

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

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

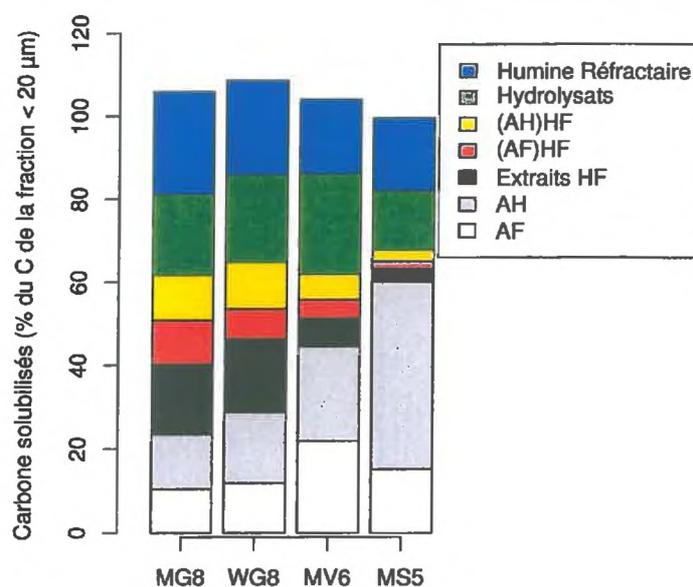


FIG. 3.4 – Distribution du carbone dans les fractions chimiques obtenues pour les quatre sols après 55 jours d'incubation

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

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

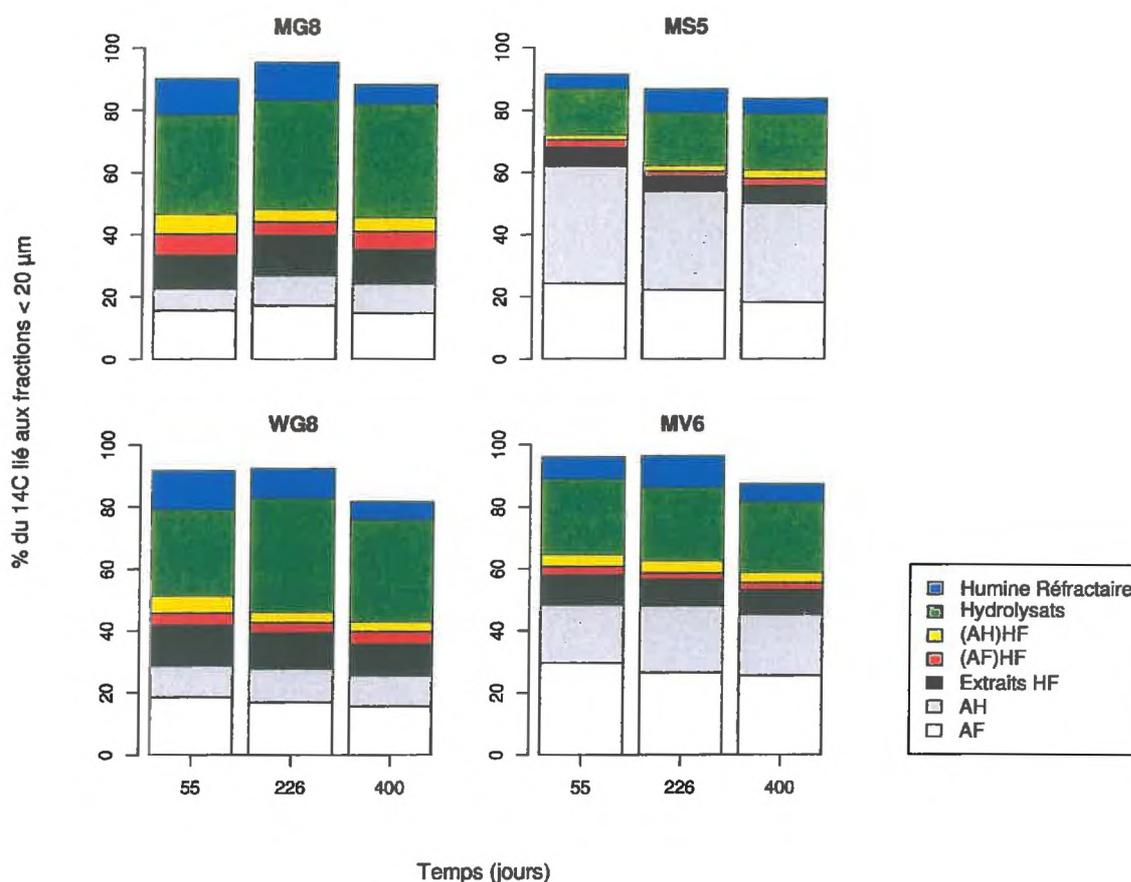


FIG. 3.5 – Evolution de la distribution des résidus liés  $^{14}\text{C}$  dans les fractions chimiques obtenues pour les quatre sols aux trois dates

