



TH-NB15

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

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^AT_EX, Yves Coquet pour tout ce qui concerne les statistiques (j'ai pas encore tout compris!), Pierre Vachier bien qu'il continue a 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^AT_EX 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 ;
 - contacter Ludovic Loiseau : 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

ABRÉVIATIONS	16
INTRODUCTION GÉNÉRALE	18
1 Dissipation de l'atrazine dans les sols	22
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}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
2 Rétention de l'atrazine et de ses principaux métabolites dans les sols	41

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
3	Stabilisation de l'atrazine : caractérisation des résidus liés formés et mécanismes impliqués dans leur formation	72
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 μm	77
3.2.4	Hydrolyse acide des (humines) _{HF}	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}C dans les fractions granulométriques	81

3.3.2	Carbone et résidus liés ^{14}C solubilisés par les traitements chimiques sur les fractions $< 20\mu\text{m}$	85
3.3.3	Caractérisation des résidus liés ^{14}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
4	Evaluation des techniques pyrolytiques et du marquage ^{13}C pour l'étude des résidus liés	100
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}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}C (et ^{14}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}C et ^{13}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}C	115
4.4	Discussion	117
4.4.1	Utilisation de la pyrolyse «off-line» pour l'étude des résidus liés d'atrazine	117
4.4.2	Caractérisation des résidus liés d'atrazine par Py-GC-C-SIRMS et Py-GC-MS	119
4.5	Conclusion	121
5	Evaluation de la bio-disponibilité des résidus liés d'atrazine vis-à-vis de la microflore du sol	122
5.1	Introduction	122
5.2	Matériels et méthodes	124
5.2.1	Incubation des résidus liés associés aux fractions granulométriques et chimiques obtenues après 55 jours d'incubation	124
5.2.2	Extraction des fractions granulométriques et chimiques	125
5.3	Résultats	126
5.3.1	Bio-disponibilité pour les micro-organismes des résidus liés d'atrazine associées aux fractions granulométriques et chimiques	126

5.3.2	Influence des mécanismes de stabilisation sur la bio-disponibilité des résidus liés d'atrazine	129
5.4	Discussion	132
5.5	Conclusion	134
CONCLUSIONS GÉNÉRALES		136
Bibliographie		142
A	Test de comparaison de deux droites de régression (Aivazian, 1970)	158
A.1	Test des variances	159
A.2	Cas de variances homogènes	159
A.2.1	Test de l'homogénéité des pentes des droites de régression	159
A.2.2	Test de l'homogénéité des ordonnées à l'origine des droites de régression .	160
A.3	Cas de variances non homogènes	161
A.3.1	Test de l'homogénéité des pentes des droites de régression	162
A.3.2	Test de l'homogénéité des ordonnées à l'origine des droites de régression .	162
B	Cinétiques d'hydrolyses de l'atrazine dans NaOH 0.1 M et HF 2.5 %	164
C	Mise au point de la récupération du ¹⁴C lors des concentrations sur cartouches	
ENV+		167

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 ¹⁴C-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 ¹⁴C 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 ¹⁴C 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 K_{fdes}, n_{fdes} et Q 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 (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</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 ($K_{d\ 24h} = f(C_{e\ 24h})$) pour les trois molécules et les quatre sols non-incubés</i>	68
2.11	<i>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 . . .</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 ^{14}C 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 ^{14}C solubilisés associés aux fractions $< 20 \mu\text{m}$ 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 ^{13}C obtenu par ionisation par impact électronique</i>	112
4.3	<i>Spectre de masse de l'hydroxy-atrazine ^{13}C obtenu par ionisation par impact électronique</i>	113
4.4	<i>Pyrochromatogrammes des fractions granulométriques et chimiques «dopées» avec de la ^{13}C-atrazine</i>	114
4.5	<i>Pyrochromatogrammes des fractions MOF $> 50 \mu\text{m}$ contenant des résidus liés de ^{13}C-atrazine obtenus après incubation des sols traités avec de la ^{13}C-atrazine . . .</i>	116
4.6	<i>Pyrochromatogrammes des fractions $< 20 \mu\text{m}$ contenant des résidus liés de ^{13}C-atrazine obtenus après incubation des sols traités avec de la ^{13}C-atrazine</i>	117
5.1	<i>Cinétiques de minéralisation des résidus liés associés aux fractions granulométriques et chimiques</i>	128

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)HF et Hum.Réf.=Humine réfractaire)</i>	131
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>	137
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 < 20 µm et (iv) regroupement des résidus liés caractérisés par type de mécanismes supposés impliqués dans leur formation</i>	139
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>	165

Liste des tableaux

1.1	<i>Principales caractéristiques des quatres 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 ^{14}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 (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</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 ^{14}C au sein des fractions granulométriques des quatre sols (moyenne des trois répétitions et écarts-types)</i>	82
3.3	<i>Caractérisation des résidus liés ^{14}C solubilisés associés aux fractions $< 20 \mu\text{m}$ 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 ^{13}C-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 ^{14}C (et ^{13}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)</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>	124
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>	126

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>	127
B.1	<i>Evaluation des modifications induites sur les taux de récupération et la nature chimique de la ^{14}C-atrazine lors des différents traitements chimiques utilisés ($\text{NaOH}/\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 0.1 M, HF 2.5 %, HCl 2 M en conditions de reflux) en présence des fractions solides des quatre sol</i>	166
C.1	<i>Rendement de récupération du ^{14}C lors de la concentration sur cartouche ENV+ pour une solution de pH basique ou acide</i>	168
C.2	<i>Modification du rendement de récupération du ^{14}C après passage de NaOH 0.1 M dans les cartouches ENV+</i>	169

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

Évaporés = 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

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.

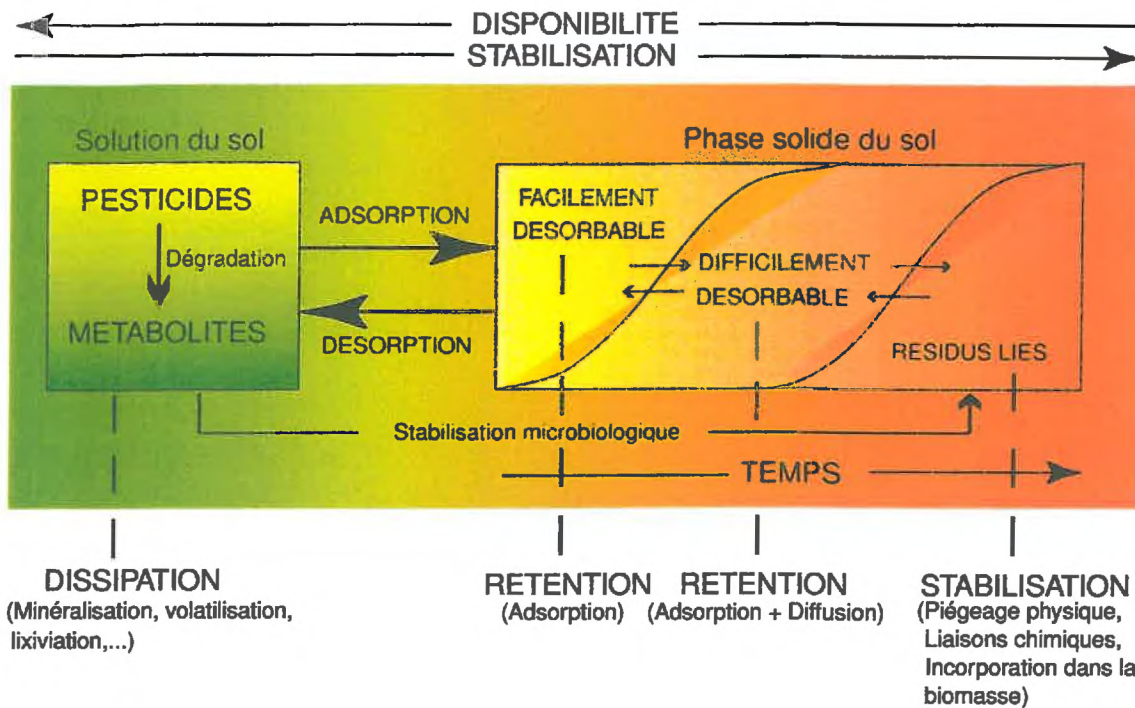


FIG. 1 – *Devenir des pesticides dans les sols, modèle schématisé d'interprétation de l'évolution de l'état des pesticides et de la formation des résidus non-extractibles (ou résidus liés) (Barriuso et al., 1996)*

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 adsorbés 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}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}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- N^2 éthyl- N^4 isopropyl-1,3,5-triazine-2,4-diamine, ATR) uniformément marquée au ^{14}C ou au ^{13}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

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 Sablonnière, 2000 ; Welté et Soffietti, 2000 ; Gobbo-Butty, 2000 ; 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}C sur le noyau triazinique. Le suivi de la minéralisation est réalisé par le piégeage du 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.

