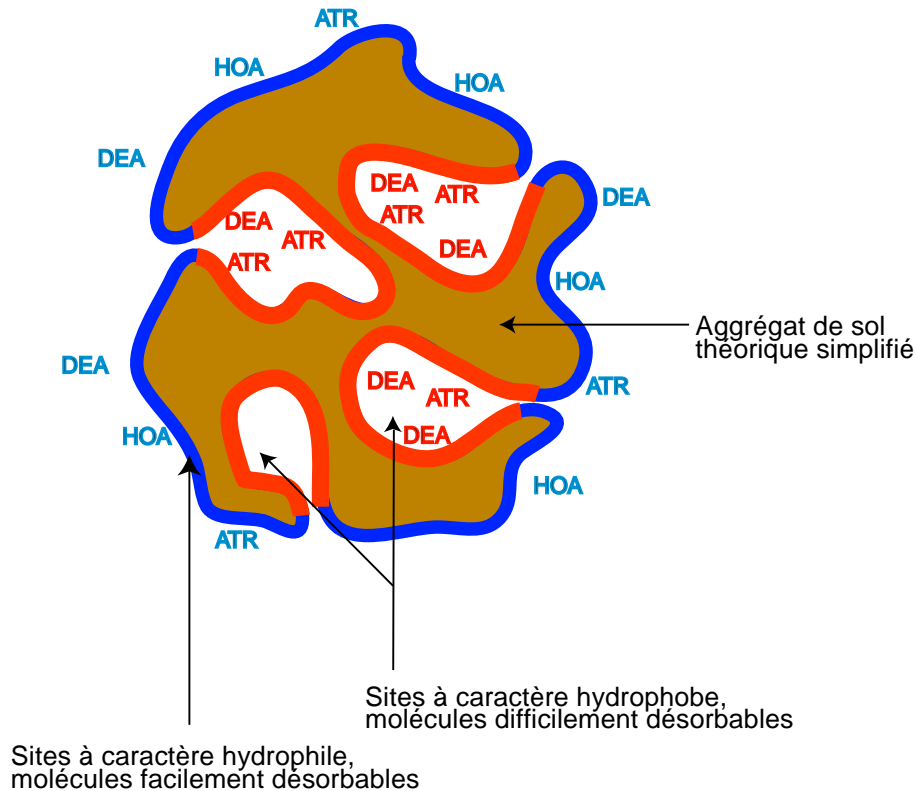


FIG. 2.5 – Schéma hypothétique de la DEA, de l'ATR et de l'HO-ATR adsorbée sur des sites à caractère hydrophiles et/ou hydrophobes

L'HO-ATR s'adsorbe plus que la DEA et l'ATR, avec des interactions avec la matière organique plus forte que la DEA et que l'ATR, et sur des sites d'adsorption qui semblent plus accessibles. Ainsi, d'un point de vue environnemental, les quantités de DEA et d'ATR lixiviables à court terme sont supérieures à celles d'HO-ATR, ce qui est en accord avec les résultats de Schiavon (1988). A long terme, l'adsorption forte de l'HO-ATR permet sa meilleure préservation dans le sol. Schiavon et Soulas (1983) ont constaté qu'un an après leur application au champs dans des mini-lysimètres, plus de 70 % des résidus d'HO-ATR étaient extractibles au Soxhlet



(80/20 v/v méthanol/eau), contre seulement 26 % pour la DEA et 38 % pour l'ATR, confirmant ainsi la meilleure préservation de l'HO-ATR par rapport à la DEA et à l'ATR à long terme. Ces résultats confirment également la diffusion de la DEA et de l'ATR dans la micro-structure colloïdale de la matière organique.

### 2.3.3 Effet du vieillissement sur la désorption de la DEA, de l'ATR et de l'HO-ATR

Les quantités de DEA et d'ATR désorbées après 55, 226, et 400 jours d'incubation diminuent pour les quatre sols (Figure 2.6). Pour l'HO-ATR, on observe une diminution des quantités désorbées pour MV6, et une stabilité pour WG8 et MS5. Pour le sol MG8, l'HO-ATR n'a pas été détectée dans les extraits aqueux.

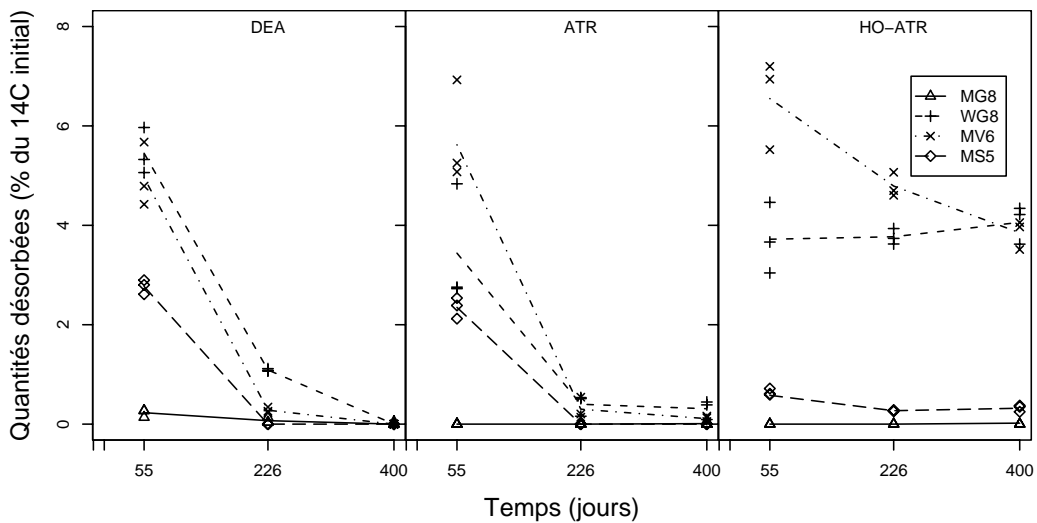


FIG. 2.6 – Evolution des quantités de DEA, d'ATR, et d'HO-ATR désorbées au cours du temps

Les  $C_e$  mesurées et les  $x/m$  calculés pour les trois composés aux trois pas de temps permettent de calculer les isothermes de désorption après incubation et de les comparer avec les isothermes obtenus sans incubation et appelés isothermes à  $t=0$  (Figure 2.7). Les gammes de concentrations obtenues après incubation sont plus faibles que celles avant incubation. Certaines isothermes n'ont pu être obtenues soit car la molécule concernée n'a pas été identifiée dans les extraits aqueux,

soit parce qu'après une ou deux désorption, la concentration des surnageants était négligeable.

Les isothermes de la DEA et de l'ATR obtenues après 226 et 400 jours d'incubation présentent des  $x/m$  plus faibles que celles obtenues après 55 jours d'incubation, alors que c'est l'inverse pour l'HO-ATR.

Le paramètre  $K_{fdes}$  calculé pour la DEA et l'ATR, qui traduit la capacité de désorption, diminue dans les quatre sols, au cours des trois pas de temps étudiés (Figure 2.8). Pour l'HO-ATR,  $K_{fdes}$  est constant dans les sols WG8 et MS5, et diminue dans le sol MV6.

Les valeurs des  $n_{fdes}$  calculées pour la DEA et l'ATR diminuent sensiblement à partir de 55 jours par rapport aux valeurs calculées à  $t=0$ . Dans le cas de l'HO-ATR, on observe une diminution des valeurs de  $n_{fdes}$  dans le sol WG8 jusqu'à 226 jours d'incubation, et dans le sol MV6 on constate une diminution seulement à partir de 226 jours d'incubation.

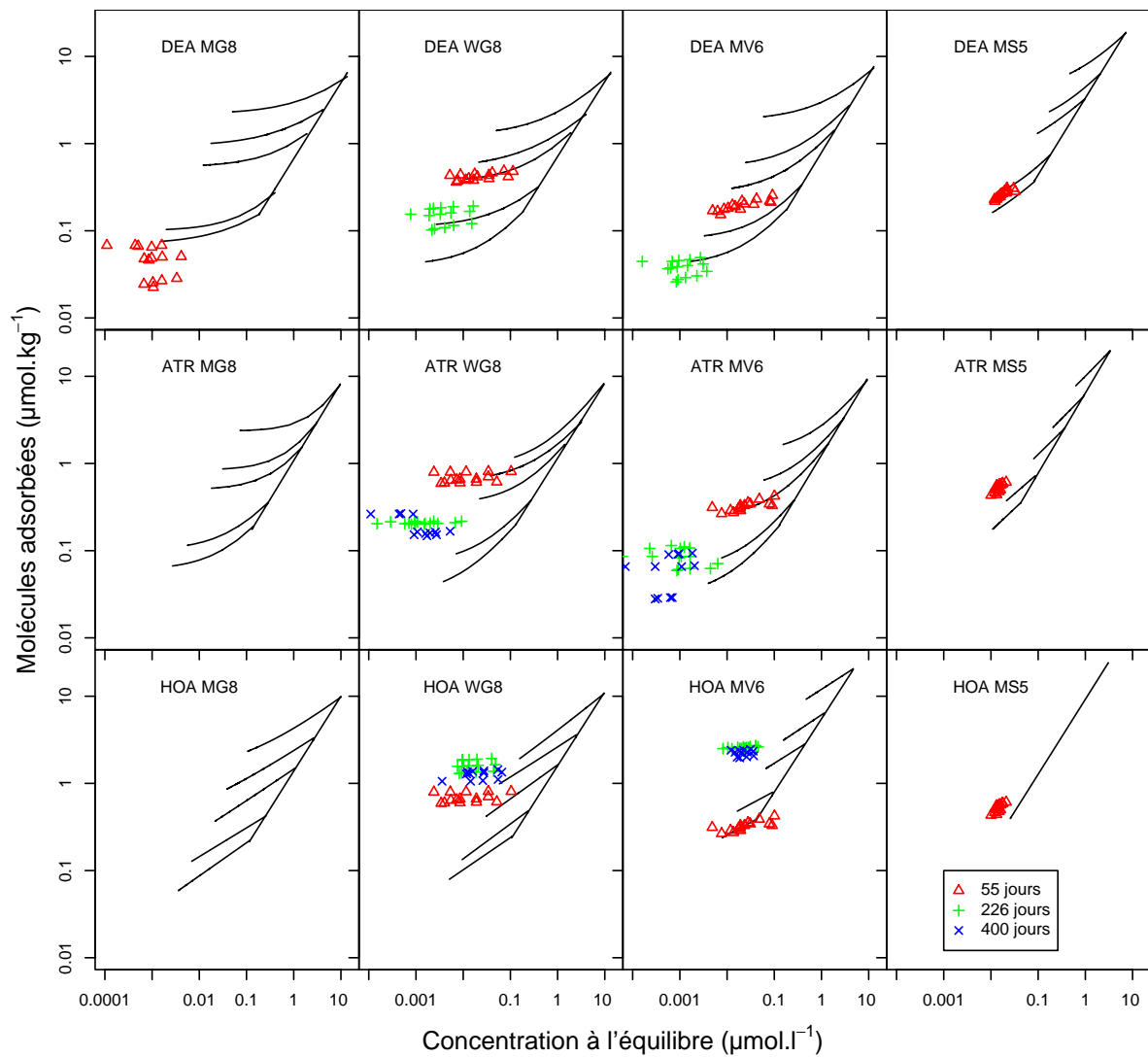


FIG. 2.7 – Isothermes de désorption de la DEA, de l'ATR, et de l'HO-ATR après 55, 226, et 400 jours d'incubation pour les quatre sols (les lignes représentent les isothermes obtenues sans incubation, et les points représentent les isothermes après incubation (trois répétitions))

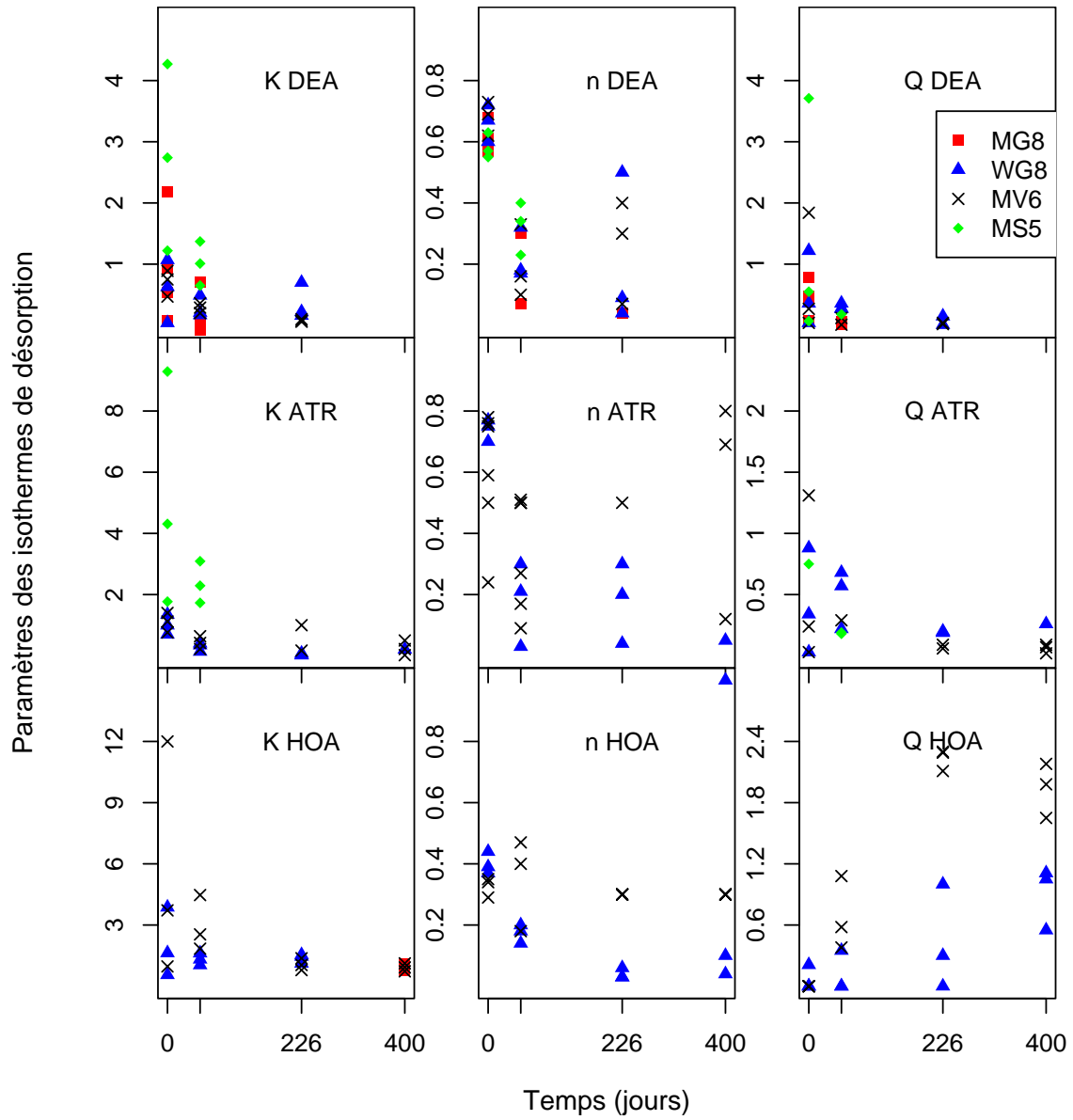


FIG. 2.8 – Evolution des paramètres  $K_{f_{des}}$ ,  $n_{f_{des}}$  et  $Q$  des isothermes de désorption de la DEA, de l'ATR et de l'HO-ATR au cours du temps

Les valeurs de  $Q$  calculées par le modèle pour la DEA et l'ATR diminuent au cours des trois pas de temps étudiés. Pour l'HO-ATR on observe une augmentation jusqu'à 226 jours dans les sols WG8 et MV6. Ces variations de  $Q$  traduisent bien l'évolution pour les trois molécules des quantités non-désorbables (*i.e.* somme des résidus extractibles au méthanol et des résidus liés pour chacune des trois molécules)(Tableau 2.5). Les pourcentages de DEA, d'ATR et d'HO-ATR par rapport aux quantités totales retenues (*i.e.* somme des résidus désorbables et des résidus non-désorbables) augmentent pour les trois molécules dans les quatre sols au cours du temps (Tableau 2.5).

Bien que l'évolution des valeurs de  $Q$  traduisent correctement l'évolution des quantités non-désorbables, elles ne permettent pas de prédire convenablement les quantités de composés mesurées (*i.e.* somme de la DEA ou de l'ATR ou de l'HO-ATR mesurée lors des des extractions au  $\text{CaCl}_2$   $10^{-2}$  M, au méthanol et lors du fractionnement chimique (cf. Chapitre 3)) (Figure 2.9).

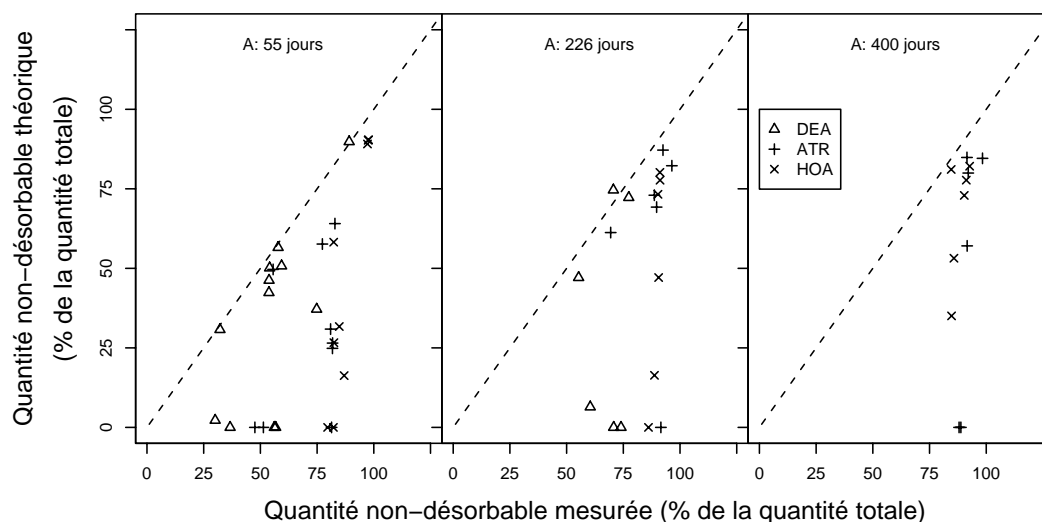


FIG. 2.9 – Comparaison des valeurs des quantités non-désorbables ( $Q$ ) calculées à partir les isothermes de désorption après incubation par rapport aux valeurs de  $Q$  mesurées pour la DEA, l'ATR et l'HO-ATR dans les quatre sols

Pour l'HO-ATR dans le sol MV6 après 55, 226 et 400 jours d'incubation, la gamme de concentration à l'équilibre obtenue après la première désorption est du même ordre de grandeur que la gamme de concentration obtenue après la première désorption pour les échantillons non-

TAB. 2.5 – Evolution des quantités et des pourcentages des quantités totales initialement adsorbées de DEA, d'ATR, et d'HO-ATR non-désorbables au cours du temps (moyenne des trois répétitions et écarts-types)

		Temps (jours)	MG8	WG8	MV6	MS5
% du $^{14}\text{C}$ -appliqué	DEA	55	$0.8 \pm 0.4$	$6.4 \pm 0.6$	$2.4 \pm 0.1$	$3.7 \pm 0.1$
		226	$0.2 \pm 0.0$	$2.5 \pm 0.7$	$0.6 \pm 0.2$	$0.3 \pm 0.2$
		400	$< 0.1 \pm 0.0$	$0.4 \pm 0.2$	$1.2 \pm 1.9$	$0.9 \pm 0.1$
	ATR	55	$4.0 \pm 0.4$	$14.1 \pm 2.2$	$5.9 \pm 0.4$	$10.3 \pm 1.1$
		226	$1.6 \pm 0.1$	$4.3 \pm 0.1$	$1.7 \pm 0.5$	$2.3 \pm 0.3$
		400	$1.5 \pm 0.0$	$3.9 \pm 1.3$	$1.3 \pm 0.7$	$1.1 \pm 0.6$
	HO-ATR	55	$9.8 \pm 0.9$	$17.1 \pm 0.3$	$34.2 \pm 2.2$	$24.6 \pm 0.7$
		226	$12.6 \pm 2.2$	$29.5 \pm 5.2$	$47.7 \pm 0.9$	$34.5 \pm 3.6$
		400	$14.6 \pm 0.8$	$23.1 \pm 2.9$	$41.2 \pm 3.9$	$30.8 \pm 2.2$
% de la carb-DEA (ou ATR ou HO-ATR) totale	DEA	55	$73.9 \pm 15.7$	$53.9 \pm 0.2$	$33.0 \pm 3.4$	$57.4 \pm 1.7$
		226	$73.5 \pm 19.3$	$68.3 \pm 7.1$	$67.8 \pm 7.1$	$67.8 \pm 11.3$
		400	$100. \pm 0.0$	$100. \pm 0.0$	$100. \pm 0.0$	$100. \pm 0.0$
	ATR	55	$100. \pm 0.0$	$80.7 \pm 2.9$	$51.5 \pm 4.0$	$81.4 \pm 0.4$
		226	$100. \pm 0.0$	$91.6 \pm 4.2$	$84.5 \pm 13.1$	$100. \pm 0.0$
		400	$99.3 \pm 0.6$	$91.7 \pm 5.8$	$91.7 \pm 0.3$	$100. \pm 0.0$
	HO-ATR	55	$100. \pm 0.0$	$82.2 \pm 2.6$	$83.9 \pm 2.6$	$97.5 \pm 0.2$
		226	$100. \pm 0.0$	$88.5 \pm 2.3$	$90.9 \pm 0.5$	$99.2 \pm 0.1$
		400	$99.9 \pm 0.2$	$85.0 \pm 0.7$	$91.4 \pm 1.2$	$99.0 \pm 0.2$

incubés. Ceci permet de comparer l'évolution du coefficient de partage  $K_d$  au cours du temps par rapport à son évolution en fonction de la concentration à l'équilibre. En effet, les désorptions réalisées sur les échantillons avant incubation permettent de calculer des  $K_d$  après la première désorption notés  $K_{d\ 24h}$  (*i.e.*  $K_{d\ 24h} = (x/m)_{24h}/C_{e\ 24h}$ ). On obtient alors la relation  $K_{d\ 24h} = f(C_{e\ 24h})$  (Figure 2.10). Ceci précise l'effet concentration sur les valeurs de  $K_d$  qui augmente quand la concentration diminue.