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

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

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

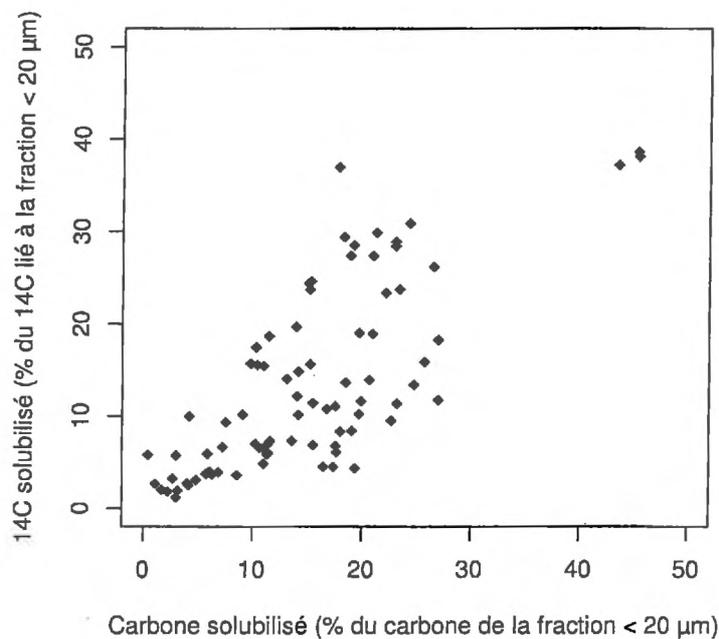


FIG. 3.6 – Relation entre les résidus liés solubilisés et le carbone organique solubilisé par le fractionnement chimique

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

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

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

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

Suite du tableau à la page suivante ...

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

Suite du tableau à la page suivante ...

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

† : N.I. = Non identifiés

Fin du tableau

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

En supposant que la fraction «NR» et non-dialysable à 5000 Da du <sup>14</sup>C solubilisé avec les AH et les (AH)<sub>HF</sub> correspond à des résidus «liés chimiquement», de 11 à 30 % des résidus liés des fractions <20 μm sont identifiés comme étant «liés chimiquement» aux AH. Les quantités et les proportions (relatives aux résidus liés totaux) de résidus «liés chimiquement» restent relativement

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

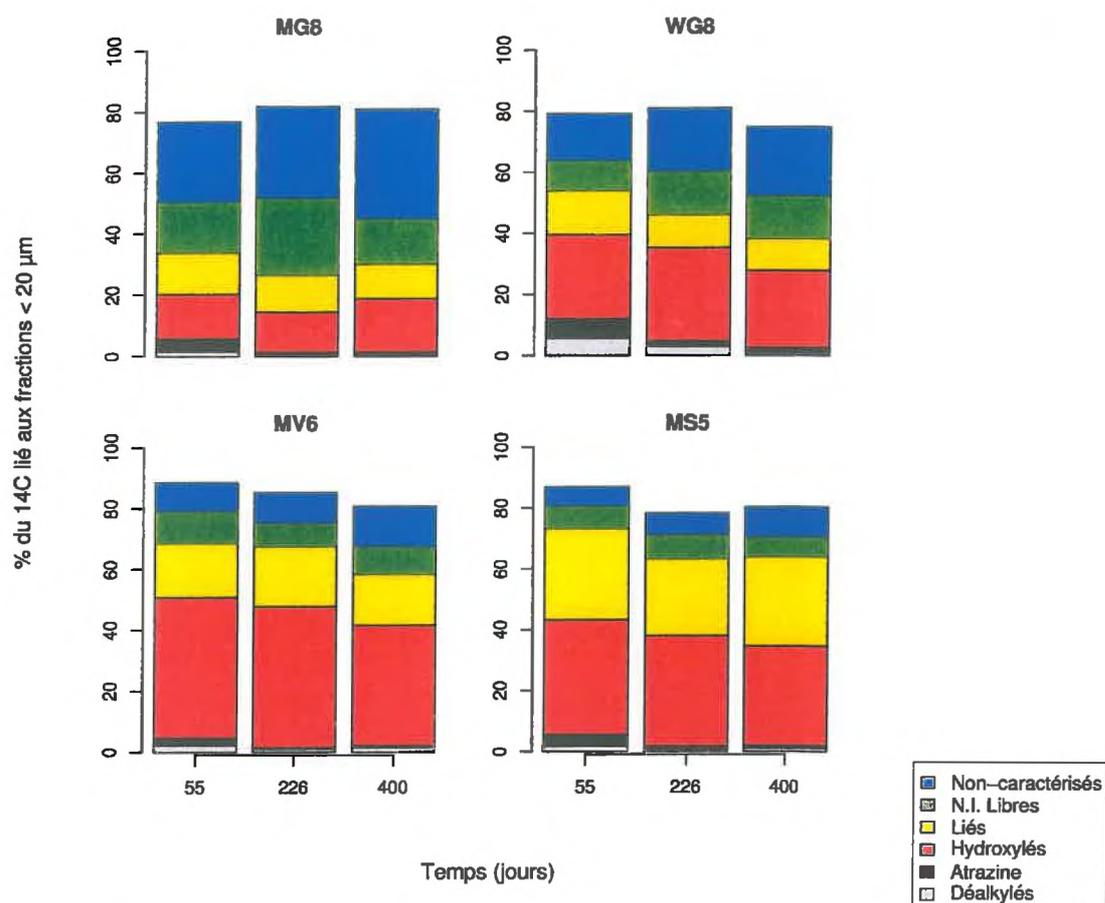


FIG. 3.7 – Caractérisation des résidus liés  $^{14}\text{C}$  solubilisés associés aux fractions  $< 20 \mu\text{m}$  pour les quatre sols aux trois dates d'incubation (moyenne des trois répétitions)

stables au cours du temps pour les quatre sols.