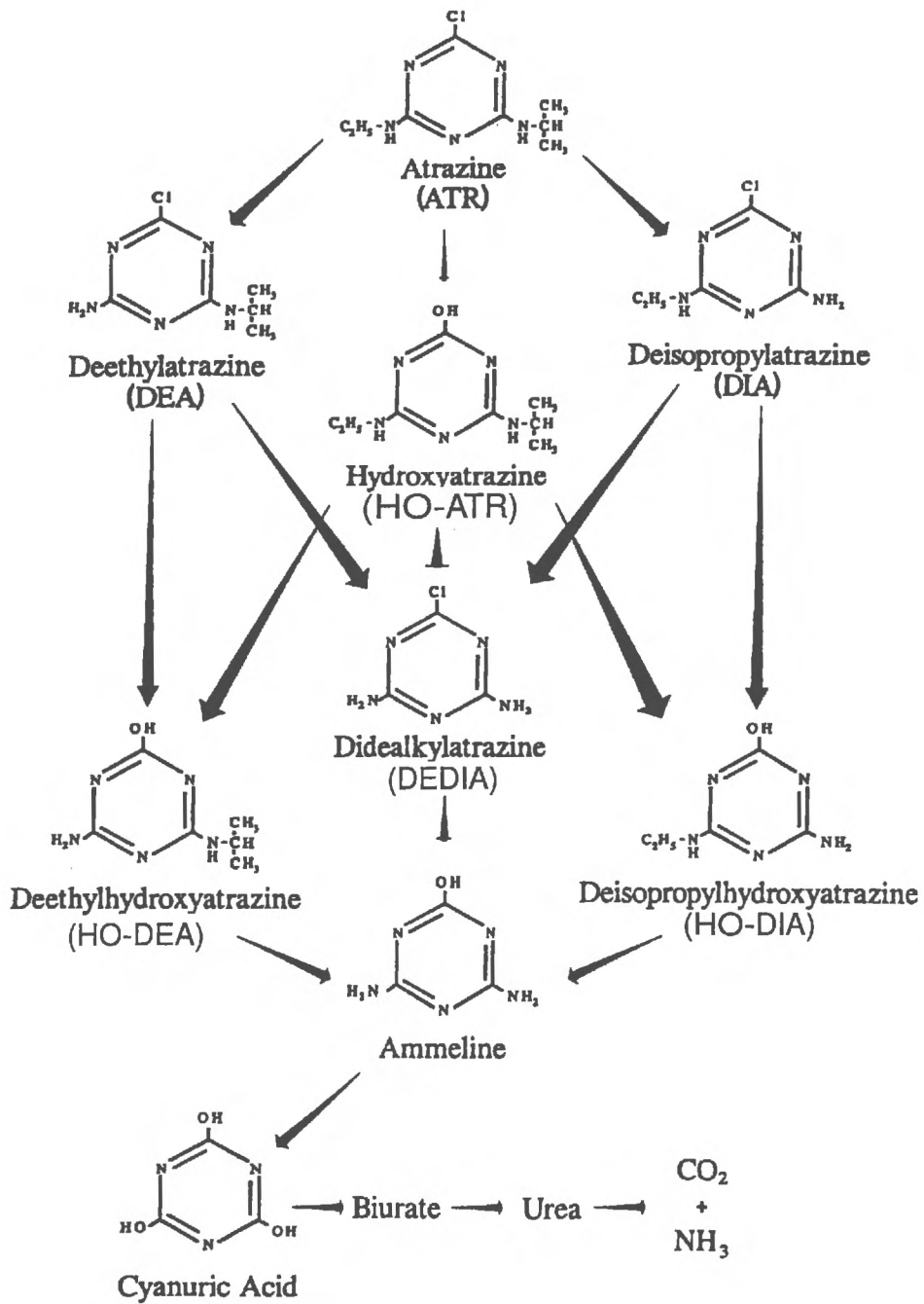


FIG. 1.1 – Voies de dégradation de l'atrazine dans les sols (d'après Kruger et al., 1993)

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†	CO‡	CaCO ₃	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}C -atrazine (6-chloro- N^2 éthyl- 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°C), une faible solubilité dans l'eau ($33 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ à 20°C et à $\text{pH} = 7$) et il s'agit d'une molécule faiblement volatile (pression de vapeur 0.039 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 g de sols secs (de 57.5 à 66.8 g de sols frais) et tamisés à 5 mm sont placés dans des bocaux en verre hermétiquement fermés. 1.8 ml de la solution aqueuse de ^{14}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 ml d'eau et un contenant 2 ml de $\text{NaOH } 2 \text{ M}$ sont également placés dans les bocaux pour respectivement maintenir une humidité constante et piéger le CO_2 produit. Les bocaux sont ensuite placés à $28 \pm 1^\circ \text{C}$ dans l'obscurité pendant 56 jours. Les pièges de 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 CaCl_2 10^{-2} M, puis cinq fois avec du méthanol par retournement à 20 ± 2 ° 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) 5.10^{-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}C lors des évaporations est systématiquement réalisé par comptage du ^{14}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 BÉTAMATIC 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}C - CO_2 récupéré après combustion à l'aide d'un Sample Oxidizer Packard Model 307, utilisant du Carbosorb (Packard) comme piège à 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 \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'élution utilisé pour les analyses HPLC

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

† : dodécyl sulfate de sodium

1.3 Résultats

1.3.1 Distribution des résidus ¹⁴C 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 ¹⁴C-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 ¹⁴ 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 ¹⁴C-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).

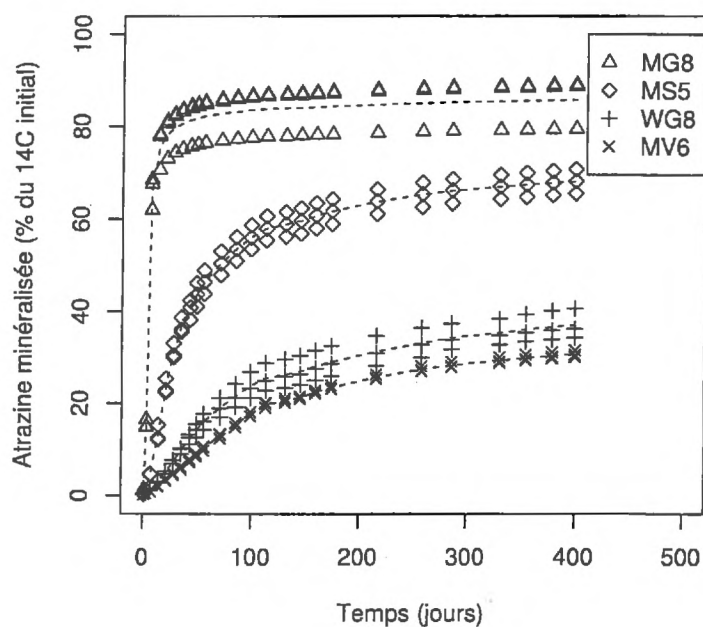


FIG. 1.2 – Cinétiques de minéralisation de la ^{14}C -atrazine pour les quatre sols (trois répétitions (points) et moyennes (lignes en pointillés))

Pour le sol MG8, qui est le sol minéralisant le plus, seul 4 % du ^{14}C -appliqué est extractible après 55 jours. Pour les deux sols minéralisant le moins (WG8 et MV6), environ 30 % du ^{14}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}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}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}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).

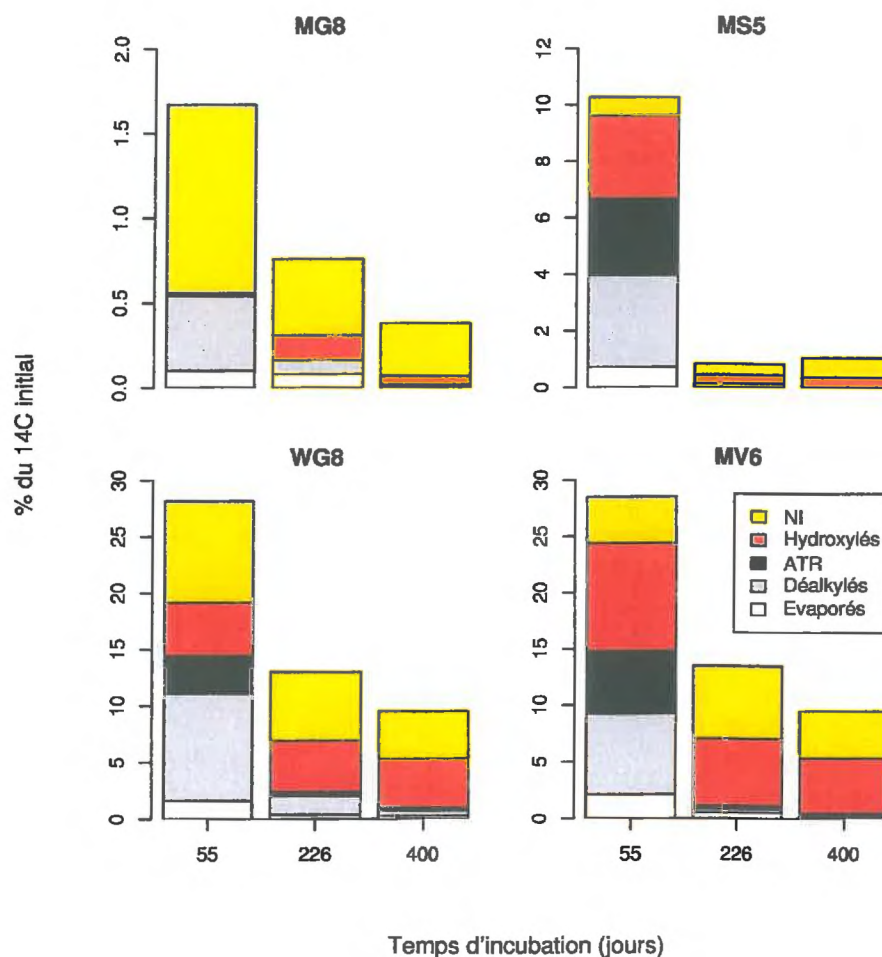


FIG. 1.3 – Caractérisation des résidus extractibles à l'eau par HPLC pour les quatre sols et les trois dates (moyennes des trois répétitions)

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}C appliqué		
MG8	Evaporé†	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	Evaporé†	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	Evaporé†	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	Evaporé†	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