Au cours des incubations, les concentrations des différents composés diminuent en raison des phénomènes de dégradation. Cette diminution des concentrations implique une augmentation des valeurs des coefficients d'adsorption  $K_d$  apparents. Cette augmentation peut théoriquement être déduite des variations représentées dans la figure 2.10. Ainsi, après 55, 226 et 400 jours d'incubation, les concentrations à l'équilibre mesurées pour l'HOA dans le sol MV6 après la première désorption permettent une estimation du  $K_{d\ 24h}$  théorique après incubation par «lecture graphique» grâce à la relation  $K_{d\ 24h} = f(C_{e\ 24h})$ . On compare ensuite les  $K_{d\ 24h}$  théorique après incubation aux  $K_{d\ 24h\ mesuré}$  calculés pour les trois dates comme suit :  $K_{d\ 24h\ mesuré} =$

$(x/m)_{24h\ mesuré}/C_{e\ 24h\ mesuré}$ . On constate alors que l'on sous-estime la valeur des  $K_{d\ 24h\ mesuré}$  après incubation en utilisant la relation  $K_{d\ 24h} = f(C_{e\ 24h})$  (Figure 2.11). L'augmentation de l'adsorption au cours du temps n'est pas uniquement due à la diminution de la concentration au cours de l'incubation.

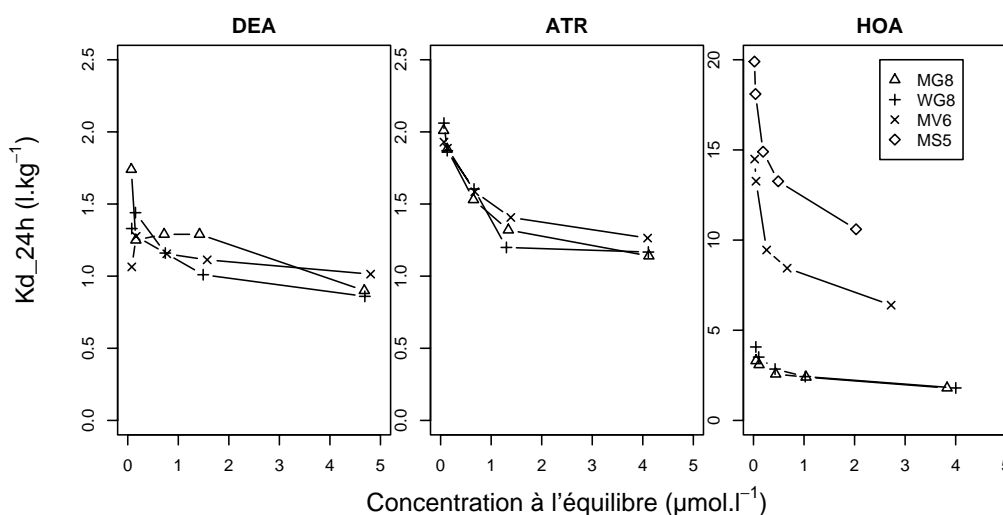


FIG. 2.10 – Relation entre le coefficient de partage calculé à partir de la première désorption et la concentration mesurée à l'équilibre ( $K_{d\ 24h} = f(C_{e\ 24h})$ ) pour les trois molécules et les quatre sols non-incubés

Les résultats obtenus pour les isothermes de désorption à 55, 226, et 400 jours d'incubation permettent de constater que les valeurs de  $n_{fdes}$  diminuent au cours du temps. Des résultats de même nature ont été obtenus par Barriuso *et al.* (1992). McCall et Agin (1985) ont montré que les quantités de picloram désorbées diminuent quand le temps de résidence du produit dans le sol augmente. Les auteurs ont expliqué cette diminution de la désorption au cours du temps par la diffusion des molécules de picloram vers des sites moins accessibles pour la désorption. Rijnaarts *et al.* (1990) ont montré que la minéralisation de l' $\alpha$ -hexachlorocyclohexane est ralentie par sa diffusion à l'intérieur des agrégats de sol, et qu'elle est également limitée par la désorption de cette molécule. Scow et Alexander (1992) ont montré par des expériences avec des agrégats synthétiques de kaolinite, que la vitesse et le taux de minéralisation du phénol et du glutamate étaient diminués par la diffusion des molécules à l'intérieur des agrégats. Radosevich *et al.* (1997)

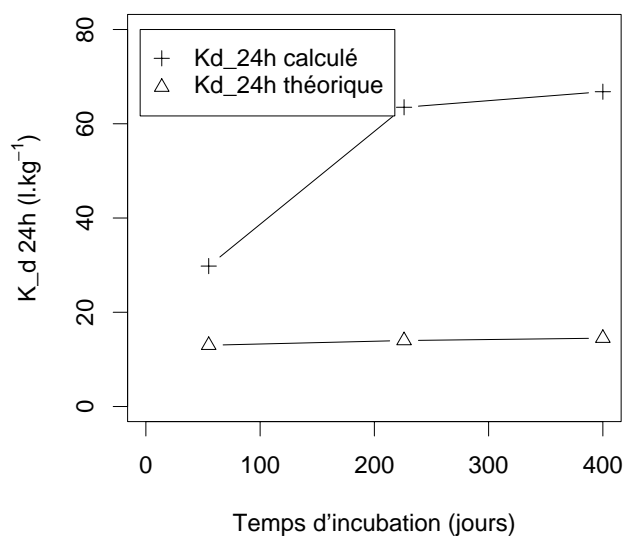


FIG. 2.11 – Comparaison des  $K_d$  24h théoriques (calculées à partir de la première désorption) et des  $K_d$  24h après incubation pour l'HO-ATR dans le sol MV6 aux trois dates

ont montré que le taux de minéralisation de l'atrazine diminuait quand le temps de résidence de l'atrazine dans le sol augmente. Ces auteurs ont suggéré que la diffusion de l'atrazine dans des micropores du sol était responsable de la diminution de sa bio-disponibilité pour les micro-organismes. Lehmann *et al.* (1990) ont pu constater une augmentation du  $K_{OC}$  de désorption du fluroxypyr et de deux de ses métabolites (la méthoxy pyridine et le pyridinol) au cours du temps. Ces auteurs ont également montré que l'augmentation du  $K_{OC}$  n'était pas dû à une diminution de la concentration de la molécule en solution et ont conclu que ces molécules deviennent plus fortement retenues quand le temps d'incubation augmente.

On peut donc penser que la diminution des valeurs de  $n_{fdes}$  obtenue pour la DEA, l'ATR, et l'HO-ATR indiquent que les molécules restant adsorbées après incubation sont plus difficilement désorbables qu'en absence d'incubation. Ceci confirme l'hypothèse émise sur la diffusion des molécules initialement adsorbées sur des sites facilement accessibles vers des sites moins accessibles.



La prédiction des quantités de DEA, d'ATR et d'HO-ATR non-désorbables après incubation ne semble pas possible par de simples désorption puis extrapolation des résultats obtenus en batch (*i.e.*, expérience d'adsorption/désorption sans incubation). En effet, l'application d'un modèle du type Freundlich modifié sur les isothermes de désorption après incubation ne permet une bonne estimation des quantités non-désorbables, et l'utilisation de la relation  $K_{d\ 24h} = f(C_{e\ 24h})$  sous estime les valeurs du coefficient de partage après incubation car elle ne tient pas compte d'autres phénomènes que la diminution de la concentration.

## 2.4 Conclusion

Les objectifs étaient d'une part de caractériser l'adsorption et la désorption de l'atrazine et de deux de ses principaux métabolites que sont la dééthyl-atrazine et l'hydroxy-atrazine, considérant ces phénomènes comme l'étape première du devenir de ces composés dans le sol. On constate alors que l'adsorption augmente dans l'ordre  $DEA < ATR < HO-ATR$  pour les quatre sols, et dans l'ordre  $MG8 \approx WG8 < MV6 < MS5$  pour les trois composés. Les mécanismes d'adsorption de la DEA et de l'ATR semblent être similaires, et leur adsorption augmente avec la teneur en carbone organique. L'adsorption de l'HO-ATR est plus élevée les sols MV6 et MS5 qui ont des pH proches du  $pK_a$  de la molécule.

Les pourcentages de DEA et d'ATR désorbées diminuent quand la teneur en carbone organique augmente, et elle n'est pas influencée par le pH. La désorption de l'HO-ATR diminue quand le pH est proche de la valeur du  $pK_a$  de la molécule. Les molécules de DEA et d'ATR adsorbées semblent diffuser vers des sites à caractère hydrophobe empêchant une désorption complète. Les interactions HO-ATR/MOS semblent être plus fortes que les interactions DEA-ATR/MOS, mais les sites d'adsorption de l'HO-ATR sont plus accessibles que les sites d'adsorption de la DEA et de l'ATR du fait d'un caractère probablement plus hydrophile.

L'intensité de la désorption dépend donc du type d'interaction(s) mise(s) en jeu entre les

molécules et la matière organique des sols, mais aussi de l'accessibilité des sites d'adsorption pour le solvant utilisé pour la désorption.

D'autre part, les pourcentages de composés désorbés diminuent quand leur temps de résidence dans le sol augmente. Cette diminution des pourcentages désorbés par rapport aux quantités initiales adsorbées en proportion au cours du temps confirme la diffusion des molécules dans des sites moins accessibles à des solvants ne destructurant pas le sol.

Les résultats indiquent la nécessité de prendre en compte le couplage des phénomènes biologiques et physico-chimiques. En effet, la dégradation biologique de la molécule mère provoque l'apparition de métabolites qui ont des propriétés physico-chimiques différentes. L'apparition de ces métabolites conditionne, ou ré-orienté les autres phénomènes auxquels sont soumis les composés dans le sol, comme la stabilisation par exemple.

## Chapitre 3

# Stabilisation de l'atrazine : caractérisation des résidus liés formés et mécanismes impliqués dans leur formation

### 3.1 Introduction

Les mécanismes physico-chimiques responsables de la rétention des polluants sur les constituants du sol débutent par l'adsorption qui est un phénomène réversible. Les interactions mises en jeu peuvent évoluer dans le temps vers des interactions moins réversibles, les produits initialement désorbables voient leur extractibilité diminuer. Enfin, cette évolution des interactions culmine avec la formation de résidus non-extractibles, appelés aussi «résidus liés». Contrairement aux autres processus de dissipation des pesticides (minéralisation, lixiviation, volatilisation), la formation de résidus liés (ou non-extractibles) peut être considéré comme un processus de stabilisation provoquant une augmentation de la persistance des pesticides dans les sols. Les résidus

liés sont définis comme étant «des espèces chimiques provenant de pesticides, . . . , qui ne sont pas extractibles par des méthodes qui ne changent pas de manière significative la nature de ces résidus. Sont exclus de ces résidus non-extractibles les fragments recyclés par voie métabolique conduisant à des produits naturels» (Roberts *et al.*, 1984). «La méthode d'extraction ne doit pas changer substantiellement . . . la matrice» dans laquelle ils persistent (Führ *et al.*, 1998).

La formation de résidus liés concerne tous les produits organiques et varie de quelques % à 90 % de l'apport initial (Khan, 1982 ; Calderbank, 1989 ; Senesi, 1992 ; Dec et Bollag, 1997 ; Gevao *et al.*, 2000 ; Northcott et Jones, 2000) . Les deux principaux mécanismes invoqués pour la formation des résidus liés sont (i) la formation de liaison(s) covalente(s) entre le pesticide et/ou ses dérivés et les constituants des sols ; (ii) la séquestration, ou piégeage physique, du composé et/ou de ses dérivés dans la matrice sol. Quel que soit le mécanisme invoqué, la matière organique des sols est le facteur clé.

La formation de résidus liés diminue la toxicité et la bio-disponibilité des pesticides à court terme, mais le relargage par dégradation microbienne de la matrice et/ou modification physico-chimique de celle-ci (Fuhremann et Lichtenstein, 1978 ; Khan et Ivarson, 1981, 1982 ; Yee *et al.*, 1985 ; Dec et Bollag, 1988 ; Hayar *et al.*, 1997 ; Scheunert et Reuter, 2000), la bio-disponibilité pour les plantes et les rats (Pogany et Pawlizki, 1990 ; Aly et Dauterman, 1992a, 1992b ; Matthew *et al.*, 1998 ; Johnson *et al.*, 1999 ; Scheunert et Reuter, 2000), l'absorption par les plantes (Fuhremann et Lichtenstein, 1978 ; Kloskowski *et al.*, 1986 ; Pogany et Pawlizki, 1990 ; Dec *et al.*, 1997), et l'absorption par les vers de terre (Fuhremann et Lichtenstein, 1978) ont été démontrés. Bien que cette disponibilité soit généralement faible (jusqu'à quelques pourcents des résidus liés), ceci indique une réversibilité de la stabilisation. Cette réversibilité est susceptible de provoquer des contaminations à long terme impliquant de faibles concentrations de la molécule mère et/ou de ses métabolites. Il est donc nécessaire de mieux caractériser ces résidus liés, ainsi que les mécanismes impliqués dans leur stabilisation pour mieux estimer le(s) risque(s) potentiel(s) qu'ils

représentent.

C'est dans ce but qu'ont été utilisées des techniques de fractionnement granulométrique et chimique sur des résidus liés formés dans quatre sols au cours d'incubation avec de la  $^{14}\text{C}$ -atrazine (Chapitre 1). Le fractionnement granulométrique permet la séparation de fractions de taille différente ainsi que la séparation de la matière organique fraîche de la matière organique humifiée (Barriuso *et al.*, 2000). La première est localisée dans les fractions  $> 50 \mu\text{m}$  et est constituée de débris végétaux et animaux (Duchaufour, 1997). La seconde est localisée dans les fractions fines ( $< 20 \mu\text{m}$ ) et est le résultat du processus d'humification. Ce processus consiste en la dégradation partielle et la réorganisation de la matière organique fraîche en molécules de plus en plus complexes. Le fractionnement chimique permet la solubilisation de ces composés humiques, ainsi que la solubilisation des résidus liés qui leurs sont associés. Ce fractionnement chimique nous permet d'une part d'identifier les résidus liés solubilisés, et d'autre part de discuter *a posteriori* les mécanismes impliqués dans leur stabilisation.

D'autres techniques peuvent être utilisées pour l'étude des résidus liés mais elles possèdent des inconvénients majeurs. La RMN (Résonance Magnétique Nucléaire) du  $^{13}\text{C}$  nécessite des échantillons riches en carbone organique ainsi que des concentrations en résidus liés très élevées (Benoit et Preston, 2000). Les «tests immunologiques» appliqués directement aux résidus liés ont été proposés mais des doutes subsistent quant à leur sélectivité et leur résultats quantitatifs (Weller *et al.*, 1999). Une autre voie consiste à solubiliser la matière organique et les résidus liés qui lui sont associés pour caractériser ces derniers. Si plusieurs travaux ont permis d'étudier la répartition de la radioactivité correspondant à des résidus liés dans différentes fractions chimiques (Schiavon *et al.*, 1977; Andreux *et al.*, 1991; Xie *et al.*, 1997; Barriuso *et al.*, 2000), aucun à notre connaissance n'a permis la caractérisation des résidus liés solubilisés ou récupérés avec ces fractions.

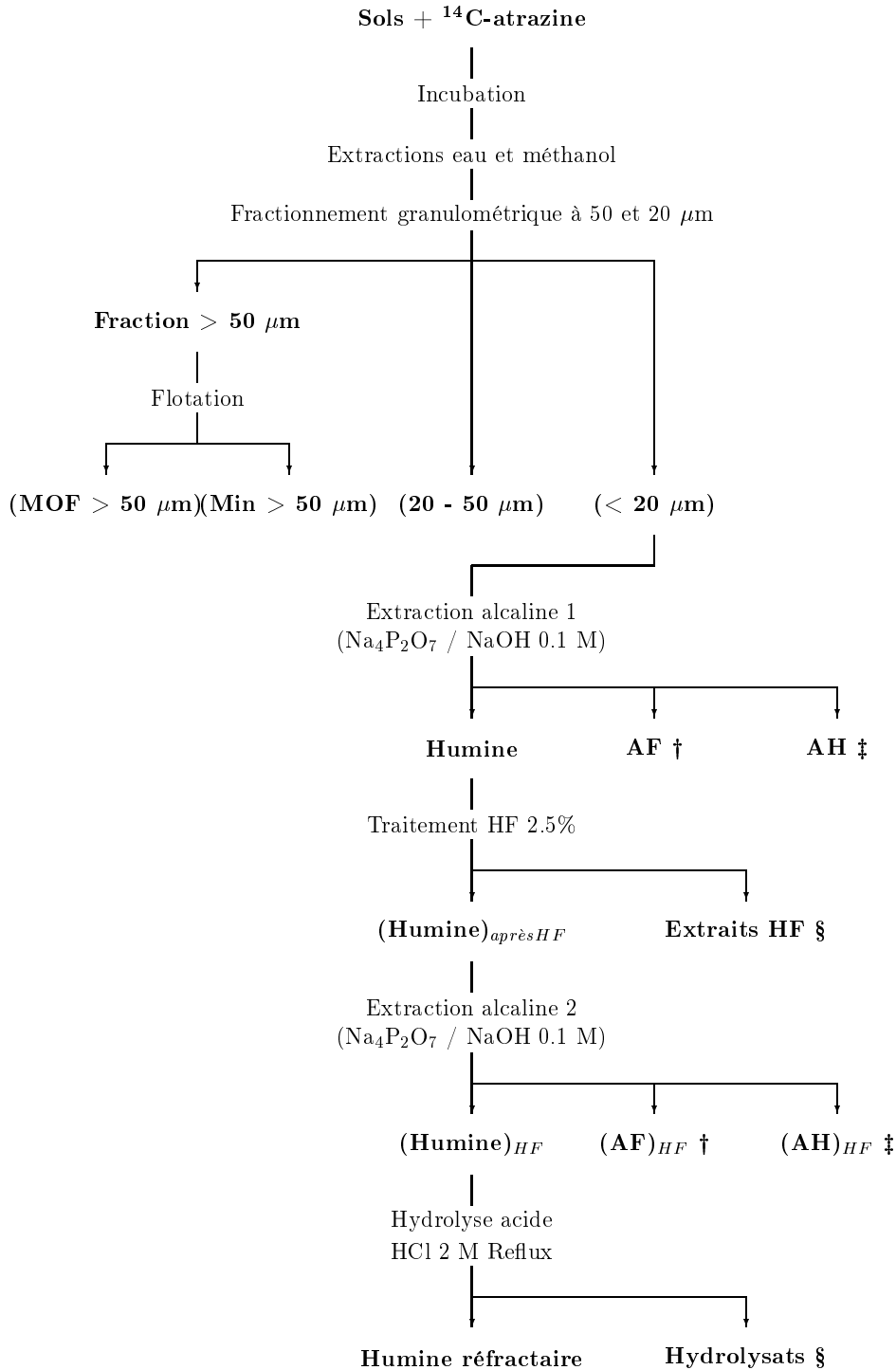
La démarche proposée a donc pour objectifs : (i) d'étudier comparativement la distribution

du carbone et des résidus liés au sein des fractions granulométriques et chimiques ; (ii) caractériser les résidus liés solubilisés par les différents traitements ou associés aux différentes fractions chimiques ; (iii) discuter les possibles mécanismes impliqués dans leur formation, et (iv) identifier l'influence de l'activité spécifique minéralisatrice de l'atrazine, du pH, et de la teneur en carbone organique sur la formation des résidus liés.