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

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

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

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

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

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

## 3.4 Discussion

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

### 3.5 Conclusion

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

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

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

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

## Chapitre 4

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

## Chapitre 4

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

### 4.1 Introduction

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

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

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

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

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

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

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

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

## 4.2 Matériels et méthodes

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

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

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

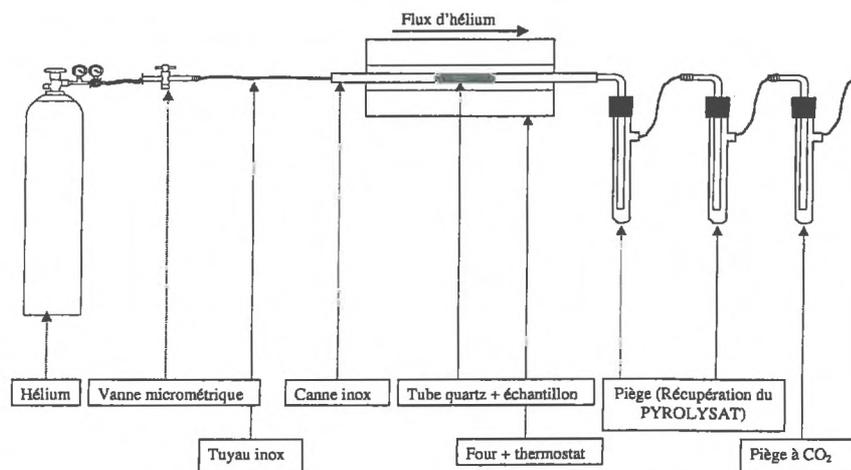


FIG. 4.1 – Schéma du montage réalisé pour la pyrolyse «off-line»

extrémité à un tube inox qui plonge dans un tube en verre rempli avec 15 ml de méthanol. Ce premier piège est suivi d'un deuxième identique, et de deux pièges à CO<sub>2</sub> contenant 10 ml de NaOH 1 M. La canne inox est introduite dans un four (Lenton Furnaces) muni d'un contrôleur et programmeur de température (Eurotherm Controls 902P). L'échantillon est alors chauffé sous flux d'hélium selon un programme de température défini, et les produits de pyrolyse sont récupérés dans les différents pièges. Après refroidissement, la canne et les tubes en inox sont lavés avec du méthanol qui est récupéré. Une mesure du <sup>14</sup>C dans les différents pièges et dans les solvants de lavages des cannes et tubes est réalisé sur des parties aliquotes par scintillation en milieu liquide. Le résidu de pyrolyse est récupéré et sa radioactivité est mesurée par scintillation en milieu liquide du <sup>14</sup>C-CO<sub>2</sub> libéré par combustion des échantillons à l'aide un oxydizer. Si les quantités de <sup>14</sup>C récupérées dans les différents pièges sont suffisantes, les solutions de méthanol contenu dans les pièges sont concentrées par évaporation sous vide puis on réalise une analyse par HPLC (cf. section 1.2.5, page 27).

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

## 4.3 Résultats

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

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

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

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

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

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

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

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

‡ : N.I. = Non identifiés

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

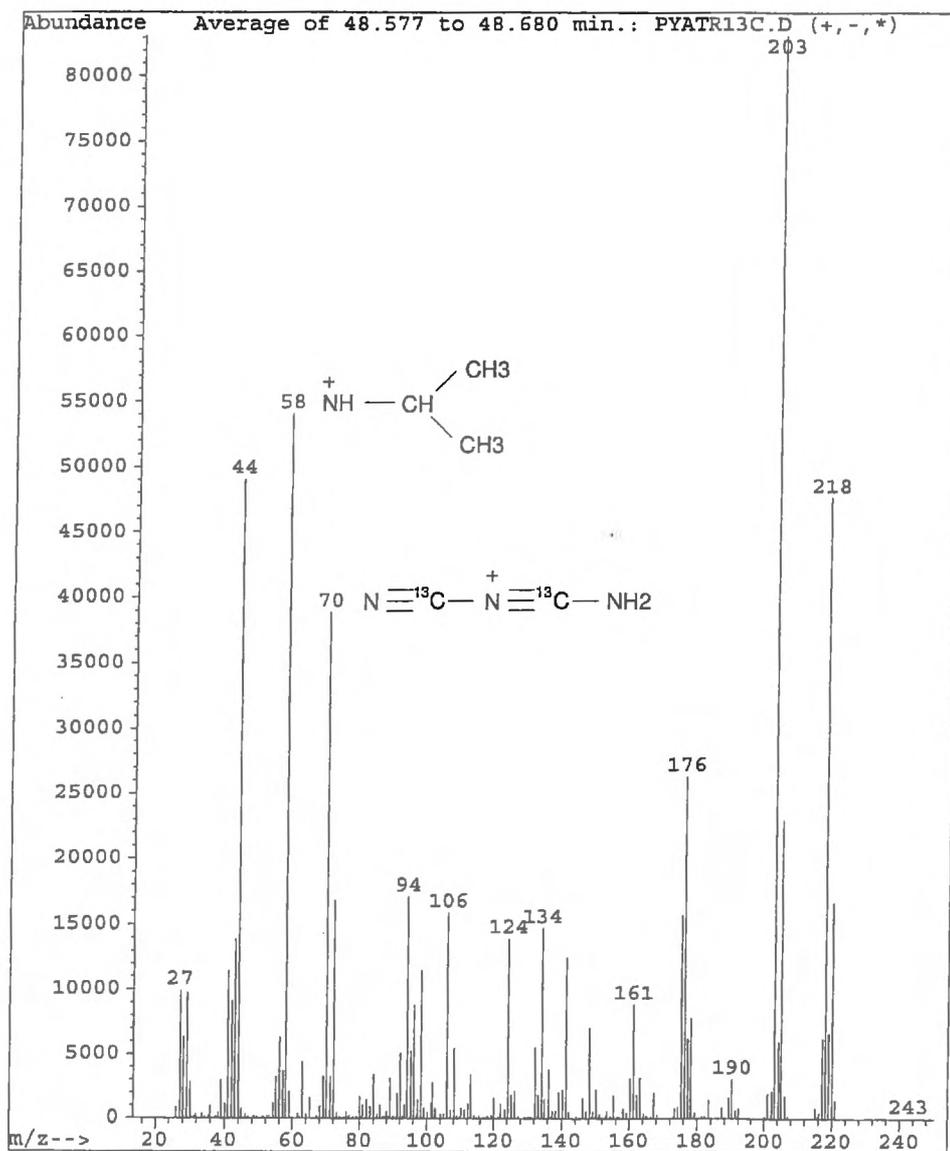


FIG. 4.2 - Spectre de masse de l'atrazine  $^{13}\text{C}$  obtenu par ionisation par impact électronique