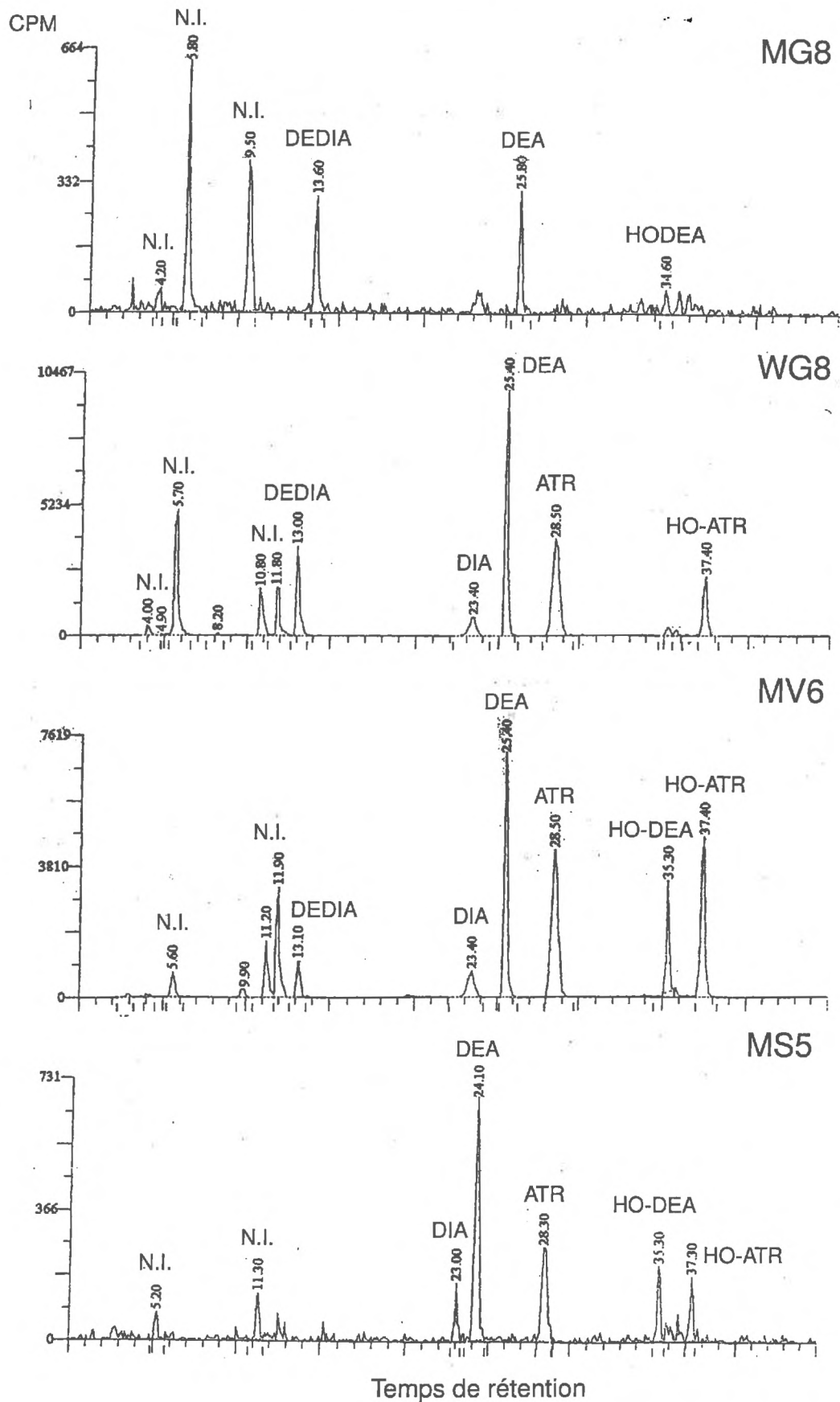


FIG. 1.4 - Chromatogrammes ^{14}C caractéristiques des extraits aqueux pour les quatre sols après 55 jours d'incubation

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).

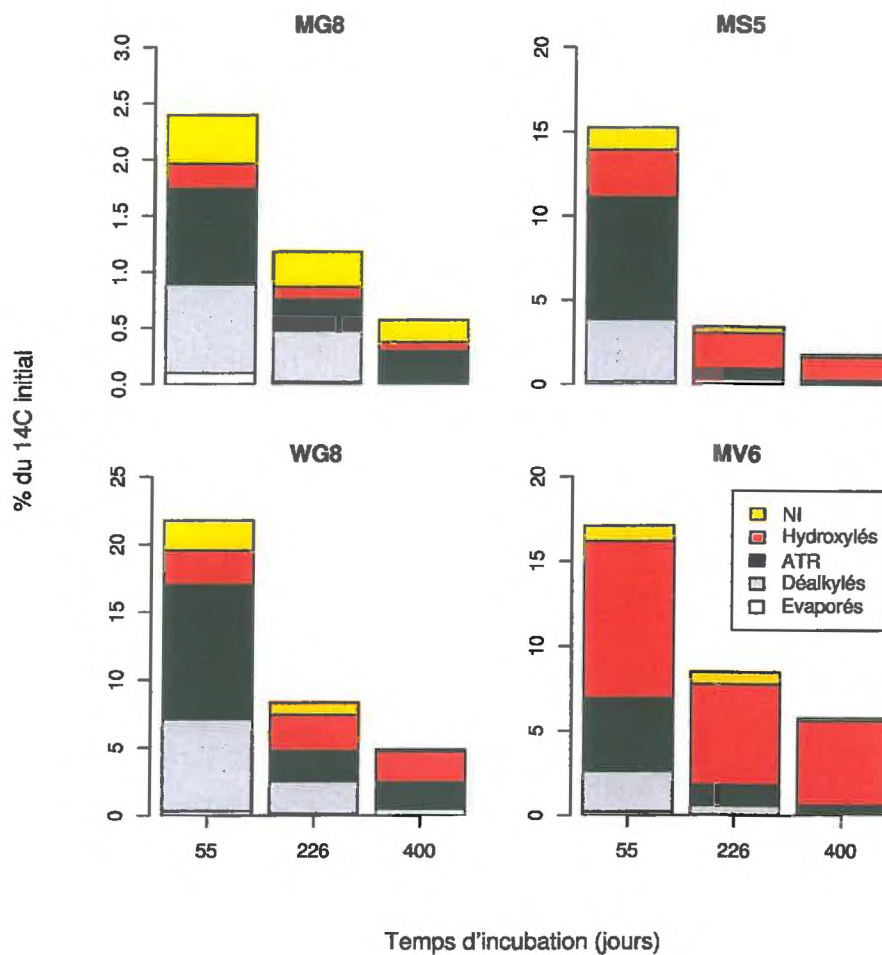


FIG. 1.5 – Caractérisation des résidus extractibles au méthanol par HPLC pour les quatre sols et les trois dates (moyenne des trois répétitions)

Les proportions de dérivés déalkylés et hydroxylés (relatives au ¹⁴C 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}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

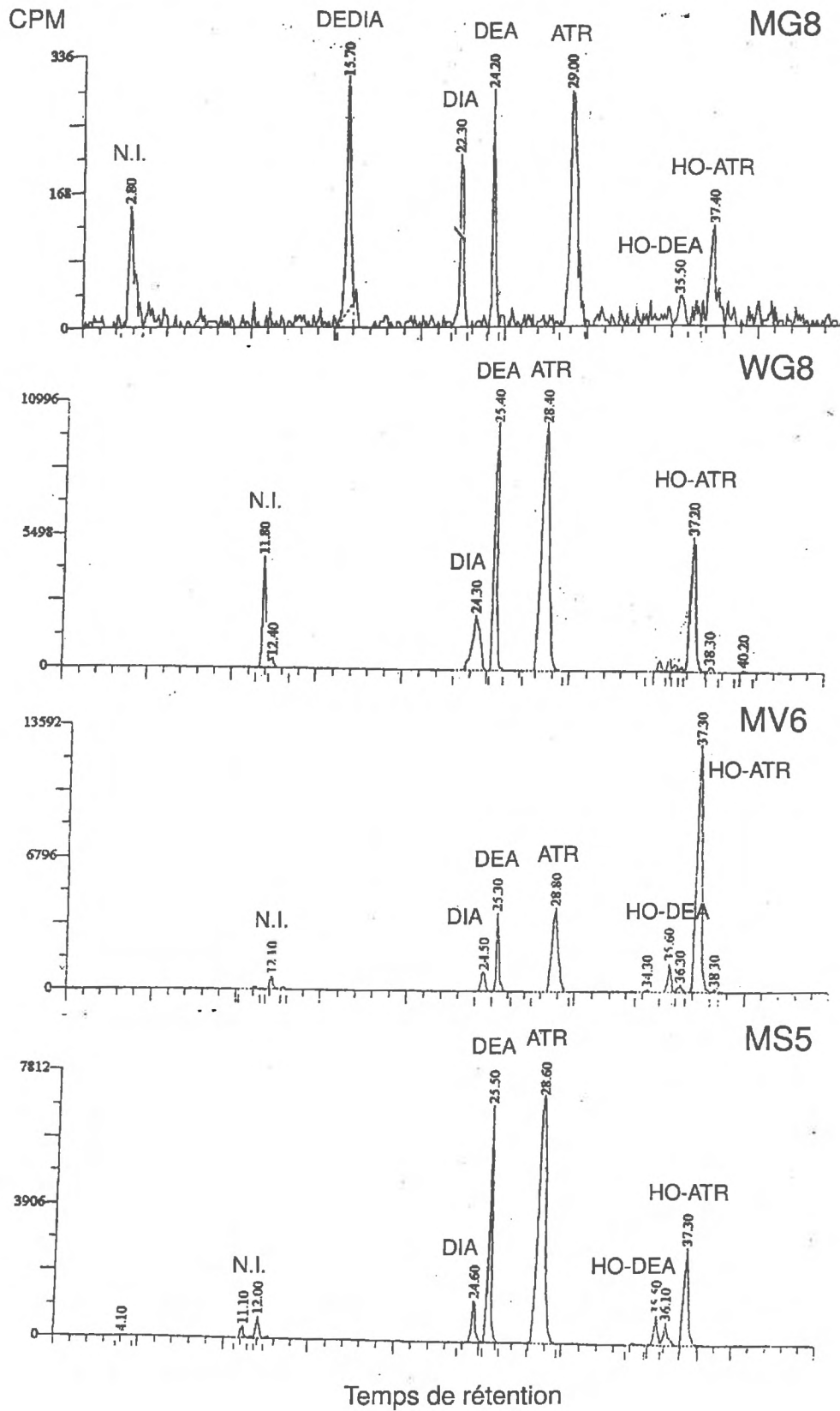


FIG. 1.6 - Chromatogrammes ^{14}C caractéristiques des extraits méthanoliques pour les quatre sols après 55 jours d'incubation

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}C extractibles à l'eau après incubation, pouvant atteindre près de 90 % du ^{14}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}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

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 ($E.L.^1 > 80 \text{ kJ.mol}^{-1}$), (iii) les interactions par transfert de charges ($E.L. : \approx \leq 80 \text{ kJ.mol}^{-1}$), (iv) les liaisons hydrogène ($E.L. : 10 \text{ à } 25 \text{ kJ.mol}^{-1}$), (v) des forces de dispersion de London - Van Der Waals / d'exclusion hydrophobe ($E.L. : \leq 8 \text{ kJ.mol}^{-1}$ à 80 kJ.mol^{-1}) (Calvet *et al.*, 1980 ; Calderbank, 1989 ; Calvet, 1989 ; Israelachvili et Pashley, 1982 ;

¹E.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'amtrole 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}C -atrazine (6-chloro- N^2 éthyl- 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}C -dééthyl-atrazine (6-chloro-2-amino- 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}C sur le noyau triazinique.