## 3.2 Matériels et méthodes

### 3.2.1 Fractionnement granulométrique

Les sols extraits, qui contiennent les résidus non-extractibles (ou résidus liés) d'atrazine (Chapitre 1), sont dispersés par agitation dans l'eau pendant 5 min pour être tamisés à 50 et 20  $\mu\text{m}$  (Figure 3.1). Les fractions ( $> 50 \mu\text{m}$ ) et (20 - 50  $\mu\text{m}$ ) sont récupérées directement sur les tamis, et les fractions ( $< 20 \mu\text{m}$ ) sont récupérées par centrifugation à 3800 g pendant 20 min. La radioactivité des surnageants est mesurée par scintillation en milieu liquide. La matière organique «fraîche» des fractions ( $> 50 \mu\text{m}$ ), appelées (MOF  $> 50 \mu\text{m}$ ), est séparée des constituants «minéraux», appelés (Min  $> 50 \mu\text{m}$ ), par flottation dans l'eau. Toutes les fractions obtenues sont séchées à  $40 \pm 5^\circ \text{C}$  pesées, et broyées à l'aide d'un mortier en agate. Leur radioactivité et leur teneur en carbone organique sont mesurées.



† : soumis au protocole de concentration acide suivie d'une dialyse à 1000 Da (Figure 3.2)

‡ : soumis au protocole de concentration basique suivie d'une dialyse à 5000 Da (Figure 3.2)

§ : soumis au protocole de concentration acide (Figure 3.2)

FIG. 3.1 – *Protocole expérimental de fractionnement, et dénomination des fractions obtenues*

### 3.2.2 Extractions alcalines

15 g des fractions ( $< 20 \mu\text{m}$ ) obtenues par le fractionnement granulométrique sont extraits deux fois avec 45 ml d'une solution aqueuse de  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 / \text{NaOH}$  0.1 M et agitation par retournement pendant 1 h à  $20 \pm 2^\circ \text{C}$  suivie d'une centrifugation à 2600 g pendant 20 min. Les culots sont ensuite lavés trois fois avec 60 ml d'une solution aqueuse de  $\text{CaCl}_2$   $10^{-2}$  M afin d'obtenir un pH pour le dernier surnageant compris entre 7 et 8. Les humines obtenues, constituées de la matière organique non-solubilisée lors des extractions alcalines, sont séchées à  $40 \pm 5^\circ \text{C}$  pesées et broyées. Les extraits alcalins et les eaux de lavages sont combinés. Ils contiennent les acides humiques et les acides fulviques (AH et AF, respectivement). Les AH sont précipités par ajustement du pH à 1.5 avec HCl. Après 30 min à  $4 \pm 1^\circ \text{C}$  les solutions sont centrifugées à 6800 g pendant 20 min et les surnageants contenant les AF sont récupérés. Les AH précipités sont dissous dans 10 ml de NaOH 0.1 M, et la radioactivité et la teneur en carbone des AF, AH, et des humines sont mesurées.

### 3.2.3 Traitement à l'acide fluorhydrique (HF) des humines $< 20 \mu\text{m}$

Une solution aqueuse d'HF 2.5 % est ajoutée aux humines  $< 20 \mu\text{m}$  (rapport «sol»/solution : 1/14 v/v) dans des flacons polypropylène de 500 ml. Les flacons sont mis en agitation par retournement pendant 1.5 h à  $20 \pm 2^\circ \text{C}$  dans l'obscurité, puis centrifugés à 5400 g pendant 20 min. Les surnageants sont récupérés, et après une deuxième extraction HF 2.5 % les culots sont lavés trois fois avec 150 ml d'eau milliQ (Millipore) afin d'obtenir un pH compris entre 4 et 5 pour le dernier surnageant. La radioactivité des extraits HF et la radioactivité des surnageants de lavage est déterminée, ainsi que la radioactivité et les teneurs en carbone des culots d'humine après HF. Ces culots obtenus sont ensuite soumis à une extraction alcaline comme décrite précédemment, et on obtient alors les différentes fractions dénommées  $(\text{AF})_{\text{HF}}$ ,  $(\text{AH})_{\text{HF}}$ , et  $(\text{Humine})_{\text{HF}}$  (Figure 3.1).



### 3.2.4 Hydrolyse acide des (humines)<sub>HF</sub>

20 ml d'une solution aqueuse d'HCl 2 M sont ajoutés à 1 g d'(Humine)<sub>HF</sub> dans des ballons de 100 ml en verre, puis chauffés en condition de reflux pendant 24 h. Les hydrolysats sont récupérés par filtration (papier filtre Whatman n° 4) après refroidissement, et les culots sont lavés par passage de 15 ml d'eau milliQ. Les culots, contenant les «Humines réfractaires» sont ensuite séchés à  $40 \pm 5^\circ \text{C}$  et broyés. La radioactivité des hydrolysats et des «(Humines réfractaires)», ainsi que leur teneur en carbone sont mesurées.

### 3.2.5 Concentration des extraits acides et basiques pour l'analyse HPLC

Les extraits acides (AF, extraits HF et hydrolysats d'(Humines)<sub>HF</sub>) et basiques (AH) sont concentrés par extraction liquide/solide (Figure 3.2) à l'aide de cartouches (ENV+ Isolute, IST) qui sont préalablement activées par passage successif de 6 ml de méthanol et 6 ml d'eau milliQ. Les extraits sont ensuite passés au travers des cartouches, suivi de 6 ml d'eau milliQ. Les éluats sont récupérés et constituent la fraction non-retenue «NR».

Pour les échantillons acides, la fraction retenue «R» dans la cartouche est éluée une première fois avec 6 ml de méthanol qui sont récupérés (fraction retenue, ou «R»). Puis, 0.5 ml de NaOH 0.1 M sont additionnés aux cartouches et laissés au contact de celles-ci. Après 5 min de contact, la soude est éluée et la cartouche est rincée par élution 6 ml d'eau milliQ. Ces éluats sont combinés à la fraction non-retenue «NR». Les cartouches sont ensuite éluées une seconde fois par 6 ml de méthanol qui sont combinés à la fraction retenue «R». L'ajout intermédiaire de 0.5 ml de NaOH 0.1 M modifie l'état physico-chimique de l'hydroxy-atrazine (et des autres dérivés hydroxylés) permettant leur élution par le méthanol. Si cette étape n'est pas réalisée, les dérivés hydroxylés de l'atrazine restent «bloqués» dans la cartouche (Annexe C).

Pour les échantillons basiques (AH), les cartouches sont éluées avec 12 ml de méthanol qui sont récupérés et constituent la fraction retenue «R». La radioactivité des fractions R et NR

est mesurée, ainsi que celle de la phase solide des cartouches après élution (la phase solide des cartouches est récupérée et mélangée à 10 ml de liquide scintillant Ultima Gold Packard). Les fractions R sont ensuite concentrées par évaporation sous vide jusqu'à un volume d'environ 0.5 ml, et 0.5 ml d'une solution méthanolique de dodécyl sulfate de sodium  $5.10^{-3}$  M ajustée à pH = 2.8 par de l'HCl y sont ajoutés. Ces échantillons sont ensuite filtrés à  $0.45 \mu\text{m}$  (filtre Nalgène nylon) pour être analysés en HPLC.

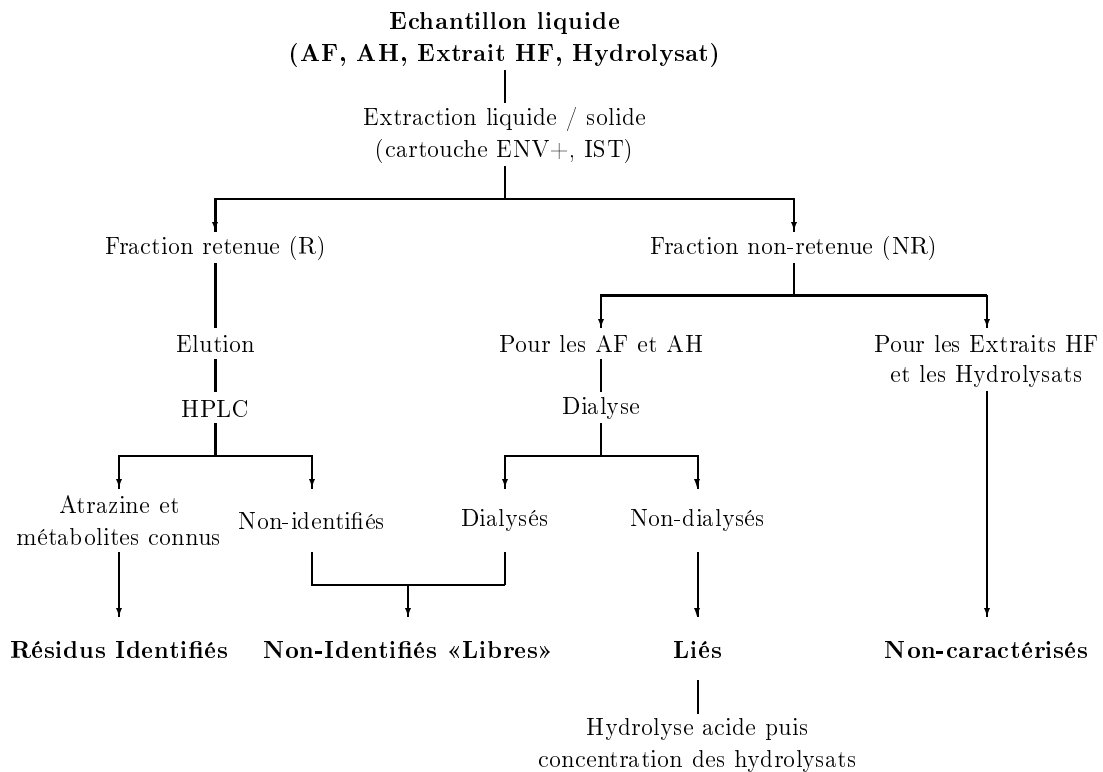


FIG. 3.2 – *Protocole de concentration sur cartouche ENV+ et dénomination des fractions obtenues*

### 3.2.6 Dialyse des acides fulviques et des acides humiques non-retenus «NR»

Le pH des fractions non-retenues «NR» des AF et des AH sont ajustés respectivement entre 6 et 7 et entre 8 et 9. Un dialyseur rotatif (Dianorm) équipé de cellules en téflon de 5 ml est utilisé. Les AF «NR» sont dialysés à 1000 Da (membrane Spectra/Por CE) et les AH «NR» à 5000 Da (membrane Dianorm) contre de l'eau déminéralisée pendant 16 h (Figure 3.2). La radioactivité

des solutions d'AF et d'AH «NR» est mesurée avant et après dialyse. Des expériences de contrôle sont menées en parallèle avec une solution aqueuse de  $^{14}\text{C}$ -atrazine, et des solutions d'AF et d'AH dans lesquelles l'atrazine  $^{14}\text{C}$  est ajoutée avant la dialyse.

La dialyse des fractions «NR» des extraits HF et des hydrolysats n'a pu être réalisée. En effet, lors de l'ajustement du pH de ces fractions pour être dans la gamme d'utilisation des membranes de dialyse, il y a formation d'un précipité des constituants minéraux solubilisés par les attaques acides. Ces fractions non-retenues «NR» des extraits HF et des hydrolysats sont dénommées «Non-étudiées» (Figure 3.2).

20 ml des fractions non-retenues et non dialysables d'AH sont soumis à une hydrolyse acide (mêmes conditions que précédemment avec un rapport 1/1 v/v)(*cf.* section 3.2.4).

### 3.2.7 Contrôle des artéfacts

Afin de déterminer les artéfacts expérimentaux dus aux réactifs utilisés lors des fractionnements chimiques, 50 g des quatre sols utilisés pour cette étude sont soumis au même protocole de fractionnement physique et chimique, mais sans avoir été traités avec de l'atrazine en début d'incubation. Les fractions concernées par un type de traitement donné sont «dopées» en  $^{14}\text{C}$ -atrazine avant le traitement, puis subissent le même protocole que les fractions incubées (*i.e.* les fractions ( $< 20 \mu\text{m}$ ) non-traitées sont dopées en  $^{14}\text{C}$ -atrazine avant d'être soumises au protocole d'extraction alcaline, ...) et sont soumises aux mêmes analyses.

Les analyses effectuées sur les différentes fraction obtenues sont identiques à celles décrites dans la section 1.2.5 (page 27).

### 3.3 Résultats

#### 3.3.1 Distribution du carbone organique et des résidus liés $^{14}\text{C}$ dans les fractions granulométriques

La répartition pondérale des fractions obtenues par le protocole de fractionnement granulométrique réalisé sur les échantillons incubés des quatre sols est concordante avec les résultats de l'analyse granulométrique standard effectuée par le Laboratoire d'Analyse des Sols d'Arras (INRA) (Tableau 1.1 et 3.1).

De 37 à 63 % de la masse des quatre sols se trouvent dans les fractions  $< 20 \mu\text{m}$ . Ces fractions contiennent la matière humifiée et représentent de 55 à 83 % du carbone total (Tableau 3.1). Pour les deux sols alcalins (MG8 et WG8) la fraction  $\text{Min} > 50 \mu\text{m}$  est 30 fois plus concentré en CO que pour les sols acides. Ceci peut s'expliquer par la présence de carbonates dans ces sols qui rend difficile la séparation des matières organiques et des constituants minéraux par flotation dans les fractions grossières, sans décarbonatation préalable.

TAB. 3.1 – *Distribution pondérale et teneur en carbone des fractions granulométriques après 55 jours d'incubation (moyenne des trois répétitions et écarts-types)*

		MOF $> 50 \mu\text{m}$	Min $> 50 \mu\text{m}$	20-50 $\mu\text{m}$	$< 20 \mu\text{m}$
% de la masse initiale	MG8	$1.4 \pm 0.2$	$14.4 \pm 0.6$	$32.8 \pm 0.4$	$51.8 \pm 0.3$
	WG8	$1.6 \pm 0.4$	$13.6 \pm 0.3$	$33.7 \pm 0.6$	$51.0 \pm 0.7$
	MV6	$1.5 \pm 0.2$	$30.1 \pm 0.5$	$31.0 \pm 0.9$	$37.2 \pm 0.4$
	MS5	$1.5 \pm 0.1$	$17.3 \pm 0.3$	$20.3 \pm 0.1$	$63.1 \pm 0.4$
% du carbone total	MG8	$8.1 \pm 0.5$	$26.0 \pm 10.7$	$13.2 \pm 0.9$	$60.9 \pm 1.5$
	WG8	$7.8 \pm 1.8$	$24.9 \pm 2.8$	$14.5 \pm 1.4$	$55.5 \pm 0.7$
	MV6	$10.6 \pm 0.2$	$2.0 \pm 0.7$	$11.2 \pm 0.9$	$77.0 \pm 1.4$
	MS5	$3.7 \pm 0.2$	$0.3 \pm 0.0$	$9.3 \pm 0.8$	$83.5 \pm 1.0$
$\text{g.c.kg fraction}^{-1}$	MG8	$102 \pm 18$	$35 \pm 7$	$7 \pm 0$	$20 \pm 1$
	WG8	$97 \pm 10$	$36 \pm 4$	$9 \pm 1$	$22 \pm 0$
	MV6	$87 \pm 7$	$1 \pm 0$	$4 \pm 0$	$25 \pm 0$
	MS5	$130 \pm 7$	$1 \pm 0$	$21 \pm 1$	$60 \pm 1$

Pour les quatre sols, aux trois dates, les résidus liés se trouvent principalement dans les fractions  $< 20 \mu\text{m}$ , représentant de 56.6 à 82.8 % des résidus liés totaux (Tableau 3.2). Pour le sol MG8, la quantité de résidus liés associés à la fraction  $< 20 \mu\text{m}$  (en % du  $^{14}\text{C}$ -appliqué) diminue au cours du temps. Dans le cas du sol MS5, ce sont les quantités de résidus liés associés

aux fractions MOF  $> 50 \mu\text{m}$  et  $20\text{-}50 \mu\text{m}$  (en % du  $^{14}\text{C}$ -appliqué) qui diminuent au cours du temps. Pour les sols minéralisant le moins (WG8 et MV6), les résidus liés associés aux fractions  $< 20 \mu\text{m}$  augmentent.

Les pourcentages de résidus liés associés aux fractions  $< 20 \mu\text{m}$  (relatif au  $^{14}\text{C}$ -lié total) sont plus grands pour les deux sols minéralisant le plus (MG8 et MS5). Pour les deux sols minéralisant le moins (WG8 et MV6), une accumulation préférentielle des résidus liés semble se faire dans les fractions  $> 20 \mu\text{m}$ , qui contiennent la matière organique peu ou pas humifiée. Pour les quatre sols, la distribution relative des résidus liés au sein des fractions granulométriques (en % du  $^{14}\text{C}$ -lié) n'est pas modifiée au cours du temps.