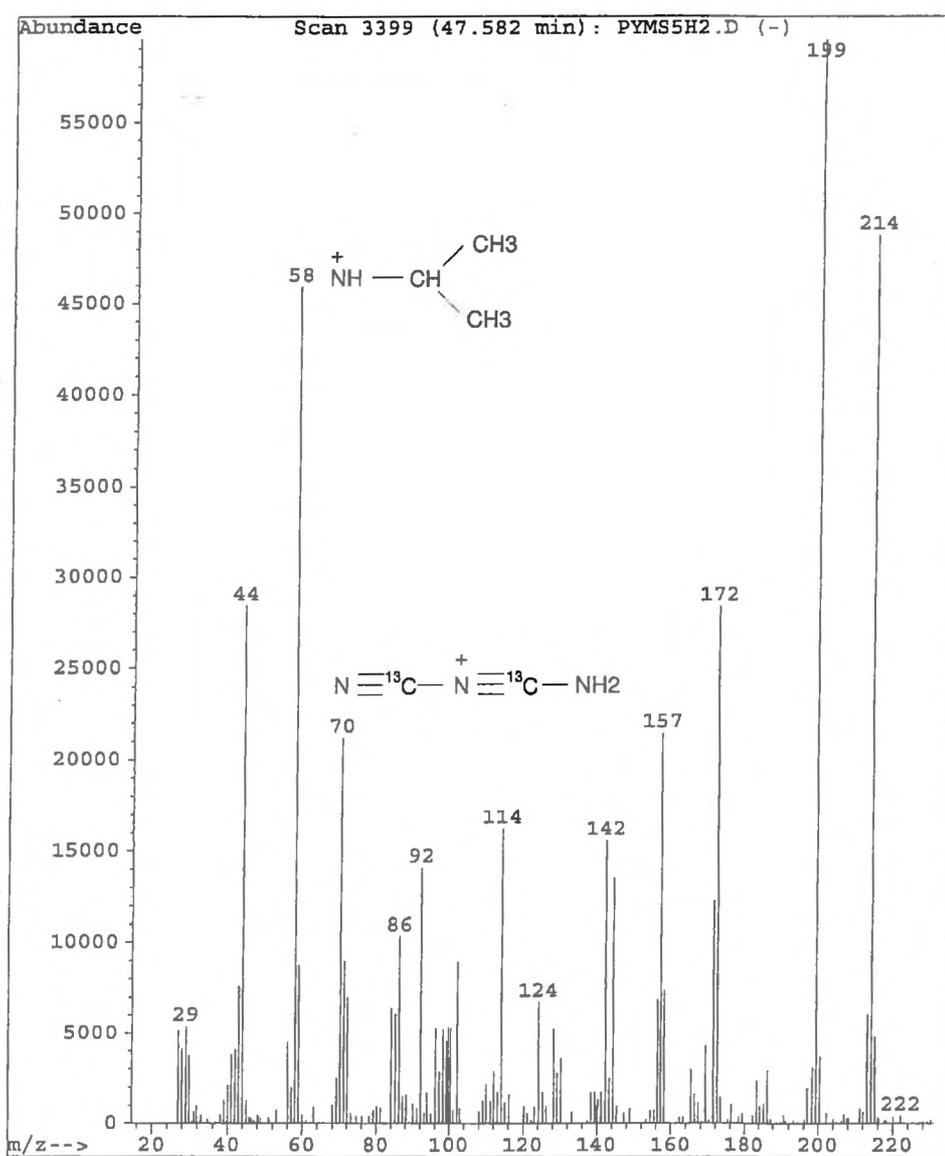


FIG. 4.3 - Spectre de masse de l'hydroxy-atrazine  $^{13}\text{C}$  obtenu par ionisation par impact électronique