La ^{14}C -hydroxy-atrazine (6-hydroxy- N^2 éthyl- N^4 isopropyl-1,3,5-triazine-2,4-diamine, HO-ATR) a été préparée au laboratoire par hydrolyse acide de ^{14}C -atrazine. 0.1 ml d'une solution de ^{14}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}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}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}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}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 ($\text{CaCl}_2 10^{-2} \text{ M}$) 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}C -atrazine (ou ^{14}C -dééthyl-atrazine, ou ^{14}C -hydroxy-atrazine) sont ajoutés à 5 g de chacun des quatre 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}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 ± 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 (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.

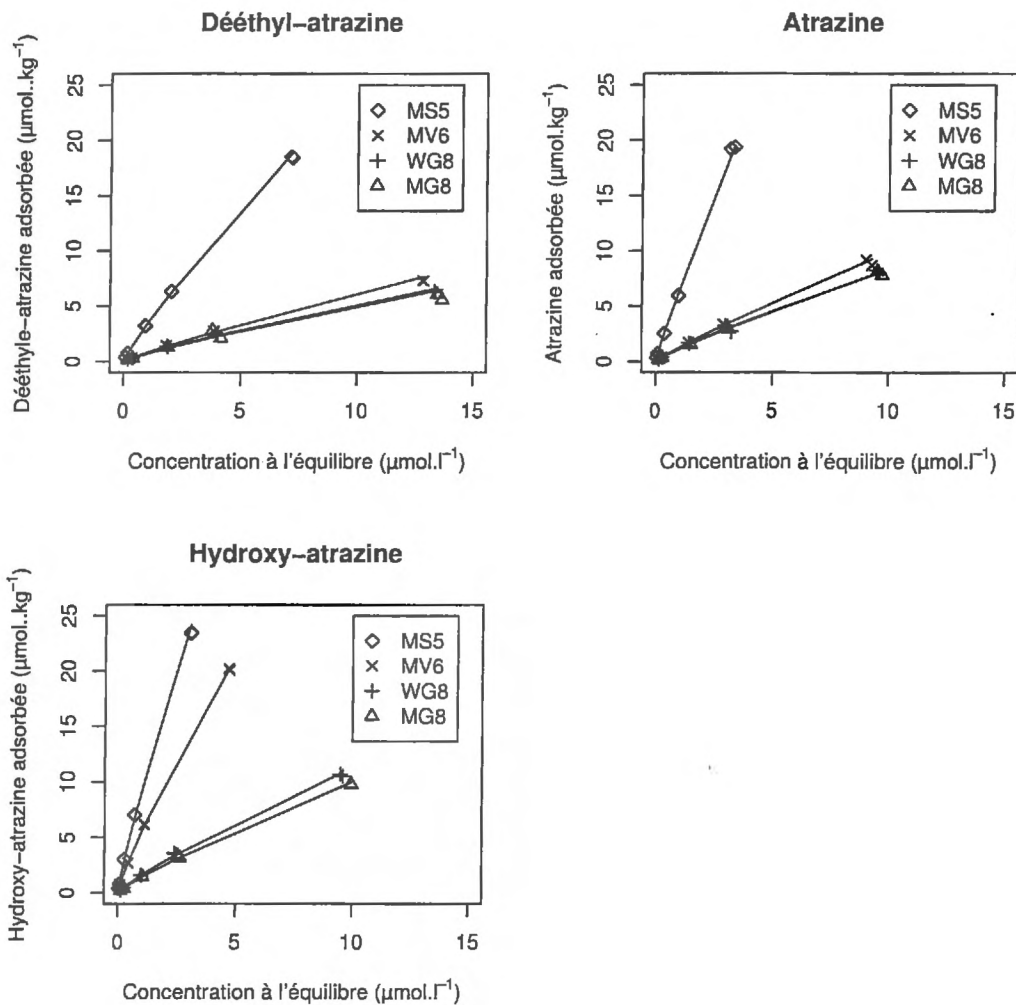


FIG. 2.1 – Isothermes d'adsorption de la dééthyl-atrazine (DEA), de l'atrazine (ATR) et de l'hydroxy-atrazine (HO-ATR) pour les quatre sols étudiés

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 ^a ($\mu\text{mol.l}^{-1}$)		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.

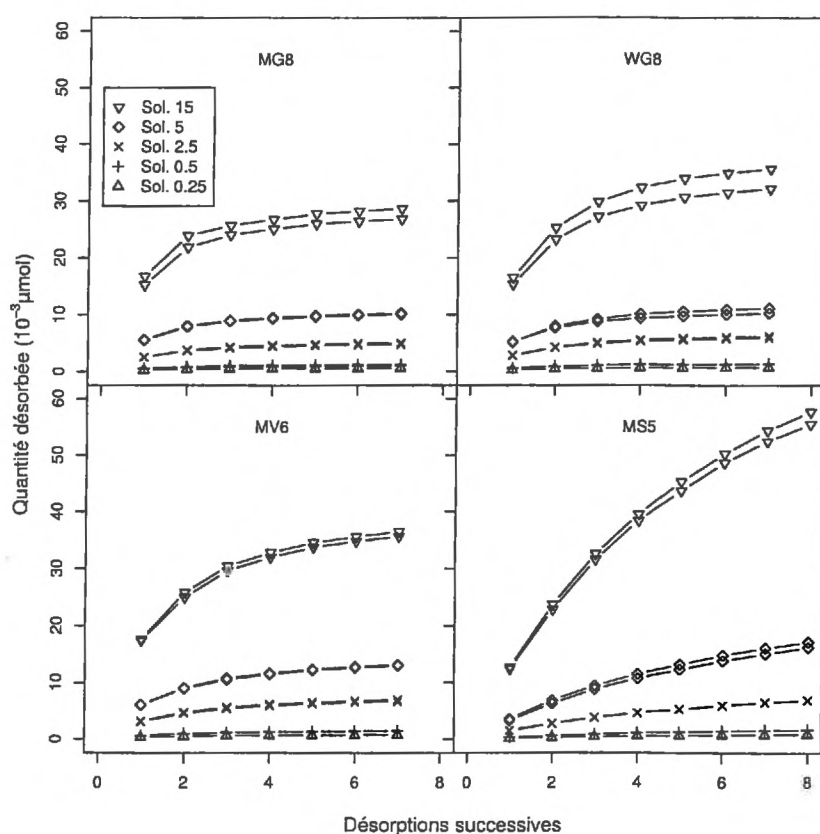


FIG. 2.2 – Quantités cumulées désorbées au cours des désorptions successives pour les quatre sols (exemple de l'atrazine)

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 ^a ($\mu\text{mol.l}^{-1}$)	Quantités désorbées exprimée en $\mu\text{mol.kg}^{-1}$ † et en (% de l'adsorbée)‡						
	0.25	0.50	2.50	5.00	15.00	Moyenne (%)	
MG8	DEA	0.09 (53.0)	0.18 (61.9)	0.74 (57.1)	1.43 (60.8)	3.54 (60.9)	(58.7 ± 3.3)‡
	ATR	0.12 (67.1)	0.24 (69.6)	1.02 (66.8)	2.10 (71.7)	5.72 (71.5)	(69.9 ± 2.1)‡
	HO-ATR	0.15 (70.1)	0.28 (67.3)	1.07 (72.6)	2.28 (69.8)	7.35 (75.0)	(71.0 ± 2.6)‡
WG8	DEA	0.12 (73.8)	0.20 (64.1)	0.94 (70.9)	1.81 (75.9)	4.77 (76.6)	(72.9 ± 4.5)‡
	ATR	0.15 (78.6)	0.29 (76.2)	1.26 (76.3)	2.21 (75.5)	6.99 (85.9)	(78.5 ± 3.8)‡
	HO-ATR	0.16 (67.4)	0.34 (72.3)	1.17 (73.7)	2.51 (71.0)	8.50 (80.2)	(72.9 ± 4.2)‡
MV6	DEA	0.13 (75.4)	0.25 (74.9)	1.11 (78.9)	2.12 (77.7)	5.25 (71.8)	(75.5 ± 2.4)‡
	ATR	0.16 (78.4)	0.30 (79.2)	1.39 (82.0)	2.67 (81.5)	7.39 (82.5)	(80.7 ± 1.6)‡
	HO-ATR	0.14 (38.1)	0.30 (40.2)	1.30 (48.2)	3.18 (51.6)	11.48 (57.0)	(47.0 ± 7.0)‡
MS5	DEA	0.21 (57.1)	0.43 (59.2)	1.90 (59.4)	4.01 (63.6)	12.14 (65.7)	(61.0 ± 3.2)‡
	ATR	0.18 (50.5)	0.34 (47.9)	1.38 (54.6)	3.34 (56.3)	11.35 (58.8)	(53.6 ± 3.9)‡
	HO-ATR	0.17 (42.7)	0.36 (44.1)	1.44 (47.6)	3.94 (44.0)	13.79 (58.8)	(47.4 ± 5.9)‡