TAB. 3.2 – *Evolution de la distribution des résidus liés  $^{14}\text{C}$  au sein des fractions granulométriques des quatre sols (moyenne des trois répétitions et écarts-types)*

		Temps (jours)	MOF $> 50 \mu\text{m}$	Min $> 50 \mu\text{m}$	$20\text{-}50 \mu\text{m}$	$< 20 \mu\text{m}$
% du $^{14}\text{C}$ -appliqué	MG8	55	$0.7 \pm 0.0$	$0.4 \pm 0.0$	$1.5 \pm 0.0$	$7.2 \pm 0.3$
		226	$0.7 \pm 0.1$	$0.2 \pm 0.0$	$1.4 \pm 0.1$	$5.8 \pm 0.1$
		400	$0.7 \pm 0.1$	$0.2 \pm 0.0$	$1.3 \pm 0.0$	$5.8 \pm 0.5$
	WG8	55	$2.9 \pm 1.1$	$1.1 \pm 0.5$	$7.7 \pm 0.9$	$19.3 \pm 0.9$
		226	$5.5 \pm 0.4$	$1.2 \pm 0.1$	$10.4 \pm 0.7$	$22.2 \pm 0.9$
		400	$5.5 \pm 1.1$	$2.4 \pm 0.5$	$10.7 \pm 0.9$	$26.1 \pm 1.7$
	MV6	55	$7.3 \pm 0.8$	$0.9 \pm 0.1$	$7.8 \pm 0.5$	$24.9 \pm 0.5$
		226	$11.5 \pm 1.3$	$0.9 \pm 0.2$	$8.7 \pm 0.5$	$28.0 \pm 0.2$
		400	$8.2 \pm 1.7$	$2.3 \pm 1.1$	$7.3 \pm 0.2$	$29.2 \pm 0.7$
	MS5	55	$2.3 \pm 0.2$	$0.1 \pm 0.0$	$3.9 \pm 0.3$	$20.4 \pm 0.8$
		226	$2.1 \pm 0.3$	$0.1 \pm 0.0$	$3.4 \pm 0.2$	$19.7 \pm 1.8$
		400	$1.3 \pm 0.1$	$0.1 \pm 0.1$	$2.6 \pm 0.3$	$19.4 \pm 0.3$
% du $^{14}\text{C}$ lié	MG8	55	$7.4 \pm 0.1$	$3.9 \pm 0.2$	$15.0 \pm 0.5$	$73.7 \pm 0.3$
		226	$8.0 \pm 0.9$	$2.4 \pm 0.5$	$17.5 \pm 1.2$	$72.1 \pm 0.9$
		400	$9.1 \pm 0.3$	$2.5 \pm 0.4$	$15.8 \pm 1.2$	$72.7 \pm 1.7$
	WG8	55	$9.4 \pm 3.7$	$3.5 \pm 1.7$	$24.7 \pm 2.6$	$62.4 \pm 2.4$
		226	$13.9 \pm 0.7$	$3.1 \pm 0.3$	$26.4 \pm 2.1$	$56.6 \pm 1.7$
		400	$12.3 \pm 2.8$	$5.3 \pm 1.0$	$23.9 \pm 1.3$	$58.5 \pm 2.2$
	MV6	55	$17.9 \pm 2.0$	$2.1 \pm 0.2$	$19.0 \pm 1.2$	$61.0 \pm 1.0$
		226	$23.4 \pm 1.9$	$1.8 \pm 0.4$	$17.7 \pm 1.0$	$57.1 \pm 1.6$
		400	$17.4 \pm 3.6$	$4.8 \pm 2.4$	$15.6 \pm 0.1$	$62.1 \pm 1.3$
	MS5	55	$8.5 \pm 0.9$	$0.5 \pm 0.1$	$14.6 \pm 0.6$	$76.5 \pm 0.5$
		226	$8.3 \pm 0.5$	$0.3 \pm 0.1$	$13.3 \pm 0.4$	$78.1 \pm 0.4$
		400	$5.5 \pm 0.2$	$0.6 \pm 0.5$	$11.2 \pm 1.0$	$82.8 \pm 1.0$

Les facteurs d'enrichissement des différentes fractions ont été calculés après 55 jours d'incubation pour le carbone et les résidus liés. Ce facteur est le rapport des concentrations dans les

fractions sur les concentrations des sols non fractionnés. Une valeur de ce facteur supérieure à 1 indique une accumulation par rapport à la teneur moyenne du sol non fractionné. La distribution des résidus liés au sein des fractions granulométriques n'étant pas modifiée pour les trois dates, la comparaison des facteurs d'enrichissement est identique. On peut constater que l'accumulation en résidus liés dans les fractions ( $\text{MOF} > 50\mu\text{m}$ ) et ( $< 20\mu\text{m}$ ) est corrélée à l'accumulation en carbone (Figure 3.3). Les facteurs d'enrichissement en carbone des fractions ( $\text{Min} > 50\mu\text{m}$ ) des sols MG8 et WG8 sont respectivement de 2 et de 1.8, alors qu'ils ne sont que de 0.3 pour les résidus liés. Ce résultat peut indiquer que la matière organique des fractions ( $\text{Min} > 50\mu\text{m}$ ) des sols MG8 et WG8 est moins efficace que la MO des fractions ( $\text{MOF} > 50\mu\text{m}$ ) pour stabiliser les résidus d'atrazine. Ceci peut être en relation avec le caractère calcaire de ces deux sols qui induit une accessibilité et/ou une réactivité plus faible de la matière organique par protection physique.

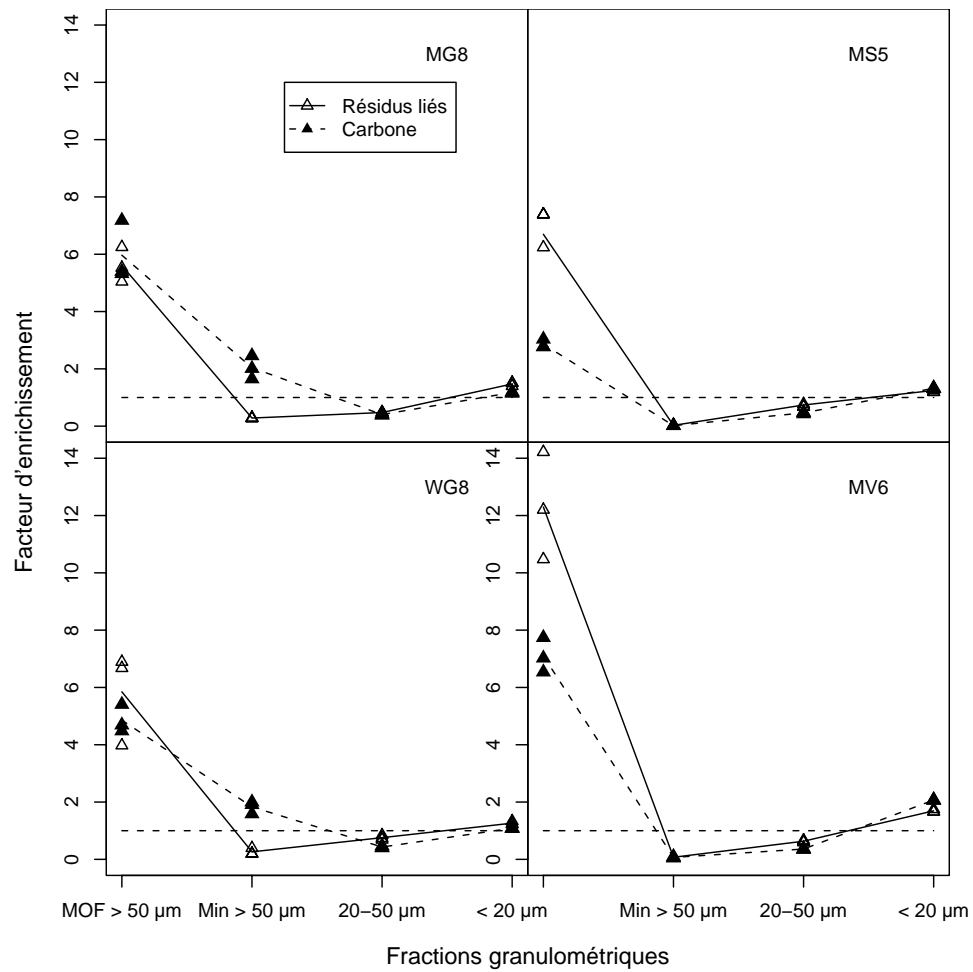


FIG. 3.3 – Facteurs d'enrichissement en carbone et en résidus liés pour les fractions granulométriques des quatre sols

### 3.3.2 Carbone et résidus liés $^{14}\text{C}$ solubilisés par les traitements chimiques sur les fractions $< 20\mu\text{m}$

Plus de 80 % du carbone des fractions  $< 20 \mu\text{m}$  est solubilisé par l'ensemble des traitements chimiques (*i.e.* extractions alcalines, traitement HF, et hydrolyse acide) pour les quatre sols (Figure 3.4).

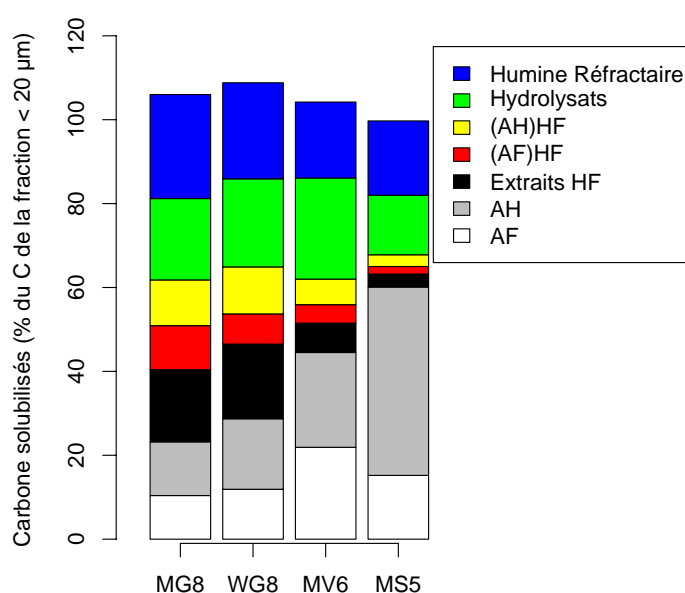


FIG. 3.4 – Distribution du carbone dans les fractions chimiques obtenues pour les quatre sols après 55 jours d'incubation

Nous appellerons les «résidus liés solubilisés totaux» l'addition des résidus liés solubilisés dans les différents extraits (AF, AH, extraits HF,  $(\text{AF})_{\text{HF}}$ ,  $(\text{AH})_{\text{HF}}$  et hydrolysats d' $(\text{Humine})_{\text{HF}}$ ). Ils représentent plus de 75 % du  $^{14}\text{C}$ -lié total des fractions  $< 20 \mu\text{m}$  pour les quatre sols aux trois dates (Figure 3.5).

Les extractions alcalines sont le traitement chimique le plus efficace pour la solubilisation des résidus liés, représentant de 41 à 76 % des «résidus liés solubilisés totaux». Elles sont significativement plus efficaces pour les deux sols acides MV6 et MS5. Le traitement HF solubilise de 6 à



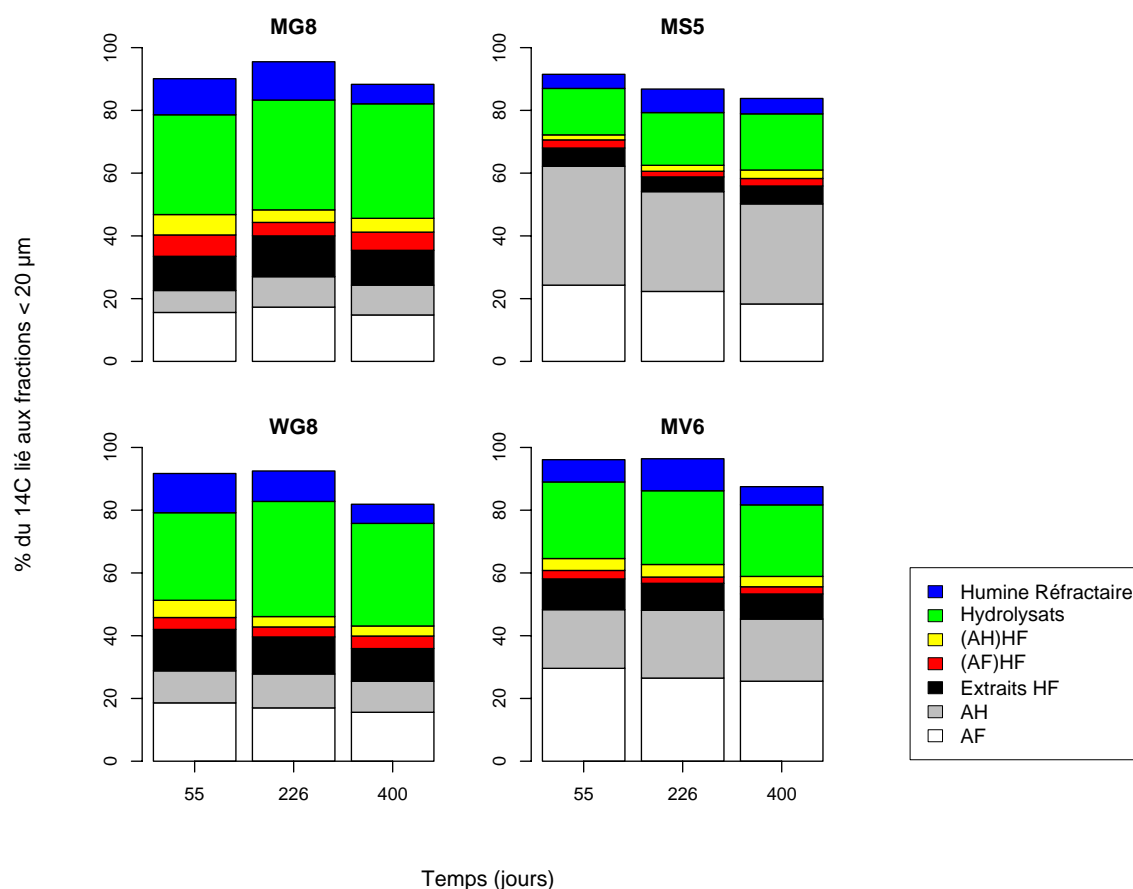


FIG. 3.5 – Evolution de la distribution des résidus liés  $^{14}\text{C}$  dans les fractions chimiques obtenues pour les quatre sols aux trois dates

17 % des «résidus liés solubilisés totaux». Due à la dissolution des minéraux par ce traitement, il résulte une perte respective de 61.6, 63.0, 58.4, et 44.7 % de la masse initiale d'humine pour MG8, WG8, MV6, et MS5 (moyenne sur les trois dates). L'hydrolyse acide permet de solubiliser de 17 à 45 % des «résidus liés solubilisés totaux». Elle est plus efficace pour les deux sols calcaires (MG8 et WG8 : de 35 à 45 % des «résidus liés solubilisés totaux») par rapport aux deux sols acides (de 17 à 28 % des «résidus liés solubilisés totaux»). Enfin, les résidus non-solubilisés contenus dans l'«Humine réfractaire» représentent de 5 à 13 % du  $^{14}\text{C}$ -lié associé aux fractions  $< 20 \mu\text{m}$ . Il n'y a pas de variation significative de la distribution des résidus liés au sein des fractions chimiques au cours du temps pour les quatre sols.

Les traitements chimiques utilisés sont classiques pour l'étude de la matière organique des sols

et permettent la solubilisation du carbone organique. Ceci est illustré dans la figure 3.6 où sont comparés les pourcentages de résidus liés solubilisés aux pourcentages de carbone solubilisé pour l'ensemble des étapes du fractionnement chimique, sans identification des fractions ni des sols. La corrélation observée met en évidence le rôle des constituants organiques dans la formation et/ou la stabilisation des résidus d'atrazine sous forme non-accessible aux solvants organiques classiques utilisés pour l'extraction des résidus. Pour l'ensemble des sols et des fractions chimiques, on constate que les proportions de résidus liés solubilisés sont corrélées aux proportions de carbone solubilisé (Figure 3.6).

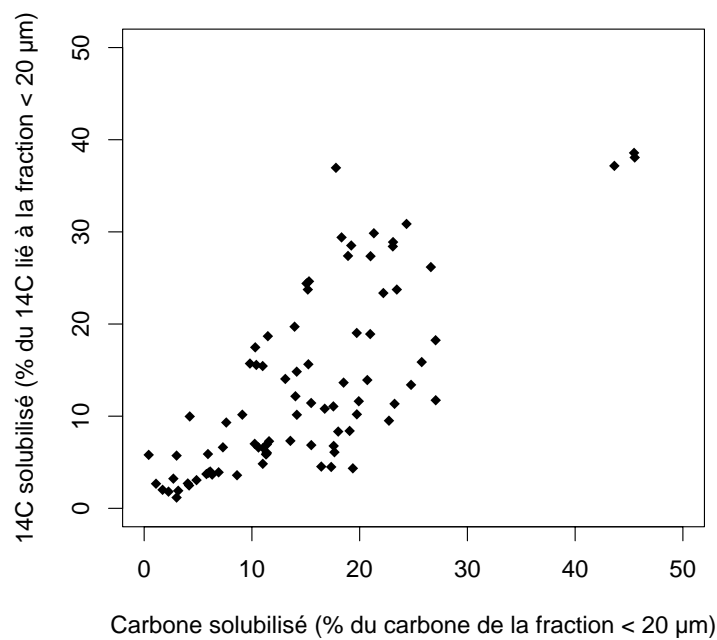


FIG. 3.6 – Relation entre les résidus liés solubilisés et le carbone organique solubilisé par le fractionnement chimique

### 3.3.3 Caractérisation des résidus liés $^{14}\text{C}$ solubilisés

Les analyses systématiques (concentration sur cartouche, HPLC et dialyse) des extraits chimiques obtenus permettent la caractérisation des résidus liés solubilisés pour chacune des fractions chimiques des quatre sols (Tableau 3.3).

TAB. 3.3 – *Caractérisation des résidus liés  $^{14}\text{C}$  solubilisés associés aux fractions  $< 20 \mu\text{m}$  pour les trois dates (moyenne des trois répétitions et écarts-types)*

Sol	Temps (jours)	Molécule	AF	AH	Extraits HF	$(\text{AF})_{\text{HF}}$	$(\text{AH})_{\text{HF}}$	Hydrolysats	Total
			% du $^{14}\text{C}$ -lié aux fractions $< 20 \mu\text{m}$						
MG8	55	DEDIA	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		DIA	0.0	0.0	0.8 ± 0.1	0.0	0.0	0.0	0.8 ± 0.1
		DEA	0.5 ± 0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5 ± 0.5
		ATR	1.9 ± 0.3	0.0	2.4 ± 0.2	0.0	0.0	0.0	4.3 ± 0.3
		HO-DEDIA	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		HO-DIA	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		HO-DEA	0.2 ± 0.3	0.0	0.0	0.0	0.0	1.4 ± 0.1	1.6 ± 0.3
		HO-ATR	2.1 ± 0.4	0.0	2.0 ± 0.1	1.5 ± 0.1	0.0	7.4 ± 0.7	13.0 ± 1.3
		N.I.†«Libres»	9.0 ± 0.4	0.0	0.0	5.3 ± 0.4	0.0	0.0	14.3 ± 0.4
		«Liés»	0.0	7.0 ± 0.2	0.0	0.0	6.5 ± 0.5	2.4 ± 0.1	13.5 ± 0.7
		«Non caractérisés»	1.9 ± 0.1	0.0	5.7 ± 0.4	0.0	0.0	20.6 ± 3.5	28.2 ± 3.7
		Total	15.6 ± 0.1	7.0 ± 0.2	10.9 ± 0.7	6.8 ± 0.4	6.5 ± 0.5	31.8 ± 4.5	78.7 ± 6.2
	226	DEDIA	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		DIA	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		DEA	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		ATR	0.0	0.0	1.3 ± 0.1	0.0	0.0	0.0	1.3 ± 0.1
		HO-DEDIA	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		HO-DIA	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		HO-DEA	0.6 ± 1.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1 ± 0.0	0.7 ± 1.1
		HO-ATR	4.6 ± 2.2	0.0	2.6 ± 0.2	1.2 ± 0.1	0.0	4.1 ± 0.5	12.5 ± 2.2
		N.I.†«Libres»	12.1 ± 1.8	0.0	0.0	3.1 ± 0.3	0.5 ± 0.0	9.7 ± 1.2	25.4 ± 2.6
		«Liés»	0.0	9.7 ± 0.3	0.0	0.0	3.5 ± 0.3	0.0	13.2 ± 0.5
		«Non caractérisés»	0.0	0.0	9.1 ± 0.6	0.0	0.0	21.1 ± 2.7	30.2 ± 3.2
		Total	17.3 ± 0.2	9.7 ± 0.3	13.0 ± 0.7	4.3 ± 0.4	4.0 ± 0.3	35.0 ± 4.5	83.3 ± 4.8
	400	DEDIA	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		DIA	0.0	0.0	0.1 ± 0.0	0.0	0.0	0.0	0.1 ± 0.0
		DEA	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		ATR	0.9 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.2 ± 0.0	0.0	0.0	0.0	1.2 ± 0.0
		HO-DEDIA	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		HO-DIA	0.0	0.2 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.3 ± 0.0	0.0	1.1 ± 0.0	1.7 ± 0.1
		HO-DEA	1.0 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.2 ± 0.0	0.0	0.0	0.0	1.3 ± 0.0
		HO-ATR	3.3 ± 0.1	0.5 ± 0.1	2.9 ± 0.6	0.6 ± 0.1	0.0	7.2 ± 0.2	14.5 ± 0.8
		N.I.†«Libres»	9.6 ± 1.3	0.0	0.0	4.9 ± 0.4	0.4 ± 0.1	0.0	14.9 ± 1.2
		«Liés»	0.0	8.5 ± 0.2	0.0	0.0	4.0 ± 0.5	0.0	12.5 ± 0.6
		«Non caractérisés»	0.0	0.0	7.7 ± 0.8	0.0	0.0	28.2 ± 0.9	35.9 ± 1.3
		Total	14.8 ± 1.3	9.5 ± 0.2	11.1 ± 1.1	5.8 ± 0.5	4.4 ± 0.5	36.5 ± 1.1	82.1 ± 2.7

Suite du tableau à la page suivante ...