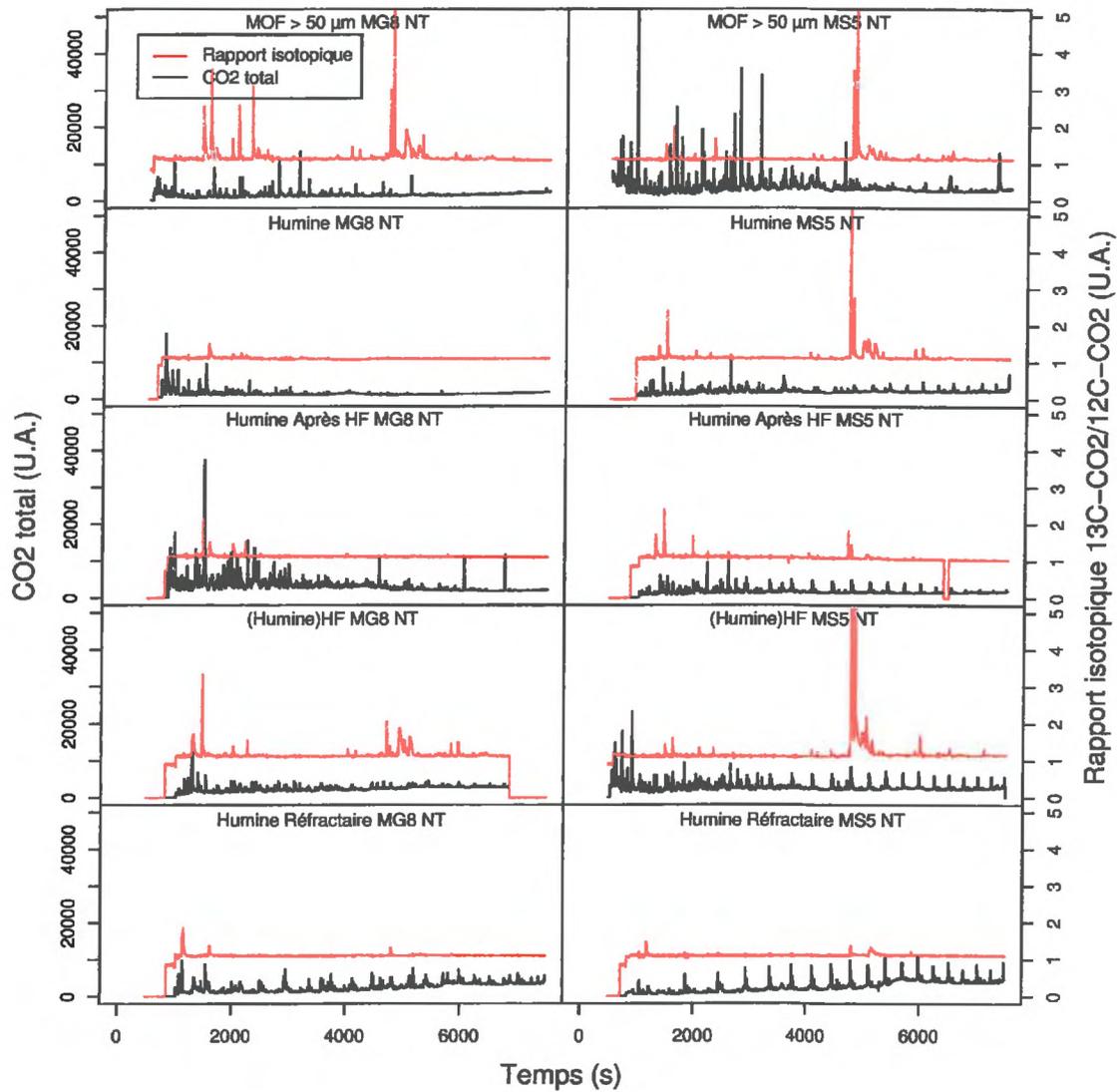


FIG. 4.4 – Pyrochromatogrammes des fractions granulométriques et chimiques «dopées» avec de la  $^{13}\text{C}$ -atrazine

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

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

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

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

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

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

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

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

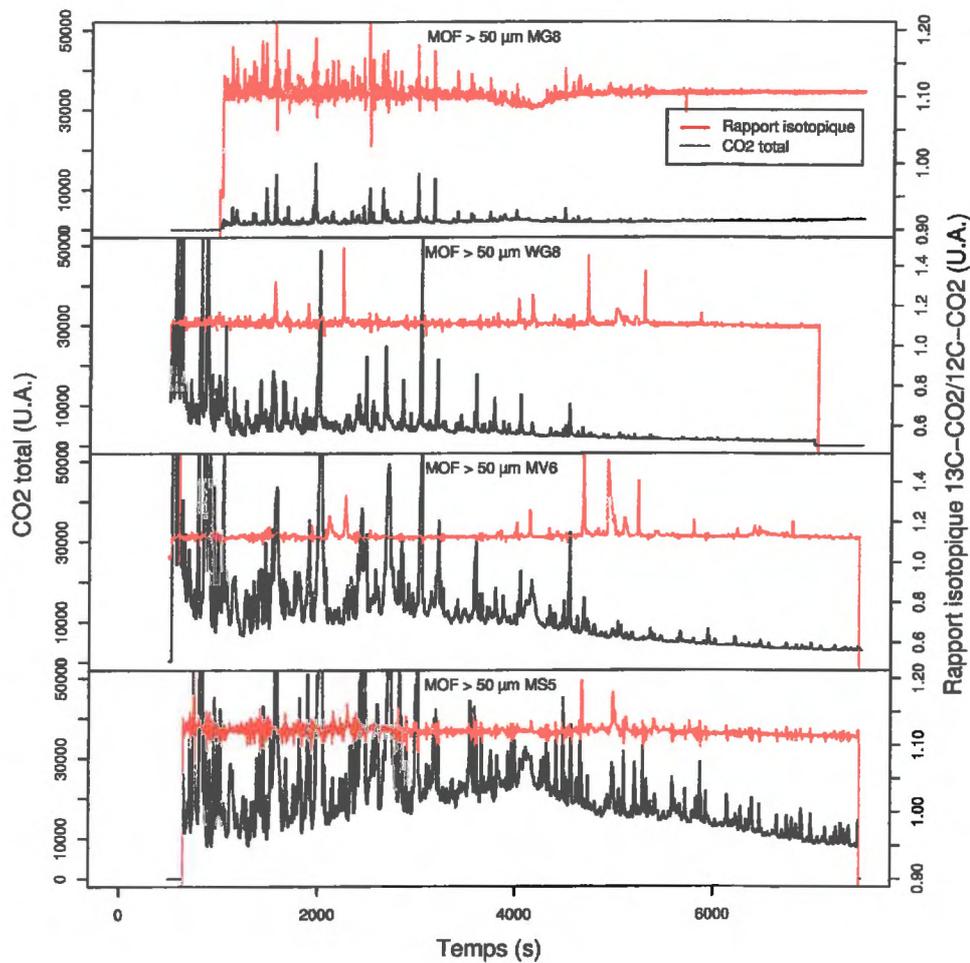


FIG. 4.5 – Pyrochromatogrammes des fractions  $\text{MOF} > 50 \mu\text{m}$  contenant des résidus liés de  $^{13}\text{C}$ -atrazine obtenus après incubation des sols traités avec de la  $^{13}\text{C}$ -atrazine