† : moyenne des deux répétitions

‡ : 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 ≥ 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 $K_{f_{des}}$ représentent les capacités de désorption. On obtient le classement $K_{f_{des}}(\text{DEA}) < K_{f_{des}}(\text{ATR}) < K_{f_{des}}(\text{HO-ATR})$ pour tous les sols, qui est identique au classement des K_{f_0} . Les valeurs de $n_{f_{des}}$ traduisent la courbure des isothermes de désorption ; plus

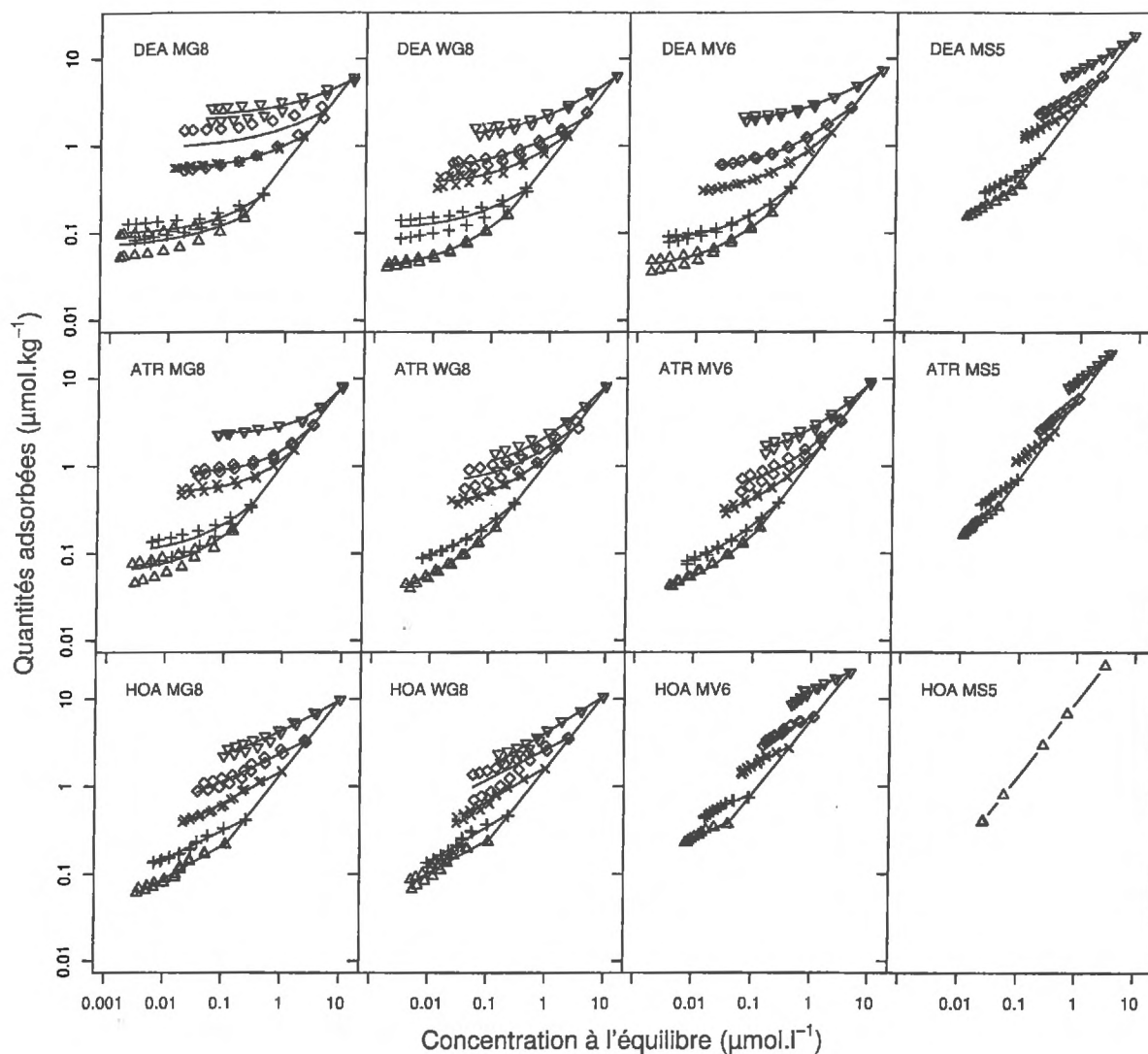


FIG. 2.3 – Isothermes de désorption de la dééthyl-atrazine (DEA), de l'atrazine (ATR) et de l'hydroxy-atrazine (HO-ATR) pour les quatre sols et les cinq solutions initiales

$n_{fdes} \rightarrow 0$, 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.

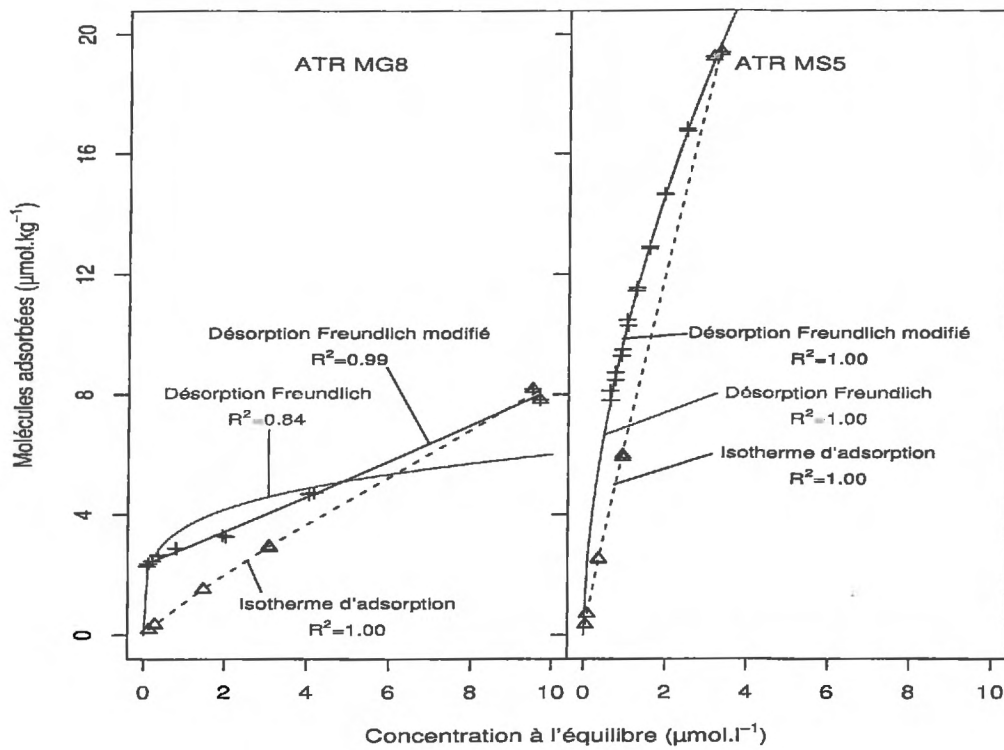


FIG. 2.4 – Comparaison des isothermes de désorptions modélisées selon le formalisme de Freundlich et selon le formalisme de «Freundlich modifié» (exemple de l'atrazine pour les sols MG8 et MS5)

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 ⁿ initiales ($\mu\text{mol.l}^{-1}$)	$K_{fdes}\dagger$ ($\mu\text{mol}^{1-n} \cdot \text{l}^n \cdot \text{kg}^{-1}$)	$n_{fdes}\dagger$	$Q\dagger$ ($\mu\text{mol.kg}^{-1}$)	$Q\dagger$ (% de l'adsorbé)	R^2
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 CaCl_2 10^{-2}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).

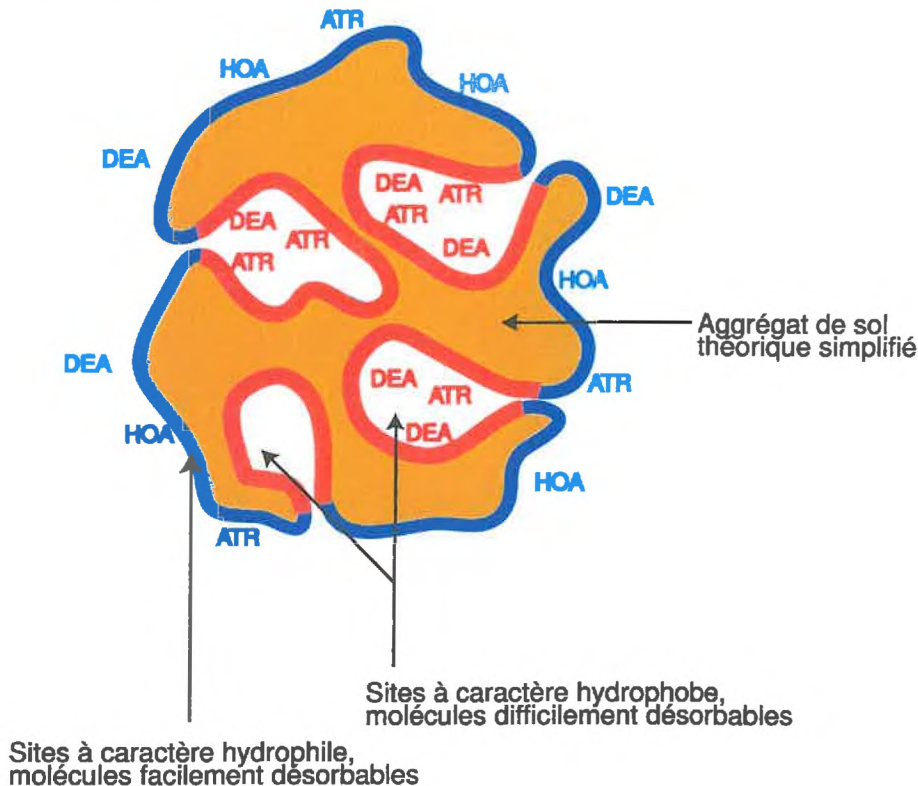


FIG. 2.5 – Schéma hypothétique de la DEA, de l'ATR et de l'HO-ATR adsorbée sur des sites à caractère hydrophiles et/ou hydrophobes

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.