Sol	Temps (jours)	Molécule	AF	AH	Extraits HF	(AF) <sub>HF</sub>	(AH) <sub>HF</sub>	Hydrolysats	Total		
			% du <sup>14</sup> C-lié aux fractions < 20 μm								
WG8	55	DEDIA	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		
		DIA	1.0 ± 0.1	0.0	1.3 ± 0.0	0.0	0.0	0.0	2.3 ± 0.1		
		DEA	1.4 ± 0.2	0.0	1.9 ± 0.4	0.0	0.0	0.0	3.3 ± 0.2		
		ATR	2.9 ± 0.3	0.1 ± 0.1	3.4 ± 0.4	0.2 ± 0.3	0.0	0.0	6.6 ± 0.7		
		HO-DEDIA	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		
		HO-DIA	0.1 ± 0.2	0.1 ± 0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2 ± 0.3		
		HO-DEA	0.9 ± 0.2	0.1 ± 0.1	0.0	0.8 ± 0.3	0.0	2.0 ± 0.0	3.8 ± 0.5		
		HO-ATR	6.9 ± 0.1	1.1 ± 0.5	3.6 ± 0.0	1.7 ± 0.2	0.0	10.4 ± 0.2	23.4 ± 0.4		
		N.I.†«Libres»	5.3 ± 0.3	0.0	0.0	1.2 ± 0.5	0.0	0.0	6.5 ± 0.9		
		«Liés»	0.0	8.9 ± 1.8	0.0	0.0	5.5 ± 0.6	3.2 ± 0.1	17.6 ± 1.3		
		«Non caractérisés»	0.0	0.0	3.1 ± 0.3	0.0	0.0	12.3 ± 0.7	15.4 ± 0.9		
		Total	18.6 ± 1.1	10.2 ± 1.6	13.2 ± 0.9	3.8 ± 0.2	5.5 ± 0.6	27.9 ± 0.9	79.3 ± 1.3		
			226	DEDIA	0.4 ± 0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.4 ± 0.0
				DIA	0.4 ± 0.2	0.0	0.4 ± 0.4	0.0	0.0	0.0	0.8 ± 0.2
DEA	0.5 ± 0.1			0.0	0.6 ± 0.5	0.0	0.0	0.0	1.1 ± 0.6		
ATR	0.9 ± 0.1			0.1 ± 0.2	1.0 ± 0.4	0.0	0.0	0.0	2.0 ± 0.2		
HO-DEDIA	0.0			0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		
HO-DIA	0.3 ± 0.3			0.0	0.0	0.0	0.0	0.2 ± 0.4	0.5 ± 0.7		
HO-DEA	0.8 ± 0.2			0.0	0.0	0.7 ± 0.0	0.0	1.4 ± 0.6	2.9 ± 0.6		
HO-ATR	7.3 ± 1.1			1.7 ± 0.6	4.7 ± 1.3	1.1 ± 0.1	0.5 ± 0.1	11.9 ± 4.8	27.2 ± 5.4		
N.I.†«Libres»	6.2 ± 0.5			0.0	0.0	1.5 ± 0.1	0.0	7.5 ± 7.0	15.2 ± 5.6		
«Liés»	0.0			9.0 ± 1.0	0.0	0.0	2.8 ± 0.3	0.0	11.8 ± 0.9		
«Non caractérisés»	0.0			0.0	5.1 ± 0.5	0.0	0.0	15.7 ± 2.1	20.8 ± 2.3		
Total	16.8 ± 1.3			10.8 ± 1.3	11.8 ± 0.7	3.3 ± 0.2	3.3 ± 0.3	36.7 ± 1.6	82.7 ± 1.1		
	400			DEDIA	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
				DIA	0.0	0.0	0.2 ± 0.2	0.0	0.0	0.0	0.2 ± 0.2
		DEA	0.0	0.0	0.3 ± 0.2	0.0	0.0	0.0	0.3 ± 0.2		
		ATR	0.2 ± 0.3	0.0	1.7 ± 1.6	0.0	0.0	0.0	1.9 ± 1.5		
		HO-DEDIA	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		
		HO-DIA	0.6 ± 0.5	0.1 ± 0.1	0.3 ± 0.3	0.2 ± 0.3	0.0	2.7 ± 0.4	3.9 ± 0.7		
		HO-DEA	0.2 ± 0.2	0.0	0.1 ± 0.2	0.0	0.0	0.0	0.3 ± 0.4		
		HO-ATR	4.3 ± 3.7	1.2 ± 0.7	3.1 ± 0.5	0.3 ± 0.5	0.0	12.1 ± 1.8	21.0 ± 2.7		
		N.I.†«Libres»	10.2 ± 4.9	0.0	0.0	3.5 ± 1.0	0.4 ± 0.0	0.0	14.1 ± 3.9		
		«Liés»	0.0	8.6 ± 0.7	0.0	0.0	2.8 ± 0.2	0.0	11.4 ± 0.7		
		«Non caractérisés»	0.0	0.0	4.7 ± 0.6	0.0	0.0	17.9 ± 1.4	22.6 ± 1.7		
		Total	15.6 ± 0.7	9.9 ± 0.6	10.4 ± 0.7	4.0 ± 0.2	3.2 ± 0.3	32.7 ± 3.0	75.7 ± 4.5		
		MV6	55	DEDIA	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
				DIA	0.4 ± 0.0	0.0	0.4 ± 0.1	0.0	0.0	0.0	0.8 ± 0.1
DEA	0.6 ± 0.1			0.0	0.7 ± 0.1	0.0	0.0	0.0	1.3 ± 0.1		
ATR	1.0 ± 0.1			0.0	1.5 ± 0.2	0.0	0.0	0.0	2.5 ± 0.1		
HO-DEDIA	0.0			0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		
HO-DIA	0.3 ± 0.3			0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.3 ± 0.3		
HO-DEA	1.3 ± 0.2			0.0	0.1 ± 0.1	0.0	0.0	2.2 ± 0.1	3.6 ± 0.3		
HO-ATR	19.9 ± 0.8			4.3 ± 0.6	5.2 ± 0.2	1.8 ± 0.3	0.0	11.2 ± 0.7	42.4 ± 2.1		
N.I.†«Libres»	6.1 ± 0.3			0.0	0.0	1.0 ± 0.0	0.0	3.4 ± 0.1	10.5 ± 0.3		
«Liés»	0.0			14.0 ± 0.3	0.0	0.0	3.8 ± 0.2	0.0	17.8 ± 0.2		
«Non caractérisés»	0.0			0.0	1.9 ± 0.2	0.0	0.0	7.6 ± 0.6	9.5 ± 0.7		
Total	29.6 ± 1.2			18.3 ± 0.4	9.8 ± 0.4	2.8 ± 0.3	3.8 ± 0.2	24.4 ± 1.5	88.7 ± 2.8		
	226			DEDIA	0.1 ± 0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1 ± 0.0
				DIA	0.2 ± 0.1	0.0	0.2 ± 0.2	0.0	0.0	0.0	0.4 ± 0.2
		DEA	0.1 ± 0.1	0.0	0.2 ± 0.2	0.0	0.0	0.0	0.3 ± 0.2		
		ATR	0.3 ± 0.1	0.0	0.2 ± 0.2	0.0	0.0	0.0	0.5 ± 0.3		
		HO-DEDIA	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		
		HO-DIA	0.2 ± 0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2 ± 0.2	0.4 ± 0.2		
		HO-DEA	1.3 ± 0.4	0.0	0.0	0.5 ± 0.0	0.0	1.7 ± 0.4	3.5 ± 0.3		
		HO-ATR	17.8 ± 0.7	4.3 ± 0.2	5.3 ± 0.6	0.9 ± 0.1	0.5 ± 0.0	13.9 ± 1.0	42.7 ± 1.0		
		N.I.†«Libres»	6.8 ± 1.3	0.0	0.0	0.6 ± 0.0	0.0	0.5 ± 0.5	7.9 ± 1.1		
		«Liés»	0.0	17.3 ± 0.5	0.0	0.0	3.6 ± 0.2	0.0	20.9 ± 0.5		
		«Non caractérisés»	0.0	0.0	2.7 ± 0.3	0.0	0.0	7.3 ± 0.8	10.0 ± 1.1		
		Total	26.5 ± 1.4	21.6 ± 0.7	8.6 ± 0.2	2.0 ± 0.1	4.0 ± 0.2	23.5 ± 0.4	86.3 ± 1.9		
			400	DEDIA	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
				DIA	0.0	0.0	0.1 ± 0.2	0.0	0.0	0.0	0.1 ± 0.2
DEA	1.0 ± 1.7			0.0	0.2 ± 0.2	0.0	0.0	0.0	1.2 ± 1.9		
ATR	0.2 ± 0.1			0.0	0.6 ± 0.5	0.0	0.0	0.0	0.8 ± 0.4		
HO-DEDIA	0.0			0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		
HO-DIA	0.8 ± 0.7			0.1 ± 0.1	0.3 ± 0.2	0.3 ± 0.0	0.0	1.3 ± 0.4	2.8 ± 0.3		
HO-DEA	0.2 ± 0.2			0.0	0.2 ± 0.1	0.0	0.0	0.0	0.4 ± 0.2		
HO-ATR	16.0 ± 3.4			4.6 ± 0.4	3.9 ± 0.8	0.8 ± 0.0	0.0	11.1 ± 0.6	36.4 ± 3.9		
N.I.†«Libres»	7.4 ± 1.6			0.0	0.0	1.2 ± 0.1	0.4 ± 0.0	0.0	9.0 ± 1.6		
«Liés»	0.0			15.0 ± 0.4	0.0	0.0	2.9 ± 0.2	0.0	17.9 ± 0.6		
«Non caractérisés»	0.0			0.0	2.8 ± 0.6	0.0	0.0	10.5 ± 0.6	13.3 ± 0.1		
Total	25.5 ± 1.4			19.8 ± 0.3	8.0 ± 0.6	2.3 ± 0.1	3.3 ± 0.3	22.8 ± 1.6	81.7 ± 0.5		

Suite du tableau à la page suivante ...

Sol	Temps (jours)	Molécule	AF	AH	Extraits HF	$(AF)_{HF}$	$(AH)_{HF}$	Hydrolysats	Total		
			% du $^{14}C$ -lié aux fractions $< 20 \mu m$								
MS5	55	DEDIA	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		
		DIA	0.4 ± 0.3	0.0	0.2 ± 0.1	0.0	0.0	0.0	0.6 ± 0.4		
		DEA	0.9 ± 0.1	0.0	0.3 ± 0.1	0.0	0.0	0.0	1.2 ± 0.1		
		ATR	2.2 ± 0.6	0.7 ± 0.7	1.0 ± 0.1	0.0	0.0	0.0	3.9 ± 1.2		
		HO-DEDIA	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		
		HO-DIA	0.8 ± 0.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.8 ± 0.2		
		HO-DEA	3.7 ± 0.5	2.2 ± 0.2	0.3 ± 0.1	0.4 ± 0.4	0.0	1.2 ± 0.1	7.8 ± 0.5		
		HO-ATR	11.4 ± 0.3	6.7 ± 1.0	3.0 ± 0.1	1.7 ± 0.1	0.0	6.3 ± 0.4	29.1 ± 0.7		
		N.I.†«Libres»	4.8 ± 0.6	0.0	0.0	0.6 ± 0.2	0.0	1.9 ± 0.2	7.3 ± 0.6		
		«Liés»	0.0	28.3 ± 1.2	0.0	0.0	1.6 ± 0.4	0.0	29.9 ± 1.6		
		«Non caractérisés»	0.0	0.0	1.0 ± 0.1	0.0	0.0	5.4 ± 0.4	6.4 ± 0.4		
		Total	24.3 ± 0.5	37.9 ± 0.7	5.8 ± 0.1	2.6 ± 0.6	1.6 ± 0.4	14.8 ± 0.8	87.0 ± 1.9		
			226	DEDIA	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
				DIA	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
DEA	0.1 ± 0.2			0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1 ± 0.2		
ATR	0.4 ± 0.3			1.3 ± 0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	1.7 ± 0.3		
HO-DEDIA	0.4 ± 0.2			0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.4 ± 0.2		
HO-DIA	0.3 ± 0.1			0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.3 ± 0.1		
HO-DEA	2.7 ± 0.6			0.0	0.0	0.0	0.0	0.3 ± 0.5	3.0 ± 1.0		
HO-ATR	11.8 ± 1.8			6.2 ± 0.6	3.4 ± 0.2	1.5 ± 0.1	0.0	9.9 ± 1.9	32.8 ± 3.5		
N.I.†«Libres»	6.7 ± 0.9			0.0	0.0	0.3 ± 0.0	0.4 ± 0.0	0.7 ± 0.7	8.1 ± 0.8		
«Liés»	0.0			24.3 ± 0.3	0.0	0.0	1.5 ± 0.1	0.0	25.8 ± 0.4		
«Non caractérisés»	0.0			0.0	1.3 ± 0.1	0.0	0.0	5.9 ± 0.6	7.2 ± 0.5		
Total	22.3 ± 3.1			31.8 ± 0.9	4.7 ± 0.3	1.8 ± 0.1	1.9 ± 0.1	16.8 ± 0.8	79.3 ± 5.1		
	400			DEDIA	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
				DIA	0.1 ± 0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1 ± 0.1
		DEA	0.1 ± 0.1	0.8 ± 0.1	0.1 ± 0.1	0.0	0.0	0.0	1.0 ± 0.1		
		ATR	0.5 ± 0.5	0.0	0.3 ± 0.1	0.0	0.0	0.0	0.8 ± 0.6		
		HO-DEDIA	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		
		HO-DIA	1.4 ± 1.1	0.0	0.1 ± 0.1	0.4 ± 0.1	0.0	0.7 ± 0.1	2.6 ± 0.9		
		HO-DEA	0.5 ± 0.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2 ± 0.0	0.7 ± 0.2		
		HO-ATR	10.7 ± 0.8	5.2 ± 0.3	2.9 ± 0.1	1.4 ± 0.2	0.0	9.4 ± 1.7	29.6 ± 2.0		
		N.I.†«Libres»	5.2 ± 0.7	0.0	0.0	0.6 ± 0.1	0.6 ± 0.2	0.0	6.4 ± 0.5		
		«Liés»	0.0	27.8 ± 3.1	0.0	0.0	2.0 ± 0.7	0.0	29.8 ± 2.9		
		«Non caractérisés»	0.0	0.0	2.3 ± 1.7	0.0	0.0	7.7 ± 0.5	10.0 ± 2.1		
		Total	18.3 ± 0.9	31.9 ± 5.5	5.7 ± 1.8	2.4 ± 0.4	2.7 ± 0.9	17.9 ± 2.3	78.9 ± 2.9		

† : N.I. = Non identifiés

Fin du tableau

De 15 à 51 % du  $^{14}C$  lié aux fractions  $< 20 \mu m$  sont identifiés comme de l'atrazine et ses principaux métabolites (déalkylés<sup>1</sup> et hydroxylés<sup>2</sup>) pour MG8, WG8, MV6, et MS5, respectivement (Figure 3.7). Les quantités et les pourcentages par rapport aux résidus liés totaux d'atrazine et de dérivés déalkylés diminuent pour les quatre sols au cours du temps. Les proportions de dérivés hydroxylés (principalement l'hydroxy-atrazine) restent stables au cours du temps pour les quatre sols.

En supposant que la fraction «NR» et non-dialysable à 5000 Da du  $^{14}C$  solubilisé avec les AH et les  $(AH)_{HF}$  correspond à des résidus «liés chimiquement», de 11 à 30 % des résidus liés des fractions  $< 20 \mu m$  sont identifiés comme étant «liés chimiquement» aux AH. Les quantités et les proportions (relatives aux résidus liés totaux) de résidus «liés chimiquement» restent relativement

<sup>1</sup>Déalkylés = DEDIA + DIA + DEA<sup>2</sup>Hydroxylés = HO-DEDIA + HO-DIA + HO-DEA + HO-ATR

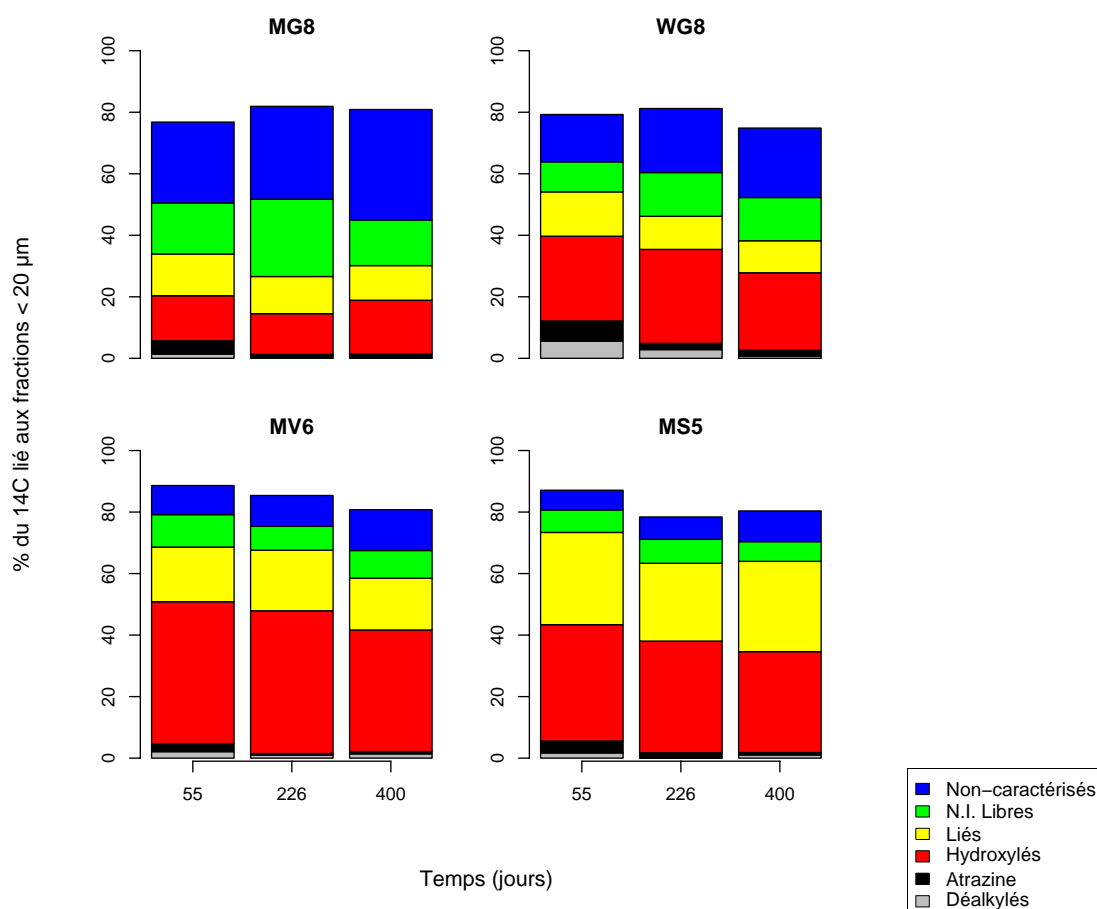


FIG. 3.7 – Caractérisation des résidus liés <sup>14</sup>C solubilisés associés aux fractions < 20 μm pour les quatre sols aux trois dates d'incubation (moyenne des trois répétitions)

stables au cours du temps pour les quatre sols.

De 6 à 25 % du <sup>14</sup>C-lié associé aux fractions < 20 μm sont sous formes N.I. «libres», et de 6 à 36 % comme «non-étudiés» (cf Figure 3.2). Les proportions de résidus «non-étudiés» (solubilisés par les traitements HF et les hydrolyses acides) augmentent au cours du temps pour les trois dates. De la radioactivité a été perdue lors des concentrations par évaporation pour l'analyse HPLC pour le sol MG8, et représente 1.9 % des résidus liés à la fraction <20 μm.

Les résidus liés solubilisés avec les AF et les (AF)<sub>HF</sub> ont été principalement identifiés comme étant de l'atrazine et ses métabolites (majoritairement ses métabolites hydroxylés), ou des résidus non-identifiés «libres» (N.I. «Libres»), contrairement aux résidus liés qui étaient associés aux AH et (AH)<sub>HF</sub> qui ont été principalement récupérés dans les fractions «NR» et caractérisés comme

«liés chimiquement» (non dialysable à 5000 Da) pour les quatre sols (Tableau 3.3). Les manipulations de contrôle avec ajout direct d'atrazine nous ont montré que la procédure d'extraction alcaline utilisée ne provoque pas de dégradation de l'atrazine (Annexe B). Les hydrolyses acides menées sur les fractions «NR» des AH (non dialysées à 5000 Da) nous ont permis de solubiliser plus de 80 % du  $^{14}\text{C}$  associé à ses fractions. 33.1, 56.7, 63.3 et 52.6 % du  $^{14}\text{C}$  lié aux AH et solubilisé par hydrolyse acide ont été identifiés en tant qu'hydroxy-atrazine pour MG8, WG8, MV6, et MS5, respectivement.

Les résidus liés solubilisés dans les extraits HF étaient de l'atrazine et ses métabolites (principalement hydroxylés), et des résidus «non-caractérisés». Les expériences de contrôle nous ont indiqué que l'atrazine résistait à ce traitement sans formation de dérivés ou autres produits («liés chimiquement», N.I. «Libres», «non-caractérisés»).