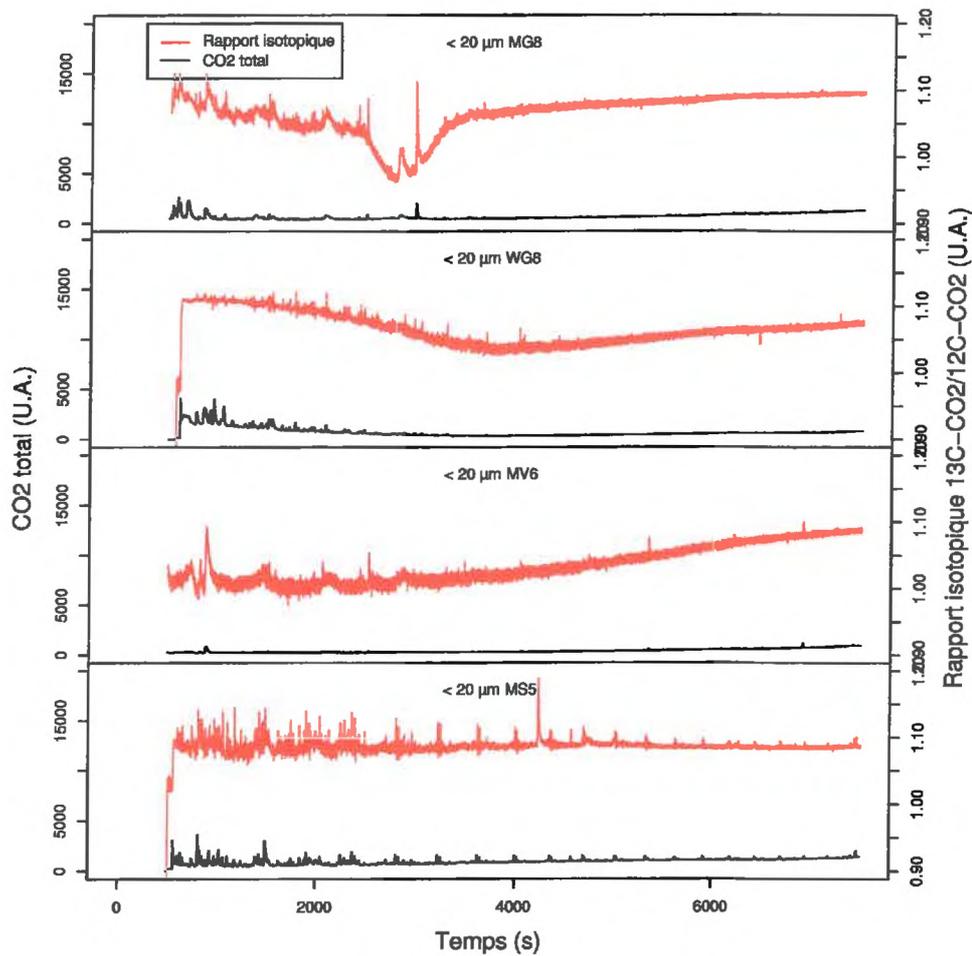


FIG. 4.6 – Pyrochromatogrammes des fractions  $< 20 \mu\text{m}$  contenant des résidus liés de  $^{13}\text{C}$ -atrazine obtenus après incubation des sols traités avec de la  $^{13}\text{C}$ -atrazine

## 4.4 Discussion

### 4.4.1 Utilisation de la pyrolyse «off-line» pour l'étude des résidus liés d'atrazine

Les résultats obtenus par la pyrolyse «off-line» indiquent que les rendements de pyrolyse sont d'autant plus grands que la teneur en matière organique, ou que la température finale de pyrolyse est grande. Cependant l'atrazine est en grande partie transformée lors de la pyrolyse, ce qui est en accord avec les résultats de Schiavon et Soulas (1983), mais en contradiction avec ceux obtenus par Capriel *et al.* (1985). En effet, ces auteurs ont obtenu, en pyrolysant des échantillons de sol,

d'acides humiques et fulviques, ainsi que de l'humine dopés en  $^{14}\text{C}$ -atrazine avant la pyrolyse, des rendements  $> 85\%$ , dont plus de  $80\%$  a été récupérée en tant qu'atrazine intacte et  $20\%$  sous forme de  $^{14}\text{C}$ - $\text{CO}_2$ . Cependant, ces auteurs ont également pu constater une décomposition plus forte de l'atrazine en  $\text{CO}_2$  lorsque la teneur en minéraux augmente. Khan et Hamilton (1980), pour des échantillons de sol dopés en prometryn, en hydroxy-propazine et en deisopropyl-prometryn, et ayant une teneur en carbone organique de  $45.4\%$ , ont obtenu des rendements de pyrolyse de  $94$ ,  $63$  et  $82\%$ , pour les trois molécules respectivement.  $80$  et  $53\%$  des produits pyrolysés étaient conservés sous forme des molécules intactes pour la prometryn et l'hydroxy-propazine. Cependant, Worobey et Webster (1982) ont également pu constater une importante transformation avec une non-répétitivité lors de pyrolyses de 4-chloroaniline appliquée sur des acides humiques. Ces auteurs ont d'ailleurs constaté que les rendements de pyrolyse étaient plus importants pour des sols moins riches en carbone organique et plus riches en argiles.