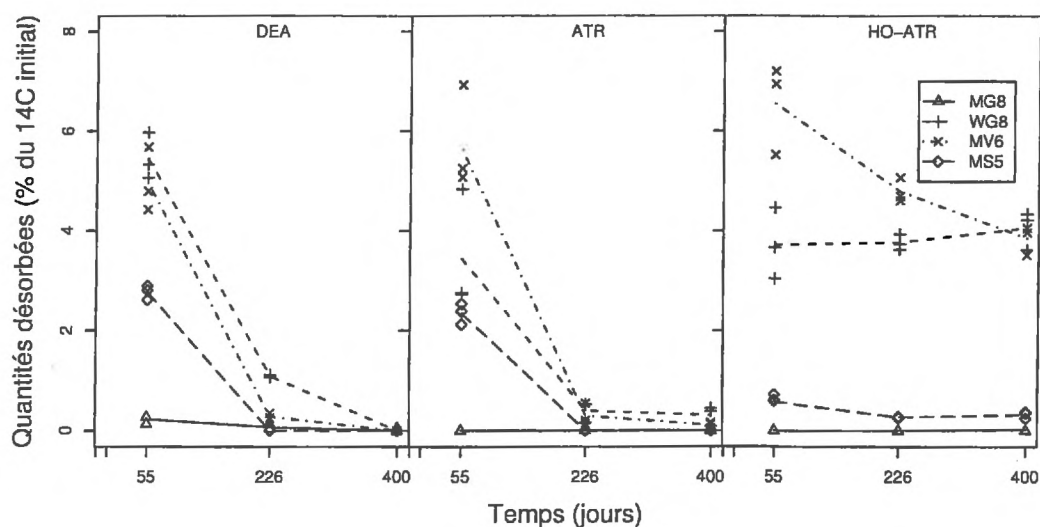


FIG. 2.6 – Evolution des quantités de DEA, d'ATR, et d'HO-ATR désorbées au cours du temps

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.

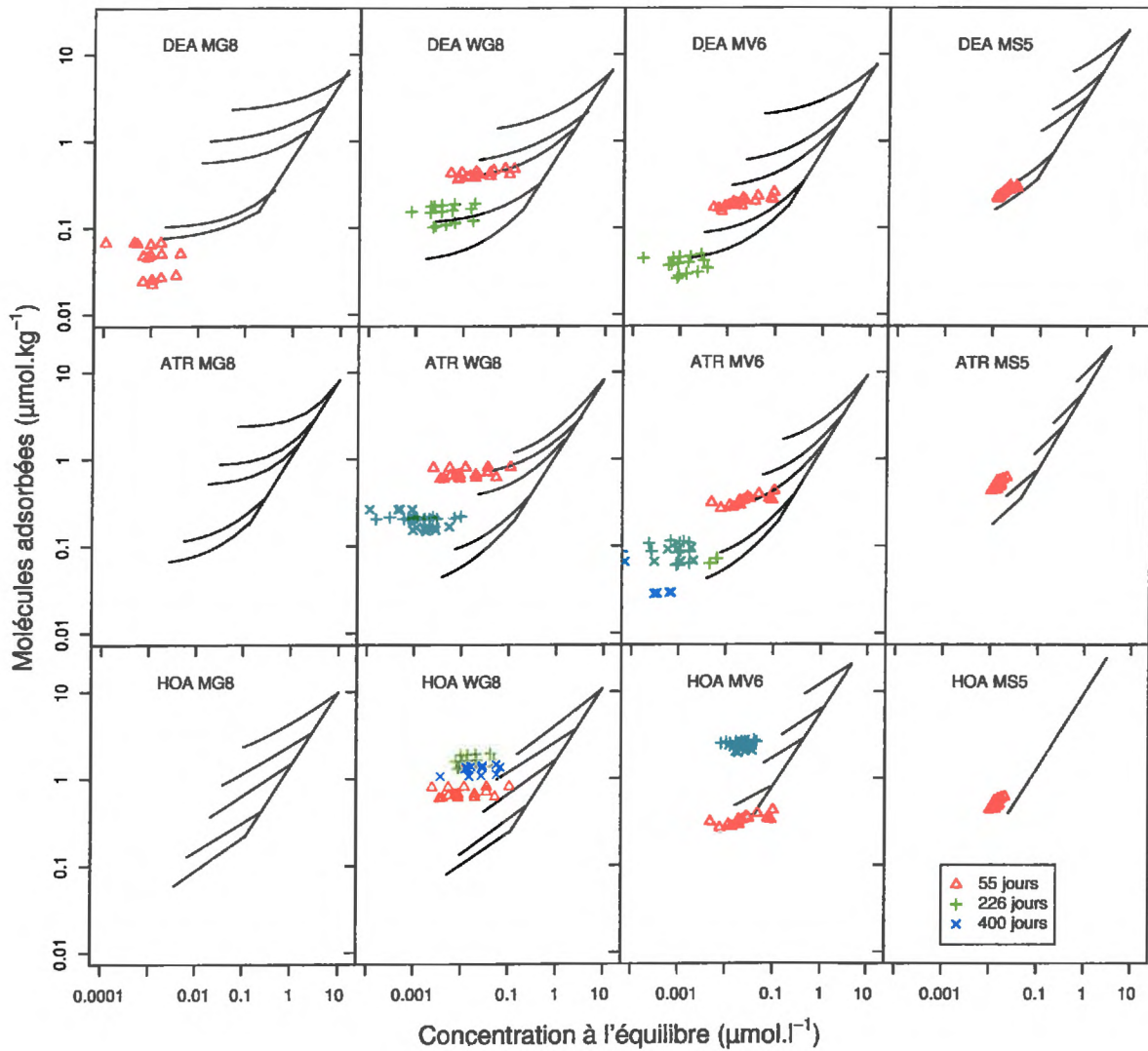


FIG. 2.7 – Isothermes de désorption de la DEA, de l'ATR, et de l'HO-ATR après 55, 226, et 400 jours d'incubation pour les quatre sols (les lignes représentent les isothermes obtenues sans incubation, et les points représentent les isothermes après incubation (trois répétitions))

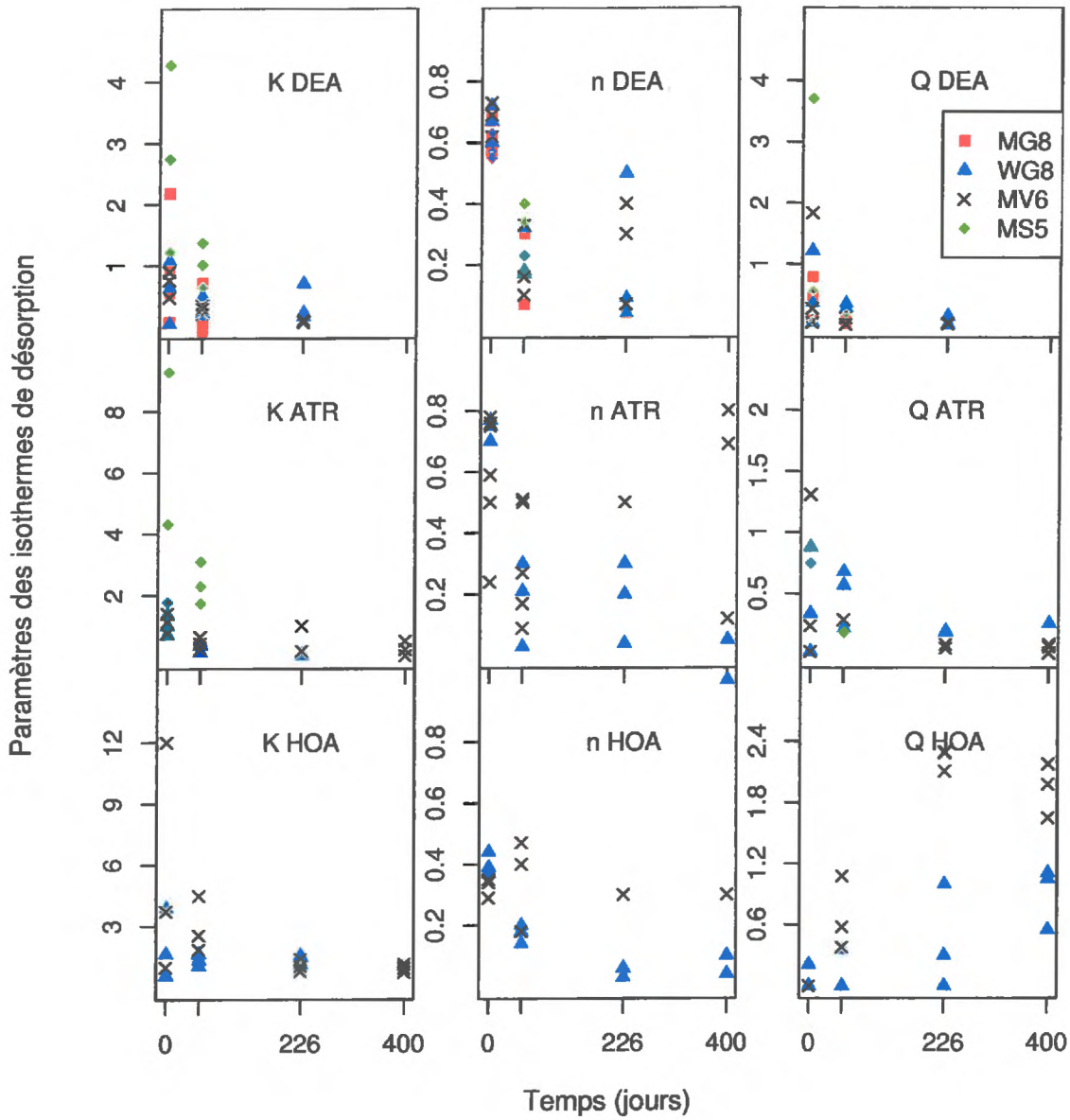


FIG. 2.8 – Evolution des paramètres K_{fdes} , n_{fdes} et Q des isothermes de désorption de la DEA, de l'ATR et de l'HO-ATR au cours du temps

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 mesurés (*i.e.* somme de la DEA ou de l'ATR ou de l'HO-ATR mesurée lors des des extractions au CaCl_2 10^{-2} M, au méthanol et lors du fractionnement chimique (cf. Chapitre 3)) (Figure 2.9).