L'hydroxy-atrazine a été le seul métabolite identifié dans les hydrolysats acides. Des résidus N.I. «libres» et «non-caractérisés» ont également été solubilisés. Les expériences de contrôle nous ont indiqué que 80 % de l'atrazine soumis à ce traitement est hydrolysée en hydroxy-atrazine, et 20 % en «N.I. libres».

Les deux sols alcalins (MG8 et WG8) sont les sols contenant en proportion le moins de dérivés  $^{14}\text{C}$  hydroxylés, et le plus de dérivés N.I. «libres» et «non-caractérisés». Le sol MS5, qui est le plus riche en carbone organique présente les plus fortes teneurs en résidus «liés chimiquement» associés aux AH.

## 3.4 Discussion

### 3.4.1 Evolution de la distribution des résidus liés au sein des fractions granulométriques

Bien que les quantités de résidus liés évoluent au cours du temps, la distribution relative des résidus liés au sein des fractions granulométriques n'est pas modifiée pour les quatre sols.

Barriuso et Koskinen (1996) ont constaté que la distribution des résidus liés d'atrazine au sein de fractions granulométriques d'un sol évoluait surtout durant les quatre premiers mois d'incubation, puis n'évoluait plus. Dans le cas de cette étude, il semblerait donc que s'il y a eu fluctuation de la distribution des résidus liés, celle-ci s'est faite durant les deux premiers mois d'incubation.

Le stockage préférentiel des résidus liés dans les fractions  $< 20 \mu\text{m}$  est principalement dû à leurs teneurs en carbone organique. Le carbone des MOF  $> 50 \mu\text{m}$  semble être le plus efficace pour le stockage des résidus d'atrazine sous forme de résidus liés. En effet, les plus grands facteurs d'enrichissement sont obtenus pour ces fractions, quel que soient les sols.

### **3.4.2 Relation entre l'activité spécifique microbienne minéralisatrice du noyau triazinique et la formation des résidus liés**

La comparaison des résultats obtenus pour MG8 et WG8 nous montre qu'il n'y a pas, ou peu d'effet de l'activité spécifique minéralisatrice de l'atrazine sur la distribution des résidus liés au sein des fractions granulométrique (en % du  $^{14}\text{C}$ -lié total) et chimiques (en % du  $^{14}\text{C}$ -lié associé aux fractions  $< 20 \mu\text{m}$ ). Les différences observées sont principalement expliquées par les différences de distribution du carbone dans ces fractions. D'un autre côté, il y a moins de résidus liés identifiés comme atrazine et ses principaux métabolites et plus de N.I. «libres» et de produits «non-caractérisés» pour MG8 comparé à WG8. Les analyses des extraits aqueux et méthanoliques totaux obtenus avant le fractionnement granulométrique sont similaires (Figures 1.3 et 1.5, pages 31 et 35). Ces résultats suggèrent que la présence de proportions importantes de N.I. «libres» et de «non-caractérisés» dans les résidus liés de MG8 est principalement due à une activité dégradante plus efficace pour ce sol, et non à une différence de mécanismes de stabilisation.



### 3.4.3 Influence du pH sur la formation des résidus liés

La comparaison des résultats obtenus pour WG8 et MV6 nous indique que le pH plus faible de MV6 semble favoriser la formation de résidus liés. La plupart des différences observées pour la distribution relative des résidus liés dans les fractions granulométriques et chimiques s'explique également par les différences de distribution du carbone organique. Cependant, les facteurs d'enrichissement en résidus liés calculés pour les fractions MOF  $> 50 \mu\text{m}$  (5.8 pour WG8 et 12.3 pour MV6) tendent à indiquer que la matière organique de la fraction MOF  $> 50 \mu\text{m}$  de MV6 est plus disponible que celle de la fraction MOF  $> 50 \mu\text{m}$  de WG8 pour former des résidus liés. Ceci peut être expliqué par la présence de carbonates dans les fractions  $> 50 \mu\text{m}$  du sol WG8 qui diminuerait l'accessibilité de la matière organique pour l'atrazine et ses produits de dégradation.

La première extraction alcaline a été plus efficace dans la solubilisation du carbone organique et des résidus liés pour MV6. Après le traitement HF et une deuxième extraction alcaline, le carbone organique et les résidus liés totaux solubilisés étaient du même ordre de grandeur, ce qui suggère que la matrice minérale de WG8 a un rôle dans la stabilisation de l'atrazine par l'intermédiaire d'une protection physique de la matière organique de ce sol (Baldock et Skjemstad, 2000).

Plus de métabolites hydroxylés (principalement de l'hydroxy-atrazine) et moins d'atrazine ont été stabilisés sous forme de résidus liés pour MV6, comparé à WG8. 46.2 % des résidus liés associés à la fraction  $< 20 \mu\text{m}$  sont sous forme de dérivés hydroxylés et 2.5 % sous forme d'atrazine pour MV6, comparé à 27.8 % sous forme d'hydroxylés et 6.6 % sous forme d'atrazine pour WG8. Les analyses des extraits aqueux et méthanoliques totaux avant le fractionnement granulométrique (Figures 1.3 et 1.5, pages 31 et 35) vont dans le même sens, ce qui suggère qu'un  $\text{pH} \leq 6$  favorise la formation de dérivés hydroxylés (Armstrong *et al.*, 1967) et leur stabilisation sous forme de résidus liés.

### 3.4.4 Influence de la teneur en carbone sur la formation des résidus liés

Les différences entre MV6 et MS5 sur la distribution relative des résidus liés dans les fractions granulométriques et chimiques sont aussi principalement dues aux différences de distribution du carbone organique, et ce bien que MS5 minéralise nettement plus que MV6. La forte teneur en AH de MS5 favorise la formation de résidus «liés chimiquement». Les résultats obtenus pour MG8 et WG8 tendent à confirmer que c'est bien la teneur en AH qui est directement responsable de l'augmentation de la proportion des résidus «liés chimiquement», et non une activité minéralisatrice plus forte. Comme pour MV6, le faible pH de MS5 favorise la stabilisation des métabolites hydroxylés de l'atrazine sous forme de résidus liés. Cependant, l'analyse HPLC des extraits aqueux et méthanoliques totaux du sol MS5 avant le fractionnement granulométrique a montré une proportion plus importante d'atrazine et de métabolites déalkylés comparée aux dérivés hydroxylés. Ceci peut être expliqué par une préservation de ces composés en relation avec une diffusion de ces molécules vers des sites à caractère hydrophobe. En effet, d'après les résultats du Chapitre 2, la DEA (métabolite déalkylé) et l'ATR semblent diffuser vers des sites pour lesquels elles ont plus d'affinité. L'environnement fonctionnel de ces sites, qui sont probablement des sites à caractère hydrophobe, favorise la préservation de l'ATR et de ses dérivés déalkylés en limitant l'hydrolyse de ces produits. Aux vues des résultats obtenus, ce mécanisme de préservation est plus important pour le sol MS5, comparé au sol MV6, car il est plus riche en matière organique.

### 3.4.5 Informations sur les mécanismes de formation des résidus liés

La majorité des résidus liés est associée à la matière organique humifiée localisée dans les fractions  $< 20 \mu\text{m}$ , là où l'on retrouve la plupart du carbone. La corrélation obtenue entre les distributions du carbone et des résidus liés d'atrazine dans les fractions granulométriques et chimiques, nous suggère que la formation des résidus liés est principalement contrôlée par les

interactions entre l'atrazine et/ou ses métabolites et la matière organique des sols. Ces résultats sont en accord avec ceux de Barriuso *et al.* (1991, 1996) pour l'atrazine, Benoit *et al.* (2000) pour l'isoproturon, et d'autres pesticides (Calderbank, 1989). Les analyses du  $^{14}\text{C}$  solubilisé par les différentes techniques confirment des résultats antérieurs indiquant la persistance de l'atrazine sous forme de résidus liés (Capriel *et al.*, 1985), ainsi que la formation de résidus liés à partir de métabolites d'atrazine (Winkleman et Klaine, 1991a, 1991b). Benoit et Preston (2000) ont également confirmé la persistance du noyau triazinique sous forme de résidus liés par RMN- $^{13}\text{C}$  (CP/MAS  $^{13}\text{C}$ -NMR) dans des fractions granulométriques de sols incubés avec de la  $^{13}\text{C}$ -atrazine.

La dispersion colloïdale provoquée par les extractions alcalines permet la solubilisation des AF, des AH, et des résidus liés qui leur sont associés. Les analyses des résidus liés récupérés avec les AF nous indiquent que ces résidus étaient probablement piégés physiquement, alors que les résidus liés récupérés avec les AH étaient «liés chimiquement» à cette fraction. Dec *et al.* (1997a, 1997b), ont montré que les résidus de  $^{13}\text{C}$ -cyprodinil associés aux AF correspondaient à la molécule initiale intacte qui était apparemment sequestrée, alors que les résidus associés aux AH présentaient des liaisons chimiques avec ceux-ci. Bollag *et al.* (1991, 1992) ont également montré la formation de liaisons chimiques entre des composés organiques simples (phénols et aniline) et les AH. Schiavon *et al.* (1977) ont montré qu'une partie des résidus liés d'atrazine associés aux AF pouvait être extraite au méthanol, alors que les résidus liés associés aux AH ne le pouvaient pas. Les auteurs ont suggéré que les interactions entre les résidus liés d'atrazine et les AH étaient plus fortes que celles avec les AF, ce qui est en accord avec nos résultats.

L'hydrolyse acide des fractions NR des AH (fractions non dialysable à 5000 Da) a confirmé la formation de résidus liés d'atrazine par liaison(s) chimique(s) covalente(s), et nous suggère une liaison chimique entre le noyau triazinique et les AH par l'intermédiaire du groupement hydroxyle de l'hydroxy-atrazine ou par l'intermédiaire d'une liaison hétéro-atomique se situant sur le 6<sup>e</sup> carbone triazinique après substitution du chlore. Dankwardt *et al.* (1998) ont également

suggéré la formation d'une liaison covalente entre l'atrazine et les AH par substitution du chlore. L'identification d'hydroxy-atrazine dans les hydrolysats d'humine peut également être due à la rupture d'une liaison covalente entre l'atrazine et/ou l'hydroxy-atrazine et la matière organique. Les résultats obtenus permettent d'écarter la formation de liaison(s) covalente(s) entre les groupements amino des chaînes latérales de l'atrazine et la matière organique des sols.

### 3.4.6 Influence du temps d'incubation sur la distribution et la nature des résidus stabilisés au sein des fractions chimiques

Bien que l'on observe une légère diminution des résidus liés associés à la fraction  $< 20 \mu\text{m}$  pour les sols adaptés à la minéralisation de l'atrazine (MG8 et MS5), et une augmentation dans les sols minéralisant peu l'atrazine (WG8 et MV6), la distribution des résidus liés au sein des fractions chimiques des fractions  $< 20 \mu\text{m}$  n'est pas modifiée au cours du temps. Schiavon *et al.* (1977) ont observé une évolution de la distribution des résidus liés d'atrazine au sein des AF, AH et de l'humine lors d'une incubation d'une durée de un mois. Les résultats de ces auteurs montraient une diminution des résidus liés associés aux AF au profit des AH et de l'humine. Nelson *et al.* (1983) ont constaté une fluctuation de la distribution des résidus liés de pendimethalin, de trifluraline et d'oryzalin lors d'incubation de sol en conditions stériles d'une durée de six mois, et avec un schéma de fractionnement chimique très différent. Dans notre cas, de telles évolutions n'ont pas été mises en évidence.

La distribution des résidus liés dans les différentes fractions granulométriques et chimiques n'évolue pas. Cependant, les résidus stabilisés par piégeage physique (correspondant à l'atrazine, ses métabolites déalkylés et hydroxylés et les N.I. «libres») peuvent encore subir des modifications de nature chimique. En effet, la diminution des proportions et des quantités d'atrazine et des dérivés déalkylés et l'augmentation des résidus «non-caractérisés» montrent que ces résidus qui étaient piégés physiquement peuvent être dégradés. A contrario, les résidus «liés chimiquement»

aux AH ne semblent pas être modifiés au cours du temps.

### 3.5 Conclusion

De 20 à 51 % des résidus liés associés aux fractions  $< 20 \mu\text{m}$  ont pu être identifiés comme étant de l'atrazine et ses principaux métabolites, ce qui confirme leur persistance sous forme de résidus liés. Les résultats des expériences de contrôle nous indiquent que l'atrazine n'est pas ou peu modifiée avec les conditions expérimentales choisies, excepté lors des hydrolyses acides. On peut donc émettre l'hypothèse que les résidus liés solubilisés avec les AF et par le traitement HF étaient piégés physiquement (ou séquestrés) dans la matière organique, et ils représenteraient donc de 26 à 45 % des résidus liés associés aux fractions  $< 20 \mu\text{m}$ . De 14 à 30 % du  $^{14}\text{C}$  lié aux fractions  $< 20 \mu\text{m}$  étaient «liés chimiquement» aux AH. Une partie de ces résidus «liés chimiquement» a été solubilisée par hydrolyse acide et identifiée comme étant de l'hydroxy-atrazine, suggérant ainsi la formation d'une liaison covalente hétéro-atomique avec la matière organique par l'intermédiaire du groupement hydroxyle de l'hydroxy-atrazine et/ou par l'intermédiaire du 6<sup>ème</sup> carbone du noyau triazinique après substitution du chlore. De 9.4 à 16.9 % du  $^{14}\text{C}$  lié aux fractions étaient probablement aussi de l'atrazine et/ou de l'hydroxy-atrazine «liée chimiquement» aux (Humines)<sub>HF</sub> qui ont été solubilisés par hydrolyse acide.

Une forte activité spécifique minéralisatrice de l'atrazine favorise la formation de dérivés d'atrazine hautement dégradés qui n'ont pas été chimiquement identifiés, mais qui peuvent également se stabiliser sous forme de résidus liés. Un  $\text{pH} \leq 6$  favorise la formation et la stabilisation des métabolites hydroxylés de l'atrazine. Une forte teneur en acides humiques favorise la formation de résidus «liés chimiquement».

De manière générale, la stabilisation de l'atrazine et de ses dérivés sous forme de résidus liés est un phénomène évolutif du point de vue quantitatif. Après une phase d'accumulation, les résidus liés formés semblent évoluer chimiquement, puis une phase de dégradation de ces résidus

liés se met en place. Ces trois phases peuvent co-exister en même temps et leurs cinétiques semblent être pilotées par l'activité microbienne capable de minéraliser le composé. Dans notre cas, la cinétique d'accumulation des résidus liés est supérieure à leur cinétique de dégradation jusqu'à 400 jours d'incubation pour les sols WG8 et MV6 qui minéralisent peu l'atrazine. Pour les sols MG8 et MS5, la cinétique de dégradation des résidus liés est supérieure à leur cinétique d'accumulation entre 55 et 400 jours d'incubation.

## Chapitre 4

# Evaluation des techniques pyrolytiques et du marquage $^{13}\text{C}$ pour l'étude des résidus liés

### 4.1 Introduction

La pyrolyse est une technique consistant à chauffer un échantillon sous une atmosphère de gaz inerte. C'est une méthode destructive d'analyse qui permet la libération de composés dérivés de la macromolécule initiale. Elle permet l'obtention d'informations sur la structure macromoléculaire de la matière organique des sols (Bracewell et Robertson, 1981 ; Augris, 1998 ; Salmon *et al.*, 2000). En faisant varier la température, on obtient également des informations sur le type d'interactions entre les différents composés pyrolysés (température de pyrolyse  $\leq 300^\circ\text{C}$  rupture de liaisons hydrogènes, d'interactions ioniques, . . . et température de pyrolyses  $\geq 400^\circ\text{C}$  rupture de liaisons covalentes C-C). On peut distinguer deux grands types de techniques pyrolytiques : (i) la pyrolyse «off-line» («en différé») et (ii) la pyrolyse «on-line» («en ligne»). Dans le premier cas, les échantillons à pyrolyser sont placés dans un four et chauffés sous flux d'un gaz inerte. Les

produits de la pyrolyse (pyrolysats) sont récupérés dans des pièges en sortie du four, puis analysés, avec si nécessaire un ou des pré-traitements avant analyse. Dans le deuxième cas, le pyrolyseur est couplé «on-line» avec un chromatographe en phase gazeuse qui permet la séparation et l'analyse des composés pyrolysés. Ce chromatographe est généralement couplé à un spectromètre de masse pour la reconnaissance des molécules présentes dans le pyrolysats.

Ces techniques ont très largement été utilisées pour la caractérisation, entre autres, de la matière organique des sols (Schnitzer et Hoffman, 1964 et 1965; Satoh, 1984a et 1984b; Saiz-Jimenez, 1996; Kuckuk *et al.*, 1997; Grasset, 1997; Augris, 1998 et 1999; Leinweber et Schulten, 1999; Schulten et Gleixner, 1999; Schulten et Leinweber, 1999; Zegouagh *et al.*, 2000 a, b et c).

La pyrolyse «off-line» a été utilisée par quelques auteurs pour l'étude des résidus liés de pesticides (Balba *et al.*, 1979; Khan et Hamilton, 1980; Worobey et Webster, 1982; Schiavon et Soulas, 1983; Capriel *et al.*, 1985). A notre connaissance seuls Guthrie *et al.* (1999) ont utilisé la pyrolyse «on line» (Py-GC-MS) pour caractériser les résidus liés de pyrène.

Dans le cas des résidus liés, le marquage au  $^{13}\text{C}$  est principalement utilisé pour la caractérisation des résidus par RMN (Résonance Magnétique Nucléaire) du  $^{13}\text{C}$  (Dec *et al.*, 1997a et 1997b; Benoit et Preston, 2000). Malheureusement, la technique se heurte fréquemment à un problème de concentration en composés marqués au  $^{13}\text{C}$  qui peut être du même ordre de grandeur que la teneur en  $^{13}\text{C}$  de la matière organique des sols. L'utilisation de pesticides marqués au  $^{13}\text{C}$  pour l'étude des résidus liés par spectrométrie de masse isotopique n'a, à notre connaissance, jamais été réalisée. Cette technique peut être une source d'informations supplémentaires pour la caractérisation des résidus liés de polluants organiques et sur leurs interactions avec la matière organique des sols. En effet, le choix de la température de pyrolyse peut *a priori* renseigner sur le type d'interaction mis en jeu entre le polluants et la matière organique des sols. Le marquage au  $^{13}\text{C}$  du polluant permet le repérage de pics enrichis en  $^{13}\text{C}$  et une recherche plus efficace des



fragments caractéristiques de ce composé sur le spectre de masse. On peut espérer ainsi identifier les composés issus du polluant initial.

L'objectif de ce chapitre a été d'apporter des résultats supplémentaires sur l'état et la nature des résidus liés d'atrazine. La pyrolyse «off line» à différentes températures des échantillons de sols contenant des résidus liés devrait permettre de différencier les résidus liés thermo-désorbables (ou piégés physiquement) libérés pour des températures de pyrolyse  $\leq 300$  ° C, des résidus «liés chimiquement» (E.L. :  $\geq 400$  kJ.mol<sup>-1</sup>) libérés à des températures  $\geq 400$  ° C.

Parallèlement, l'utilisation du marquage isotopique au <sup>13</sup>C associé à la pyrolyse couplée «on-line» à la chromatographie gazeuse avec détection par spectrométrie de masse à rapport isotopique (Py-GC-C-SIRMS) ou par spectrométrie de masse (Py-GC-MS), doit permettre la caractérisation complémentaire des résidus liés d'atrazine. La Py-GC-C-SIRMS permet de repérer des composés pyrolysés enrichis en <sup>13</sup>C provenant du noyau triazinique de l'atrazine, tandis que la Py-GC-MS permet d'identifier la nature moléculaire de ces composés. Dans les deux cas, des études préliminaires des modifications chimiques induites par la technique sont réalisées par «dopage» des échantillons à pyrolyser par de l'atrazine <sup>14</sup>C ou <sup>13</sup>C.

## 4.2 Matériels et méthodes

### 4.2.1 Essais préliminaires en vue de l'utilisation de la pyrolyse «off-line» pour l'identification des résidus d'atrazine <sup>14</sup>C

Le dispositif utilisé est inspiré de celui de Balba *et al.*(1979) et Khan et Hamilton (1980), présenté sur la figure 4.1.