Les rendements de pyrolyse obtenus pour les échantillons de sol contenant des résidus liés d'atrazine sont similaires à ceux de Schiavon et Soulas (1983) et très inférieurs à ceux obtenus par Capriel *et al.* (1985) et Khan et Behki (1990) pour des résidus liés d'atrazine, Balba *et al.* (1979) pour des résidus liés de chloroanilines, et Khan et Hamilton (1980) pour des résidus liés de prometryn. Lorsque le sol contenant les résidus liés d'atrazine subit un traitement HF pour éliminer une grande partie des minéraux, le rendement de pyrolyse est fortement augmenté. On peut constater alors la conservation du noyau triazinique sous forme de résidus liés. Malgré cela, l'augmentation de la température de pyrolyse pourrait faire croire à la non conservation de ce noyau du fait d'une plus importante transformation de celui-ci quand la température augmente.

Ces différents résultats nous permettent donc de conclure que la pyrolyse «off-line» n'est pas adaptée à l'identification des résidus liés d'atrazine. En effet, l'atrazine est transformée lors de la pyrolyse, et l'intensité de cette transformation semble dépendre de la matrice dans laquelle elle se trouve. De plus, l'élimination des minéraux en quantités suffisantes par un traitement HF

conséquent, bien que permettant l'obtention d'un meilleur rendement de pyrolyse, peut induire des artéfacts supplémentaires sur les résidus liés d'atrazine dus au HF utilisé (Loiseau *et al.*, 2000).

L'utilisation de la pyrolyse «off-line» pour l'étude des mécanismes impliqués dans la stabilisation de l'atrazine ne semble pas également possible. En effet, une température de 300 ° C ne permet de récupérer que 10 % de l'atrazine appliquée sur du sable de Fontainebleau, et il est nécessaire d'atteindre des températures comprises entre 400 et 500 ° C pour récupérer plus de 50 % de l'atrazine appliquée sur les différents supports. Or, des températures  $\geq 400$  ° C provoquent le craquage de liaisons chimiques covalentes (Schulten et Schnitzer, 1992 ; Largeau *et al.*, 1986). Il apparaît donc que la pyrolyse «off-line» est susceptible de provoquer la libération de résidus d'atrazine stabilisés aussi bien par piégeage physique que par liaison(s) covalente(s) malgré des énergies de liaison mises en jeu très différentes.

Cependant, on peut penser que cette technique est potentiellement applicable pour l'identification de résidus de molécules organiques moins réactive comme les HAP (Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques) moins susceptibles d'être transformées lors de la pyrolyse. Des essais préliminaires sur du fluoranthène, du benzo-a-pyrène et du phénanthrène semblent indiquer de bons rendements de pyrolyse sans dégradation de la molécule (Bergheaud, non publié).

#### 4.4.2 Caractérisation des résidus liés d'atrazine par Py-GC-C-SIRMS et Py-GC-MS

Les fractions des sols contenant des résidus liés  $^{14}\text{C}$  obtenus après incubation des échantillons de sols traités à  $20 \text{ mg}_{\text{atrazine}} \cdot \text{kg}_{\text{sol}}^{-1}$ , donnent des résultats en accord avec ceux de Gan *et al.* (1996) pour des expériences similaires. Les distributions relatives des résidus liés au sein des fractions granulométriques sont identiques pour les échantillons  $^{14}\text{C}$  traités à une dose de 1 et 20  $\text{mg}_{\text{atrazine}} \cdot \text{kg}_{\text{sol}}^{-1}$ .

Une partie des résidus liés d'atrazine associés aux MOF  $> 50 \mu\text{m}$  des sols WG8, MV6 et MS5 semble conserver le noyau triazinique. En effet, tous les pics enrichis en  $^{13}\text{C}$  observés pour les fractions incubées ont également été observés pour les échantillons témoins dopés en atrazine  $^{13}\text{C}$  avant pyrolyse. Il ne semble pas y avoir d'autres pics enrichis pour les MOF  $> 50 \mu\text{m}$ , contrairement au pic enrichi observé pour la fraction  $< 20 \mu\text{m}$  du sol MS5. Cependant, ces observations doivent être confirmées par des répétitions des pyrolyses de ces échantillons, ainsi que par l'analyse des spectres de masse afin d'identifier les fragments caractéristiques du noyau triazinique de  $m/z=58$  et  $70$ .

L'obtention de pics enrichis en  $^{13}\text{C}$  pour la fraction  $< 20 \mu\text{m}$  du sol MS5 et les concentrations calculées en résidus liés d'atrazine à l'aide des résultats  $^{14}\text{C}$  permettent de déterminer un seuil de concentration de  $4 \text{ mg}_{\text{équivalent atrazine}} \cdot \text{kg}_{\text{fraction}}^{-1}$  au-dessous duquel il ne semble plus possible de détecter les résidus liés de  $^{13}\text{C}$ -atrazine (enrichie à 95 %) avec le traitement pyrolytique utilisé et la fragmentation obtenue. Dans le cas de la MOF  $> 50 \mu\text{m}$  du sol MG8, bien que la concentration en résidus liés d'atrazine soit de  $14 \text{ mg}_{\text{équivalent atrazine}} \cdot \text{kg}_{\text{fraction}}^{-1}$ , on n'observe pas de pics enrichis en  $^{13}\text{C}$  sur le pyrochromatogramme (Figure 4.5). L'activité de la population microbienne capable de minéraliser l'atrazine étant très intense pour MG8 (résultats obtenus pour la caractérisation des résidus extractibles à l'eau et au méthanol, ainsi que des résidus liés associés à la fraction  $< 20 \mu\text{m}$  chapitres 1 et 3), il est probable que les résidus liés d'atrazine présents dans la fraction MOF  $> 50 \mu\text{m}$  soient constitués de produits de transformation incorporés du fait d'une activité microbienne dégradante importante. Ces résidus très dégradés seraient pyrolysés en composés volatils non analysés dans les conditions expérimentales utilisées car l'acquisition des spectres ne commence que 500 s après le début de la pyrolyse. On peut également penser que ces résidus liés fortement dégradés sont associés à des structures moléculaires non-pyrolysables dans les conditions utilisées. La caractérisation des résidus liés associés aux fractions  $< 20 \mu\text{m}$  des sols WG8 et MV6 traités à une dose de  $1 \text{ mg}_{\text{atrazine}} \cdot \text{kg}_{\text{sol}}^{-1}$  indiquait la conservation du noyau

triazinique en grande quantité sous forme de résidus liés (Figure 3.7, page 91). Or on n'observe pas de pics enrichis en  $^{13}\text{C}$  pour ces fractions. Ceci tend à confirmer un seuil de détection d'environ  $4 \text{ mg}_{\text{équivalent atrazine}} \cdot \text{kg}_{\text{fraction}}^{-1}$ .