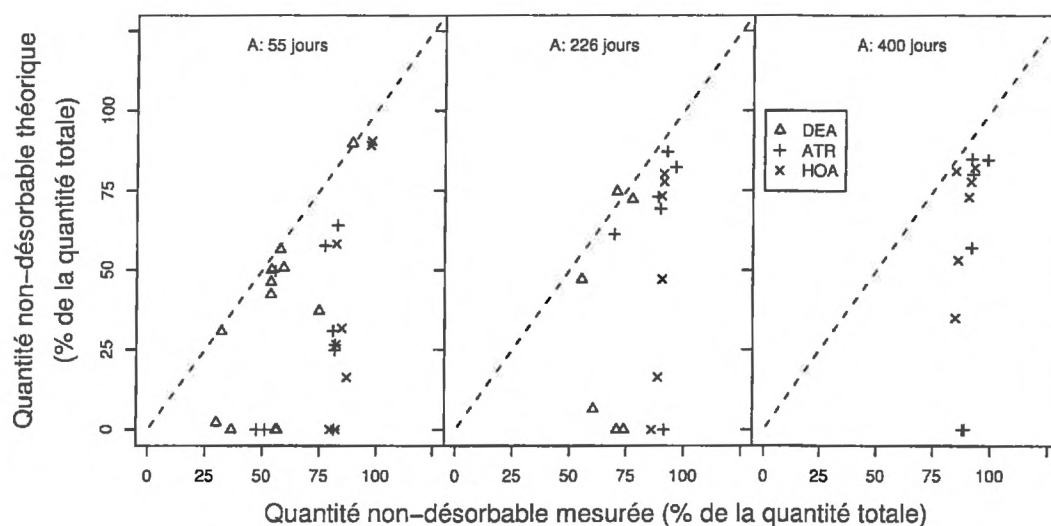


FIG. 2.9 – Comparaison des valeurs des quantités non-désorbables (Q) calculées à partir les isothermes de désorption après incubation par rapport aux valeurs de Q mesurées pour la DEA, l'ATR et l'HO-ATR dans les quatre sols

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)

% du ¹⁴ C-appliqué		Temps (jours)				
		MG8	WG8	MV6	MS5	
% du ¹⁴ C-appliqué	DEA	55	0.8 ± 0.4	6.4 ± 0.6	2.4 ± 0.1	3.7 ± 0.1
		226	0.2 ± 0.0	2.5 ± 0.7	0.6 ± 0.2	0.3 ± 0.2
		400	< 0.1 ± 0.0	0.4 ± 0.2	1.2 ± 1.9	0.9 ± 0.1
	ATR	55	4.0 ± 0.4	14.1 ± 2.2	5.9 ± 0.4	10.3 ± 1.1
		226	1.6 ± 0.1	4.3 ± 0.1	1.7 ± 0.5	2.3 ± 0.3
		400	1.5 ± 0.0	3.9 ± 1.3	1.3 ± 0.7	1.1 ± 0.6
	HO-ATR	55	9.8 ± 0.9	17.1 ± 0.3	34.2 ± 2.2	24.6 ± 0.7
		226	12.6 ± 2.2	29.5 ± 5.2	47.7 ± 0.9	34.5 ± 3.6
		400	14.6 ± 0.8	23.1 ± 2.9	41.2 ± 3.9	30.8 ± 2.2
% de la carb-DEA (ou ATR ou HO-ATR) totale	DEA	55	73.9 ± 15.7	53.9 ± 0.2	33.0 ± 3.4	57.4 ± 1.7
		226	73.5 ± 19.3	68.3 ± 7.1	67.8 ± 7.1	67.8 ± 11.3
		400	100. ± 0.0	100. ± 0.0	100. ± 0.0	100. ± 0.0
	ATR	55	100. ± 0.0	80.7 ± 2.9	51.5 ± 4.0	81.4 ± 0.4
		226	100. ± 0.0	91.6 ± 4.2	84.5 ± 13.1	100. ± 0.0
		400	99.3 ± 0.6	91.7 ± 5.8	91.7 ± 0.3	100. ± 0.0
	HO-ATR	55	100. ± 0.0	82.2 ± 2.6	83.9 ± 2.6	97.5 ± 0.2
		226	100. ± 0.0	88.5 ± 2.3	90.9 ± 0.5	99.2 ± 0.1
		400	99.9 ± 0.2	85.0 ± 0.7	91.4 ± 1.2	99.0 ± 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 : $K_{d\ 24h\ mesuré} =$

$(x/m)_{24h\text{ mesuré}}/C_{e\ 24h\text{ mesuré}}$. On constate alors que l'on sous-estime la valeur des $K_{d\ 24h\text{ mesuré}}$ 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.

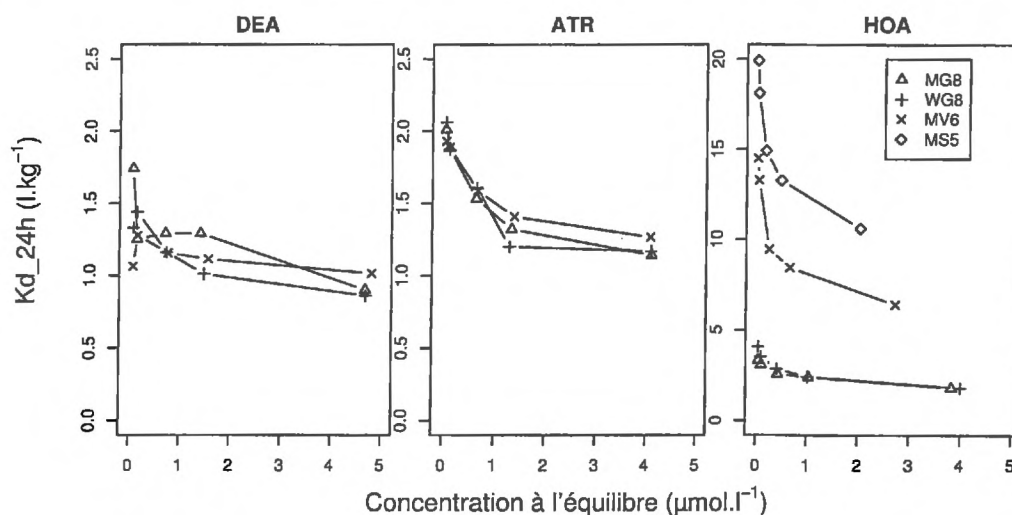


FIG. 2.10 – Relation entre le coefficient de partage calculé à partir de la première désorption et la concentration mesurée à l'équilibre ($K_{d\ 24h} = f(C_{e\ 24h})$) pour les trois molécules et les quatre sols non-incubés

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' α -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)

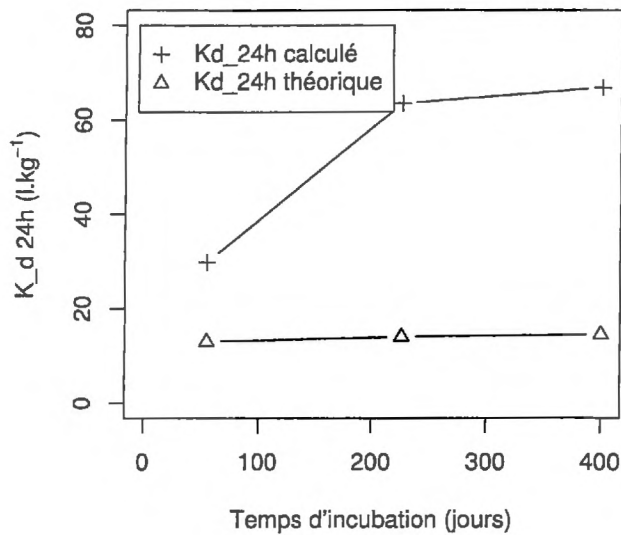


FIG. 2.11 – Comparaison des K_d 24h théoriques (calculées à partir de la première désorption) et des K_d 24h après incubation pour l'HO-ATR dans le sol MV6 aux trois dates

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

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; Mathew *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}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}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.