L'échantillon à pyrolyser est placé dans un tube en quartz dans lequel sont placés à chaque extrémité de la laine de quartz afin de maintenir l'échantillon en place. Le tube en quartz est inséré dans une canne en inox reliée en une extrémité à un tuyau inox permettant l'arrivée d'un flux d'hélium dont le débit est contrôlé à l'aide d'une vanne micrométrique, et en son autre

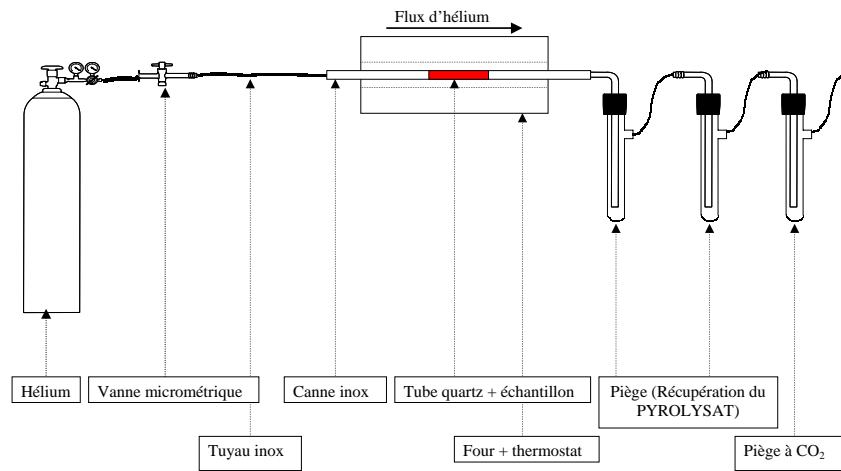


FIG. 4.1 – Schéma du montage réalisé pour la pyrolyse «off-line»

extrémité à un tube inox qui plonge dans un tube en verre rempli avec 15 ml de méthanol. Ce premier piège est suivi d'un deuxième identique, et de deux pièges à  $\text{CO}_2$  contenant 10 ml de  $\text{NaOH}$  1 M. La canne inox est introduite dans un four (Lenton Furnaces) muni d'un contrôleur et programmeur de température (Eurotherm Controls 902P). L'échantillon est alors chauffé sous flux d'hélium selon un programme de température défini, et les produits de pyrolyse sont récupérés dans les différents pièges. Après refroidissement, la canne et les tubes en inox sont lavés avec du méthanol qui est récupéré. Une mesure du  $^{14}\text{C}$  dans les différents pièges et dans les solvants de lavages des cannes et tubes est réalisé sur des parties aliquotes par scintillation en milieu liquide. Le résidu de pyrolyse est récupéré et sa radioactivité est mesurée par scintillation en milieu liquide du  $^{14}\text{C-CO}_2$  libéré par combustion des échantillons à l'aide un oxydizer. Si les quantités de  $^{14}\text{C}$  récupérées dans les différents pièges sont suffisantes, les solutions de méthanol contenu dans les pièges sont concentrées par évaporation sous vide puis on réalise une analyse par HPLC (cf. section 1.2.5, page 27).

Des pyrolyses préliminaires ont été réalisées sur différents types d'échantillons traités avec une

solution méthanolique de  $^{14}\text{C}$ -atrazine, puis laissés 24 h à température ambiante pour permettre l'évaporation du méthanol. Ces tests nous permettent de déterminer l'effet de la matrice sur le comportement de l'atrazine lors des pyrolyses. Les différents types d'échantillons consistaient en de la laine de quartz, du sable de Fontainebleau, de la paille de blé, des acides humiques, le sol WG8 et le sol WG8 après traitement HF selon la méthode de Skjemstad *et al.* (1994) consistant en 5 extractions d'une heure à l'acide fluorhydrique 2% (rapport sol/extractant 1/14 m/m) suivies de trois extractions de 16 h et d'une de 64 h. Après ces différentes pyrolyses préliminaires, des tests de pyrolyse ont été réalisés sur des échantillons contenant des résidus liés avant et après un traitement HF.

#### **4.2.2 Pyrolyse flash au point de Curie couplée à la chromatographie en phase gazeuse et à la spectrométrie de masse à rapport isotopique (Py-GC-C-SIRMS), ou à la chromatographie en phase gazeuse et à la spectrométrie de masse (Py-GC-MS)**

Les pyrolyses ont été effectuées avec un pyrolyseur flash au point de Curie (Fisher 0316)<sup>1</sup>. Les échantillons sont placés dans une nacelle ferro-magnétique ayant une température de Curie de 650 ° C et sont pyrolysés pendant 10 secondes. Le pyrolyseur est couplé à un chromatographe en phase gazeuse (HP 5890) équipé d'une colonne capillaire BPX5 (longueur 50 m, diamètre interne 0.32 mm). Le gradient de température est programmé de 40 à 350 ° C à une vitesse de 2 ° C.min<sup>-1</sup>, avec un palier final de 10 min à 350 ° C. Pour les analyses isotopiques, le couplage entre le chromatographe et le spectromètre de masse est assuré par un four à combustion (850 ° C) avec du CuO comme catalyseur, suivie d'un piège à eau cryogénique (-100 ° C) et à un spectromètre de masse à rapport isotopique (Micromass Isochrom III) qui fait l'acquisition «en continu» (10

---

<sup>1</sup>Les pyrolyses (Py-GC-MS et Py-GC-C-SIRMS) ont été réalisées par Yahya Zeghouagh, Marie-France Dignac et Gérard Bardoux au Laboratoire de Biogéochimie Isotopique (UPMC, Paris) et au Laboratoire de Chimie Bio-organique et Organique Physique (ENSCP, Paris)

scan.s<sup>-1</sup>) sur les ions de m/z=44, 45 et 46 correspondant respectivement aux ions <sup>12</sup>CO<sub>2</sub>, <sup>13</sup>CO<sub>2</sub>, et <sup>12</sup>C<sup>16</sup>O<sup>18</sup>O. Pour les analyses moléculaires, le chromatographe est couplé à un spectromètre de masse HP 5989 en mode impact électronique opérant à 70 eV et 0.7 scan.s<sup>-1</sup> sur une échelle de masse m/z de 40 à 600.

Afin de déterminer les modifications structurales de l'atrazine dues à sa dégradation thermique, les fractions granulométriques non-traitées (NT) avec de l'atrazine (section 4.2.3) obtenues par le protocole de fractionnement granulométrique et chimique (Figure 3.1), sont traitées avec une solution méthanolique de <sup>13</sup>C-atrazine, puis sont analysées par Py-GC-C-SIRMS et Py-GC-MS. Les fractions granulométriques MOF > 50 μm, 20-50 μm et < 20 μm obtenues après incubation des sols traités avec de la <sup>13</sup>C-atrazine sont également analysées par Py-GC-C-SIRMS.

#### 4.2.3 Obtention des fractions contenant des résidus liés <sup>13</sup>C (et <sup>14</sup>C) d'atrazine pour la Py-GC-C-SIRMS et la Py-GC-MS

Afin d'obtenir un marquage isotopique <sup>13</sup>C suffisant par rapport à l'abondance isotopique naturelle, une concentration de 20 mg<sub>atrazine</sub>.kg<sub>sol</sub><sup>-1</sup> a été choisie pour réaliser les incubations spécifiques à ces travaux.

L'équivalent de 50 g des sols MG8, WG8, MV6 et MS5 secs et tamisés à 5 mm sont placés dans des bocaux en verre fermés hermétiquement. 0.98 ml d'une solution méthanolique de <sup>14</sup>C-atrazine (1.03 mg<sub>atrazine</sub>.ml<sup>-1</sup>) sont ajoutés aux sols afin d'obtenir une concentration de 20 mg<sub>atrazine</sub>.kg<sub>sol</sub><sup>-1</sup> (1.1 MBq.kg<sup>-1</sup>). De l'eau est ajoutée si nécessaire pour se placer à une teneur en eau équivalente à 100 % de la capacité de rétention. Un pillulier de 10 ml d'eau et un contenant 2 ml de NaOH 2 M sont également placés dans les bocaux pour respectivement maintenir une humidité constante et piéger le CO<sub>2</sub> produit. Les bocaux sont ensuite mis en incubation à 28 ± 1 ° C dans l'obscurité pendant 226 jours. Les pièges de NaOH sont remplacés périodiquement, et le <sup>14</sup>C-CO<sub>2</sub> piégé est mesuré par scintillation en milieu liquide. Trois répétitions sont conduites

pour chacun des sols traités avec de l'atrazine  $^{14}\text{C}$ .

Parallèlement, 50 g équivalent sec des quatre sols sont traités avec 0.88 ml d'une solution de  $^{13}\text{C}$ -atrazine uniformément marquée sur le noyau triazinique ( $1.13 \text{ mg}_{\text{atrazine}} \cdot \text{ml}^{-1}$ , enrichissement en  $^{13}\text{C}$  de 95%) afin d'obtenir une concentration de  $20 \text{ mg}_{\text{atrazine}} \cdot \text{kg}_{\text{sol}}^{-1}$ . Ces échantillons sont ensuite traités comme décrit préalablement pour les échantillons  $^{14}\text{C}$ . Deux répétitions sont conduites pour les sols traités à l'atrazine  $^{13}\text{C}$ .

A la fin des incubations, les échantillons de sols traités à l'atrazine  $^{14}\text{C}$  et  $^{13}\text{C}$  sont soumis aux mêmes protocoles d'extraction au  $\text{CaCl}_2$  et au méthanol (Chapitre 1) et de fractionnement granulométrique (Chapitre 3) décrits précédemment.

Les échantillons traités à la  $^{14}\text{C}$ -atrazine permettent un suivi quantitatif de la minéralisation, des résidus extractibles à l'eau et au méthanol, ainsi que de la distribution des résidus liés au sein des fractions granulométriques. D'après les résultats de Richnow *et al.* (1999), on peut faire l'hypothèse que les résultats quantitatifs obtenus pour les échantillons  $^{14}\text{C}$  sont applicables aux échantillons traités avec de la  $^{13}\text{C}$ -atrazine.

Des échantillons de ces quatre sols ont également été incubés puis extraits et fractionnés comme décrit préalablement, mais sans avoir été traités avec de l'atrazine. Les fractions granulométriques obtenues sont ensuite utilisées pour les études préliminaires de Py-GC-C-IRMS et Py-GC-MS et comme référence pour l'analyse des différents pics chromatographiés (section 4.2.2). Ces fractions granulométriques sont suivies de la mention NT (Non Traitées avec de l'atrazine).

## 4.3 Résultats

### 4.3.1 Faisabilité de l'utilisation de la pyrolyse «off-line» pour l'étude des résidus liés d'atrazine

Les résultats obtenus pour la pyrolyse «off-line» de la  $^{14}\text{C}$ -atrazine appliquée sur de la laine de quartz nous permettent de constater que l'atrazine seule peut être pyrolysée jusqu'à  $500^\circ\text{C}$  sans modification structurelle (Tableau 4.1). A  $600^\circ\text{C}$ , 32 % de l'atrazine initiale est pyrolysée et récupérée dans le piège NaOH, probablement sous forme de  $\text{CO}_2$ . Plus de 80 % du pyrolysats récupéré dans le méthanol se trouve dans les lavages du tube inox allant du four au premier piège méthanol, même si ce tuyau est chauffé à  $300^\circ\text{C}$  jusqu'au piège. Il existe donc une «zone de condensation» en sortie du four. Ceci a été le cas pour toutes les pyrolyses «off-line» réalisées.

Lorsque l'atrazine est appliquée sur du sable de Fontainebleau, le rendement de pyrolyse à  $300^\circ\text{C}$  est très faible. A partir de  $400^\circ\text{C}$ , plus de 30 % de l'atrazine est pyrolysée mais est en grande partie transformée et récupérée dans le piège à soude. A  $600^\circ\text{C}$  le rendement de pyrolyse atteint plus de 90 % mais à cette température, près de 60 % de l'atrazine initiale est piégée dans la soude.

La pyrolyse de l'atrazine appliquée sur le sol WG8 donne les mêmes résultats que pour le sable de Fontainebleau à programme de température identique (*i.e.*  $400^\circ\text{C}$  pendant une heure). Il faut alors noter que le sol WG8 ne contient que 2 % de matière organique. Il a donc été testé un gradient de température (de  $100$  à  $500^\circ\text{C}$  avec une montée de température de  $15^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ ) en référence aux conditions expérimentales utilisées par Khan et Hamilton (1980). Le rendement de pyrolyse a été amélioré, mais il l'a été au profit de composés dégradés principalement piégés dans la soude.

L'élimination d'une grande partie des minéraux du sol WG8 par dissolution des minéraux par HF, a permis une augmentation significative du rendement de pyrolyse avec une programmation

TAB. 4.1 – Résultats des tests préliminaires de la pyrolyse «off-line» (échantillons «dopés» en  $^{13}\text{C}$ -atrazine)

Support	Température	Non pyrolysé			HPLC
		NaOH	Méthanol†	(% du $^{14}\text{C}$ -initial)	
Laine de quartz	300 ° C/1h	0	0	> 90	ATR
	400 ° C/1h	0	0	> 90	ATR
	500 ° C/1h	0	1.6	89	ATR
	600 ° C/1h	0	32	55	ATR(48) N.I.‡(7)
Sable de Fontainebleau	300 ° C/1h	90	7	3	-
	400 ° C/1h	62	26	7	-
	600 ° C/1h	7	57	30	-
Sol WG8	400 ° C/1h	75	20	5	-
	A	52	29	8	-
Sol (WG8) <sub>après HF</sub>	A	35	11	40	ATR(0) HOA(7) N.I.‡(33)
	B	63	0	28	ATR(0) HOA(11) N.I.‡(17)
Paille de blé	B	30	8	63	ATR(23) HOA(32) N.I.‡(8)
	C	10	8	80	ATR(25) HOA(20) N.I.‡(32)
Acides Humiques	C	50	20	23	ATR(17) HOA(16)

† : cumul des pièges et des lavages de la canne et des tuyaux

‡ : N.I. = Non identifiés

A : 100→500 ° C/15 ° C.min<sup>-1</sup>B : 100→400 ° C/15 ° C.min<sup>-1</sup>C : 20→400 ° C/5 ° C.min<sup>-1</sup>

de température équivalente. Cependant, l'atrazine pyrolysée est totalement transformée en un composé non-identifié et en hydroxy-atrazine récupérés dans le méthanol. La diminution de la température diminue le rendement de pyrolyse et l'atrazine pyrolysée est toujours complètement transformée. Afin de vérifier si la pyrolyse est responsable de la transformation de l'atrazine, ou si c'est le contact avec l'échantillon traité avec HF, les échantillons du sol (WG8)<sub>traité HF</sub> sur lequel l'atrazine a été appliquée ont été extraits au méthanol après 24 h de contact et avant leur pyrolyse. On a pu constater que 71 % du  $^{14}\text{C}$ -appliqué était extractible, et que 58 % de ce  $^{14}\text{C}$  extrait étaient de l'atrazine, 13 % de l'hydroxy-atrazine, et le reste consistaient en un produit non-identifié. Il apparaît donc qu'une dégradation physico-chimique de l'atrazine commence dans l'échantillon mais est accélérée par la pyrolyse. De plus, pour que la quantité de  $^{14}\text{C}$  pyrolysée

soit égale à la quantité de  $^{14}\text{C}$  extractible au méthanol sur l'échantillon avant pyrolyse, il faut atteindre une température de  $500^\circ\text{C}$ .

Des pyrolyses d'atrazine appliquée sur de la paille de blé ont ensuite été réalisées. Le rendement de pyrolyse est amélioré par rapport au rendement obtenu pour des échantillons contenant des minéraux avec une programmation de température identique (*i.e.*,  $100 \rightarrow 400^\circ\text{C}$  à  $15^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ ). De plus, on récupère de l'atrazine intacte dans les pièges méthanoliques. Cependant, plus de 60 % de l'atrazine pyrolysée est transformée en hydroxy-atrazine et en composés non-identifiés. L'utilisation d'un gradient de température plus progressif ( $20 \rightarrow 400^\circ\text{C}$  à  $5^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ ) semble améliorer le rendement de pyrolyse mais au profit de composés non-identifiés. Enfin, la pyrolyse de l'atrazine appliquée sur des acides humiques provoque aussi une dégradation importante de l'atrazine.

Des pyrolyses «off-line» d'échantillons de sol contenant des résidus liés de  $^{14}\text{C}$ -atrazine ont également été réalisées. L'échantillon utilisé a été obtenu après 60 jours d'incubation du sol WG8 traité avec de l'atrazine  $^{14}\text{C}$  à  $0.5\text{ mg}_{atrazine}\cdot\text{kg}^{-1}$  (Loiseau *et al.*, 2000). Les gradients de température utilisés n'ont pas permis un rendement de pyrolyse suffisant sans un traitement HF préalable éliminant la plupart des minéraux (Tableau 4.2).

TAB. 4.2 – Résultats de la pyrolyse «off-line» de résidus liés d'atrazine

Echantillons	Température	Non pyrolysé				HPLC
		Non pyrolysé	NaOH	Méthanol†	(% du $^{14}\text{C}$ -lié)	
Résidus liés WG8†	B	100	0	0	-	
	C	90	6	3	-	
Résidus liés (WG8) <sub>traité HF</sub> ‡	B	50	7	36	ATR(0)	
					HOA(20)	
					N.I.(16)	
	C	49	10	39	ATR(0)	
					HOA(14)	
					N.I.(25)	
D	36	0	73	ATR(0)		
				HOA(0)		
				N.I.(73)		

† : il ne s'agit pas des échantillons du chapitre 3

‡ : le traitement HF n'est pas identique à celui du chapitre 3

B :  $100 \rightarrow 400^\circ\text{C} / 15^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$

C :  $20 \rightarrow 400^\circ\text{C} / 5^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$

D :  $300^\circ\text{C} / 20\text{ min}$ , puis  $400^\circ\text{C} / 20\text{ min}$  et  $500^\circ\text{C} / 20\text{ min}$

Après un traitement HF, 50 % des résidus liés associés à la fraction ont été libérés par



pyrolyse, avec 7 % du  $^{14}\text{C}$  initial piégés dans la soude probablement sous forme de  $\text{CO}_2$  et 36 % récupérés dans le méthanol. 55 % des résidus liés libérés par pyrolyse et récupérés dans le méthanol ont été identifiés par HPLC comme étant de l'hydroxy-atrazine, le reste consistant en un seul produit non-identifié. L'application d'un gradient de température de pyrolyse plus progressif n'augmente pas le rendement de pyrolyse et favorise la dégradation de l'atrazine en un autre composé non-identifié. Lorsque la température de pyrolyse est augmentée jusqu'à  $500^\circ\text{C}$  le rendement de pyrolyse est significativement augmenté, mais on favorise alors la transformation de l'atrazine en composés non-identifiés.

Des essais de pyrolyse ont également été réalisés en utilisant une «canne» en pyrex, cette canne plongeant dans le premier piège méthanol. Les résultats sont identiques à ceux obtenus avec la canne inox, et nous indiquent donc que la transformation de l'atrazine lors de la pyrolyse n'est pas provoquée ou catalysée par l'inox.

#### 4.3.2 Faisabilité de l'utilisation de la Py-GC-C-IRMS et de la Py-GC-MS

L'analyse moléculaire de l'atrazine et de ses principaux métabolites hydroxylés et déalkylés par Py-GC-MS a permis d'identifier deux ions caractéristiques communs à ces molécules de  $m/z=58$  et  $68$ . Pour les molécules marquées au  $^{13}\text{C}$  sur le noyau triazinique, ces deux ions caractéristiques ont respectivement des  $m/z$  égaux à  $58$  et  $70$  (Figure 4.2 et 4.3). L'utilisation du marquage  $^{13}\text{C}$  et de la Py-GC-C-SIRMS permet repérer les temps de rétention des pics présentant un enrichissement isotopique provenant du noyau triazinique. La recherche des ions caractéristiques de l'atrazine et de ses métabolites se fait ensuite autour de ces temps de rétention.

Les résultats obtenus pour la pyrolyse des fractions dopées en  $^{13}\text{C}$ -atrazine avant la pyrolyse permettent de constater que les pics correspondant à un enrichissement isotopique ont des temps de rétention identiques pour toutes les fractions et les deux sols (Figure 4.4). Ces pics enrichis se trouvent principalement dans deux zones des pyrochromatogrammes situées entre  $1250$  et  $2500$  s,

et 4500 et 5500 s. Il apparaît par contre que les abondances relatives de ces pics sont différentes selon la fraction et le sol. De plus, plusieurs pics enrichis en  $^{13}\text{C}$  sont obtenus, ce qui tend à indiquer des transformations de l'atrazine lors de la pyrolyse. L'allure des pyrochromatogrammes est différente selon les fractions, indiquant une transformation de l'atrazine différente selon la fraction et le sol. Les pyrochromatogrammes de l'Humine MG8 NT, des (Humines)<sub>HF</sub> MG8 et MS5 NT, et des «Humines réfractaires» MG8 et MS5 NT, montrent des enrichissements isotopiques faibles par rapport aux autres fractions. Ceci indique probablement un problème lors de la pyrolyse. Des répétitions de ces pyrolyses doivent être réalisées. Cependant, les ions caractéristiques de l'atrazine ont pu être repérés sur les spectres de masse correspondant aux pics enrichis en  $^{13}\text{C}$  situés aux alentours de 4800 s. L'étude des spectres de masse correspondant aux autres pics enrichis en  $^{13}\text{C}$  n'a pas été réalisée.

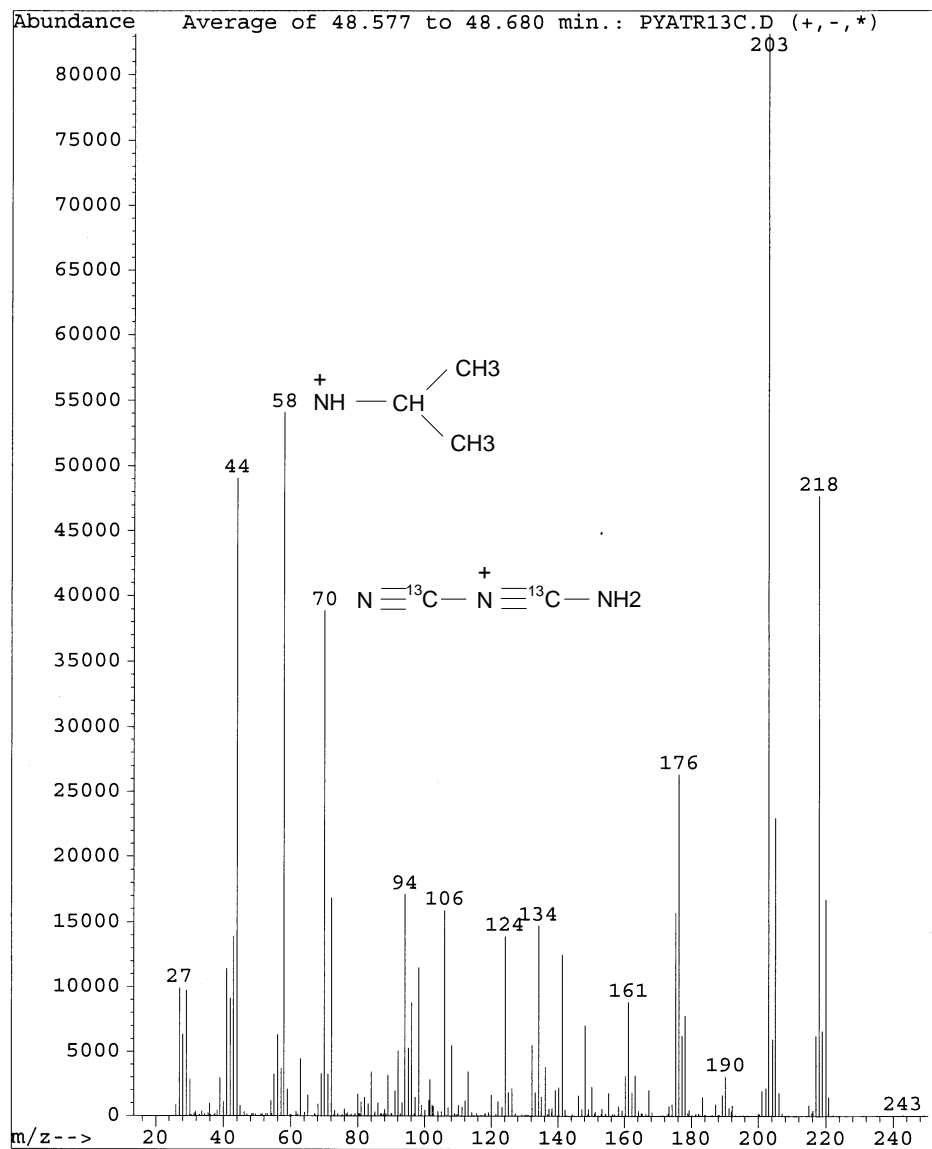


FIG. 4.2 – Spectre de masse de l'atrazine  $^{13}\text{C}$  obtenu par ionisation par impact électronique

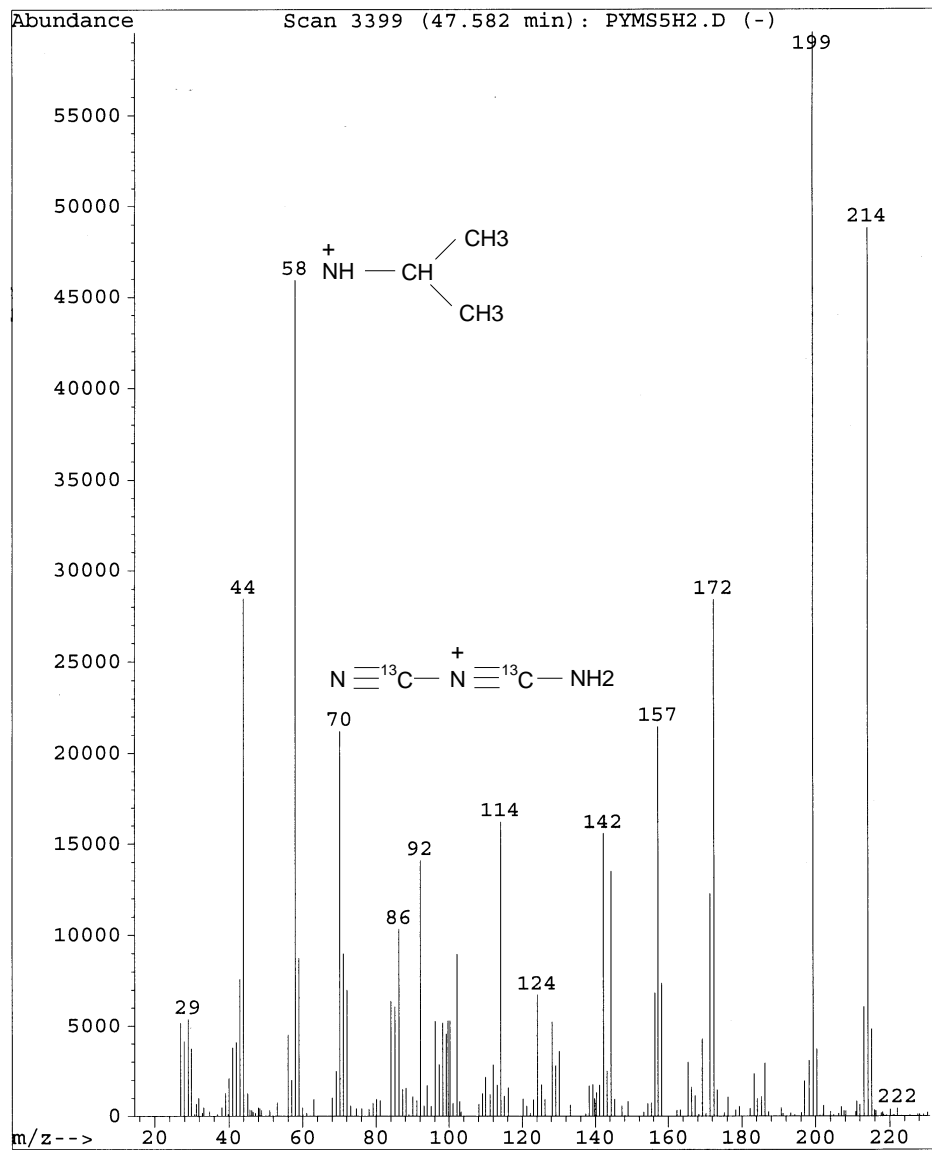


FIG. 4.3 – Spectre de masse de l'hydroxy-atrazine  $^{13}\text{C}$  obtenu par ionisation par impact électronique

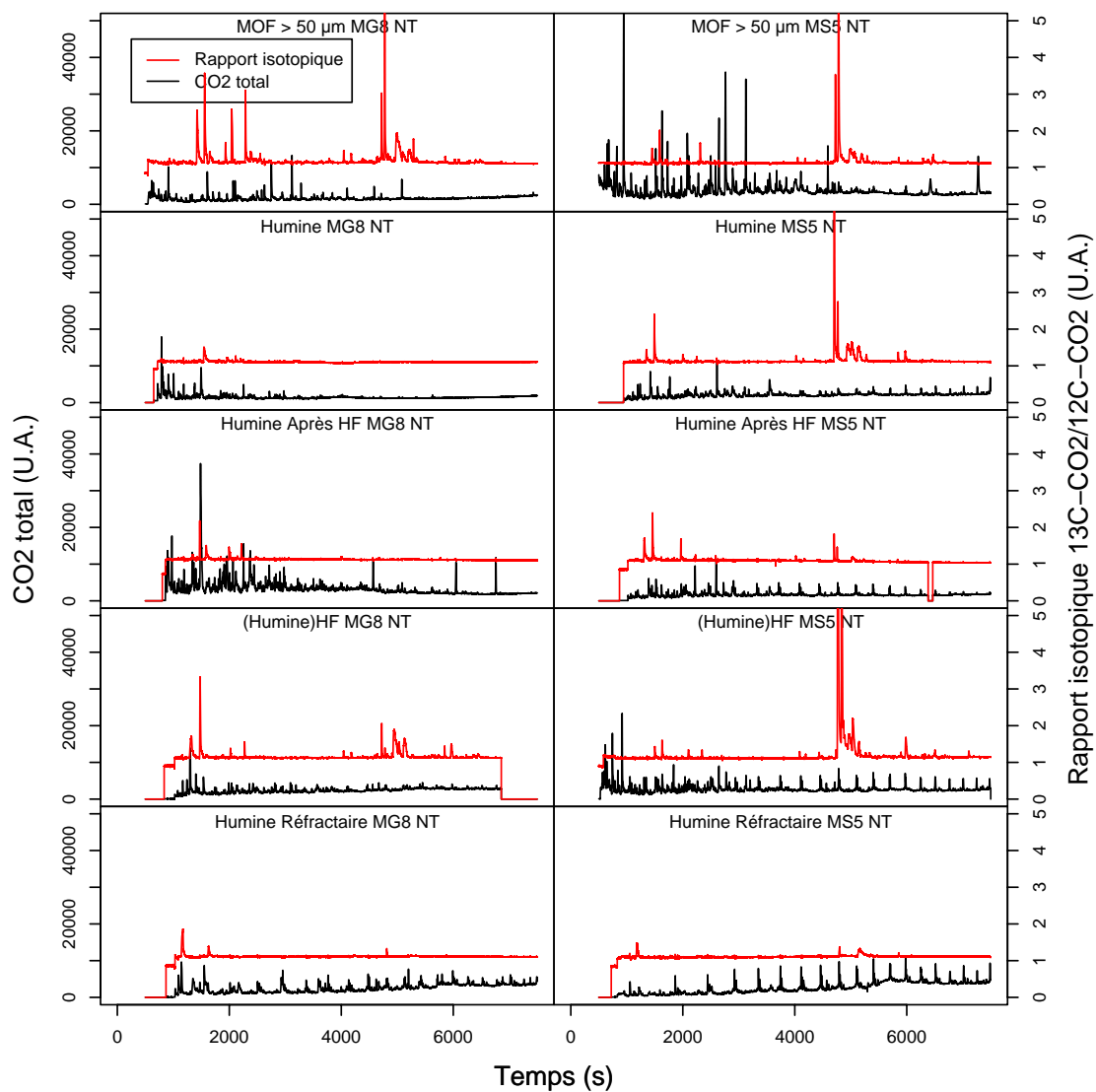


FIG. 4.4 – Pyrochromatogrammes des fractions granulométriques et chimiques «dopées» avec de la  $^{13}\text{C}$ -atrazine

### 4.3.3 Distribution des résidus $^{14}\text{C}$ et $^{13}\text{C}$ totaux après 226 jours d'incubation

Les incubations réalisées avec de la  $^{14}\text{C}$ -atrazine permettent de quantifier les résidus liés au sein des fractions granulométriques obtenues. La distribution relative des résidus liés au sein des fractions granulométriques (Tableau 4.3) permet de constater que celle-ci n'est pas significativement différente de la distribution obtenue pour les échantillons traités avec de la  $^{14}\text{C}$ -atrazine en solution aqueuse à  $1 \text{ mg}_{\text{atrazine}} \cdot \text{kg}_{\text{sol}}^{-1}$  (cf Tableau 3.2, page 82). Plus de 50 % des résidus liés totaux d'atrazine se trouvent dans la fraction  $< 20 \mu\text{m}$ , et les fractions MOF  $> 50 \mu\text{m}$  présentent les concentrations en résidus liés les plus élevées (en  $\text{mg}_{\text{équivalent-atrazine}} \cdot \text{kg}_{\text{fraction}}^{-1}$ ).

TAB. 4.3 – *Distribution des résidus liés  $^{14}\text{C}$  (et  $^{13}\text{C}$ ) au sein des fractions granulométriques des sols traités à une dose de  $20 \text{ mg}_{\text{atrazine}} \cdot \text{kg}_{\text{sol}}^{-1}$  (moyennes des trois répétitions et écarts-types)*

		MOF $> 50 \mu\text{m}$	Min $> 50 \mu\text{m}$	20-50 $\mu\text{m}$	$< 20 \mu\text{m}$
% du $^{14}\text{C}$ -appliqué	MG8	$0.9 \pm 0.2$	$0.3 \pm 0.1$	$1.6 \pm 0.2$	$6.8 \pm 0.3$
	WG8	$5.5 \pm 0.9$	$1.1 \pm 0.3$	$8.3 \pm 0.8$	$17.6 \pm 0.4$
	MV6	$9.3 \pm 1.2$	$1.5 \pm 0.4$	$6.0 \pm 0.7$	$22.7 \pm 0.6$
	MS5	$1.7 \pm 0.1$	$0.1 \pm 0.0$	$2.3 \pm 0.2$	$13.0 \pm 0.5$
% du $^{14}\text{C}$ -lié	MG8	$9.2 \pm 1.3$	$2.7 \pm 0.4$	$16.6 \pm 1.0$	$71.5 \pm 2.1$
	WG8	$16.8 \pm 1.9$	$3.3 \pm 1.2$	$25.5 \pm 1.6$	$54.5 \pm 1.8$
	MV6	$23.6 \pm 3.3$	$3.7 \pm 1.0$	$15.3 \pm 1.5$	$57.4 \pm 0.9$
	MS5	$9.8 \pm 0.3$	$0.4 \pm 0.2$	$13.5 \pm 1.4$	$76.3 \pm 1.2$
$\text{mg}_{\text{équivalent atrazine}} \cdot \text{kg}_{\text{fraction}}^{-1}$	MG8	$14.4 \pm 2.4$	$0.4 \pm 0.1$	$0.9 \pm 0.1$	$2.6 \pm 0.1$
	WG8	$132.2 \pm 41.4$	$1.5 \pm 0.4$	$5.0 \pm 0.5$	$6.6 \pm 0.2$
	MV6	$185.4 \pm 51.5$	$1.0 \pm 0.3$	$3.9 \pm 0.3$	$11.6 \pm 0.4$
	MS5	$32.9 \pm 5.0$	$0.1 \pm 0.0$	$2.3 \pm 0.1$	$4.1 \pm 0.1$

### 4.3.4 Utilisation de la Py-GC-C-SIRMS pour la caractérisation des résidus liés d'atrazine $^{13}\text{C}$

On constate la présence de pics enrichis en  $^{13}\text{C}$  sur les pyrochromatogrammes obtenus à partir des fractions MOF  $> 50 \mu\text{m}$  des sols WG8, MV6 et MS5 ayant été traités avec de la  $^{13}\text{C}$ -atrazine puis incubés 226 jours (Figure 4.5). Les temps de rétention correspondant aux pics enrichis sont identiques à ceux obtenus pour la pyrolyse des fractions dopées en  $^{13}\text{C}$ -atrazine avant la pyrolyse. Pour la fraction MOF  $> 50 \mu\text{m}$  du sol MG8, ainsi que pour les fractions  $< 20 \mu\text{m}$  des sols MG8, WG8 et MV6, on observe pas de pics enrichis (Figure 4.6) alors que les résultats obtenus pour

l'atrazine  $^{14}\text{C}$  nous indiquent qu'il y a bien présence de résidus liés marqués. La fraction  $< 20 \mu\text{m}$  du sol MS5 présente un seul pic enrichi avec un temps de rétention de 4250 s qui n'a pas été observé lors des pyrolyses des échantillons «dopés».

Les analyses isotopiques des fractions  $\text{Min} > 50 \mu\text{m}$  n'ont pas été réalisées du fait d'une trop faible teneur en matière organique et en résidus liés. Celles des fractions 20-50  $\mu\text{m}$  n'ont pas permis d'observer de pics enrichis en  $^{13}\text{C}$ .

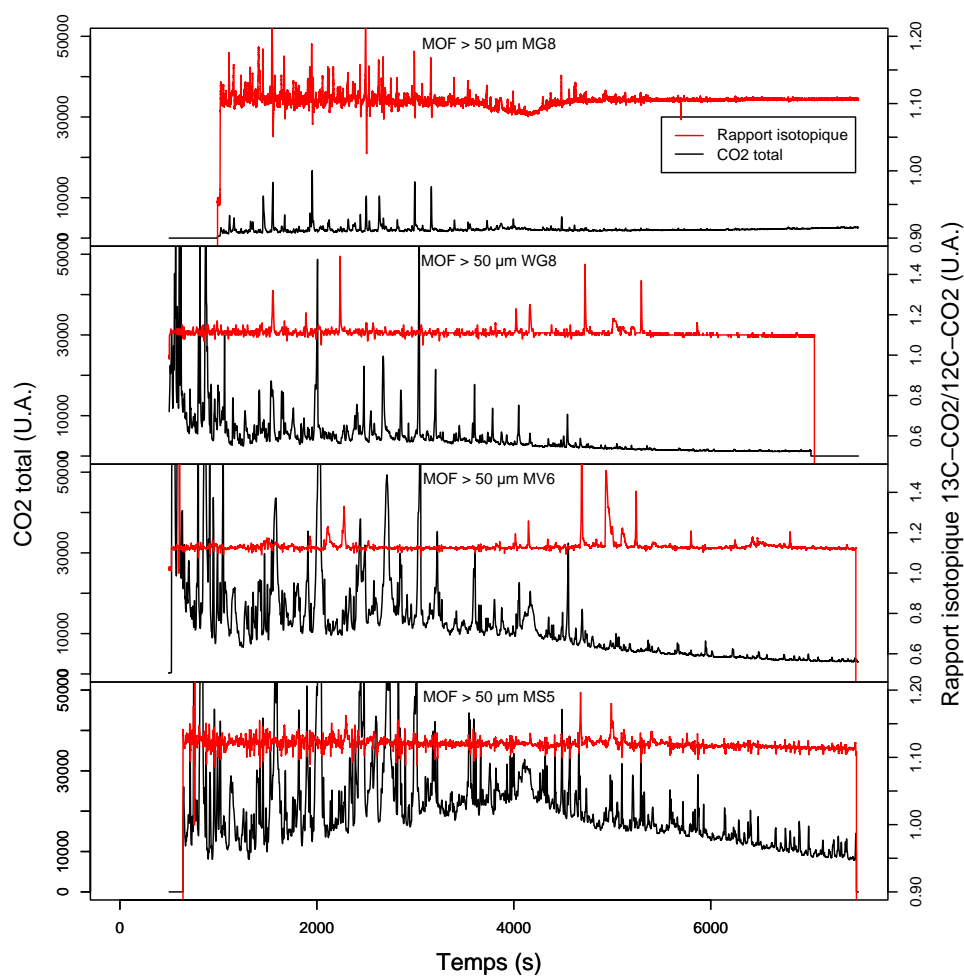


FIG. 4.5 – Pyrochromatogrammes des fractions  $\text{MOF} > 50 \mu\text{m}$  contenant des résidus liés de  $^{13}\text{C}$ -atrazine obtenus après incubation des sols traités avec de la  $^{13}\text{C}$ -atrazine