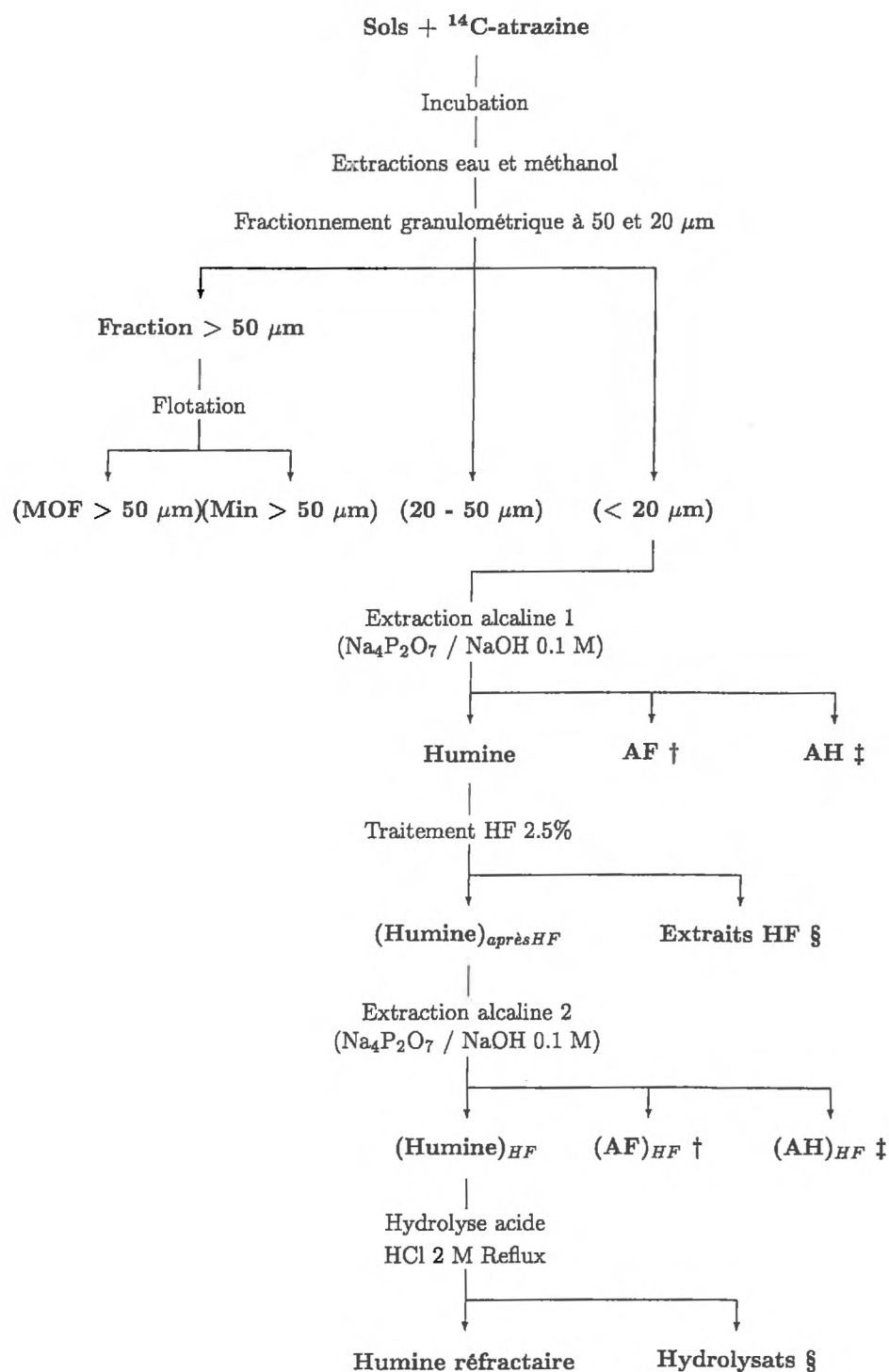
La démarche proposée a donc pour objectifs : (i) d'étudier comparativement la distribution

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 μm (Figure 3.1). Les fractions ($> 50 \mu\text{m}$) et (20 - 50 μm) 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 flotation 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 $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ / 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 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)_{HF}

20 ml d'une solution aqueuse d'HCl 2 M sont ajoutés à 1 g d'(Humine)_{HF} 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)_{HF}) 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.

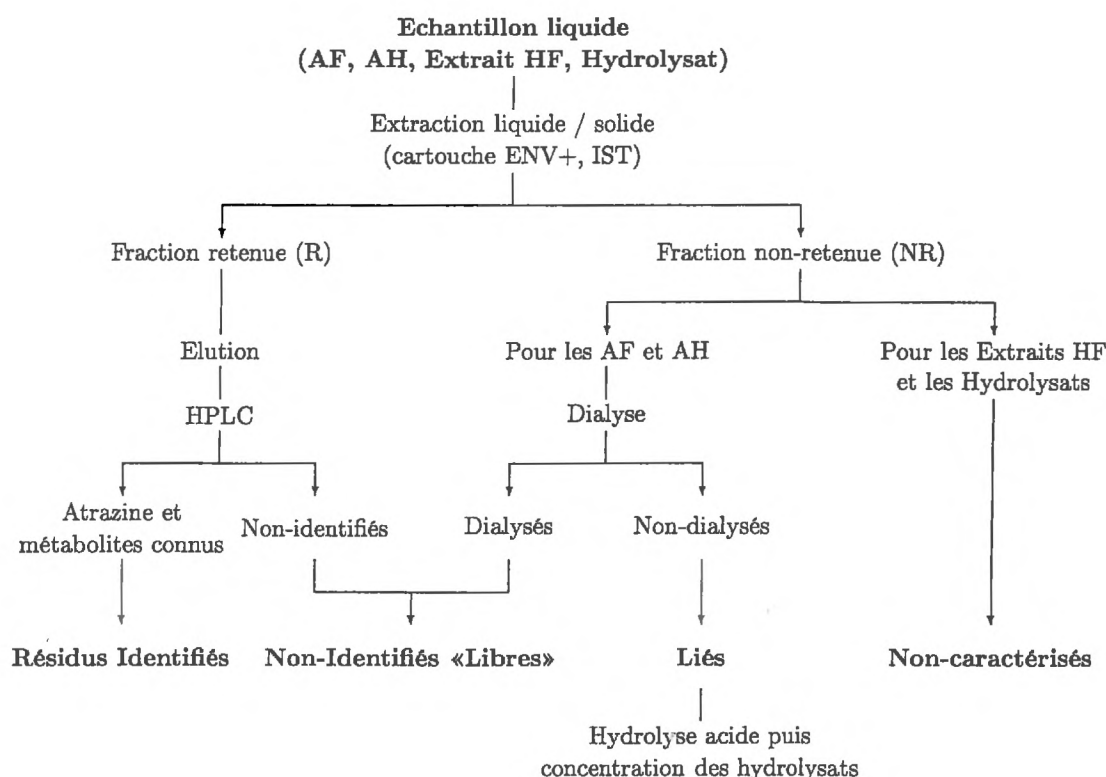


FIG. 3.2 – *Protocole de concentration sur cartouche ENV+ et dénomination des fractions obtenues*

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}C -atrazine, et des solutions d'AF et d'AH dans lesquelles l'atrazine ^{14}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}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}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}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 μm	$< 20\mu\text{m}$
% 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}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 20-50 μm (en % du ^{14}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}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}C -lié) n'est pas modifiée au cours du temps.

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

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

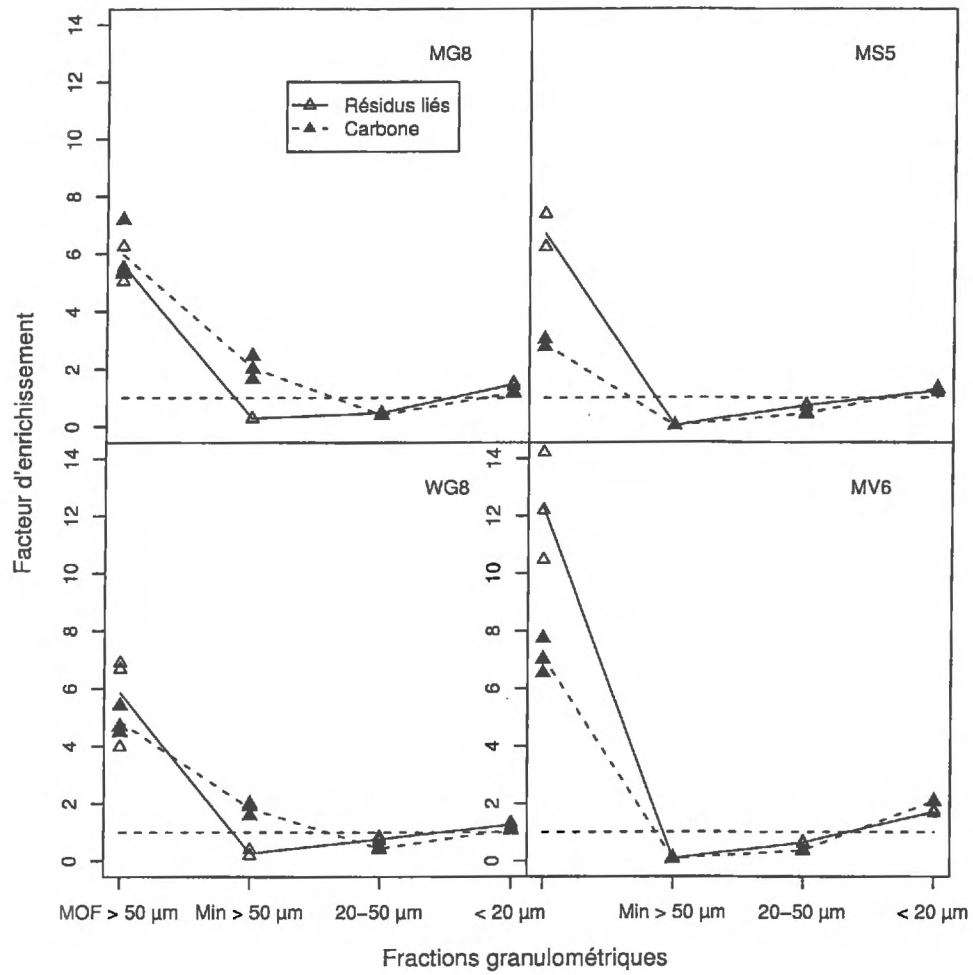


FIG. 3.3 – Facteurs d'enrichissement en carbone et en résidus liés pour les fractions granulométriques des quatre sols