## 4.5 Conclusion

Ces tests de faisabilité ont permis de constater l'inadaptation de la pyrolyse «off-line» pour l'étude des mécanismes de stabilisation de l'atrazine, ainsi que pour la caractérisation des résidus liés formés.

Par contre, l'utilisation en parallèle de la Py-GC-MS et de la Py-GC-C-SIRMS pour la caractérisation des résidus liés d'atrazine, qui à notre connaissance n'avait jamais été réalisée, semble donner des résultats encourageants pour des échantillons suffisamment concentrés en résidus liés et en matière organique. De plus, ces techniques pourraient être utilisées pour compléter les résultats obtenus par les techniques chimiques présentées au Chapitres 3. En effet, la caractérisation des résidus liés non-identifiés (N.I.) et non-hydrolysables peut être envisagée, ce qui permettrait d'identifier des résidus liés incorporés dans des macro-molécules de la matière organique des sols et/ou incorporés dans la biomasse microbienne. Ces techniques, au-delà de l'identification chimique des résidus liés peuvent aussi permettre la caractérisation moléculaire de la matière organique à laquelle les résidus liés sont associés.

## Chapitre 5

Evaluation de la bio-disponibilité des résidus liés d'atrazine vis-à-vis de la microflore du sol

## Chapitre 5

# Evaluation de la bio-disponibilité des résidus liés d'atrazine vis-à-vis de la microflore du sol

### 5.1 Introduction

«Une espèce chimique est biodisponible, dans le sol, si elle peut être absorbée par un organisme vivant.... Le concept de biodisponibilité peut être envisagé à deux points de vues : soit pour apprécier la possibilité qu'une substance a d'être absorbée, soit pour évaluer la quantité d'une substance qui peut être absorbée par un organisme vivant dans un milieu donné et pendant une période d'une durée donnée» (Calvet, 1988).

La formation de résidus liés de pesticides pose le problème de leur devenir et de leurs risques potentiels à long terme. Ces différents risques comprennent leur potentielle libération dans la solution du sol et leur lixiviation, leur bio-disponibilité pour les plantes et la faune du sol.

On a constaté dans les chapitres précédents que la stabilisation de l'atrazine sous forme de résidus liés pouvait se faire par piégeage physique (ou sequestration) et/ou par formation

de liaison(s) covalente(s), et qu'elle concernait aussi bien la molécule mère que ses produits de dégradation. L'évolution dans le temps de la distribution et de la nature des résidus liés nous a indiqué que ces résidus liés semblent être stables lorsqu'il n'y a pas de modification majeure des conditions d'incubation, et que même après plus d'un an d'incubation, le noyau triazinique est encore présent. Cependant, bien que ces résidus liés semblent être stables dans le temps, Fuhremann et Lichtenstein (1978) ont montré qu'ils n'étaient pas dépourvus de risques potentiels pour l'environnement. En effet, ces auteurs ont pu constater que des résidus liés de  $^{14}\text{C}$ -parathion pouvaient être absorbés par des vers de terre ayant séjourné de 2 à 6 semaines dans des sols contenant ces résidus liés, ainsi que par de l'avoine ayant germé et s'étant développé pendant deux semaines dans ces mêmes sols. Khan (1980) a également montré que 0.5 % des résidus liés de  $^{14}\text{C}$ -prometryn pouvaient être absorbés par de l'avoine lors d'une expérience de 21 jours d'incubation. Khan et Ivarson (1981) ont constaté que l'activité microbienne pouvait rendre extractibles au méthanol près de 27 % des résidus liés de  $^{14}\text{C}$ -prometryn. Roberts et Standen (1981) ont montré que de 21 à 37 % des résidus liés de cypermethrin pouvaient être minéralisés. Une partie des résidus liés ont pu être également absorbés par du blé, à concurrence de 0.1 à 0.6 % des résidus liés présents. Khan et Ivarson (1982) ont pu constater que le relargage de résidus liés de  $^{14}\text{C}$ -prometryn induit par l'activité microbienne ne semble pas être influencé par le type de population microbienne. Yee *et al.* (1985) ont montré que de 16 à 25 % des résidus liés  $^{14}\text{C}$ -prometryn étaient libérés lors de changements de pH du sol. Ces mêmes auteurs ont également montré que de 4.3 à 16.7 % des résidus liés pouvaient être libérés par l'apport d'une fertilisation azotée sous forme d'ions nitrates ou d'ions ammonium et en l'absence de plantes, contrairement à l'apport d'azote sous forme d'urée qui ne provoque pas de relargage. De nombreuses autres études ont par la suite confirmé la bio-disponibilité des résidus liés (Racke et Lichtenstein, 1985 ; Kloskowski *et al.*, 1986 ; Dec et Bollag, 1988 ; Khan et Behki, 1990 ; Aly et Dauterman, 1992a, 1992b ; Hatzinger et Alexander, 1995 ; Hayar *et al.*, 1997 ; Johnson *et al.*, 1999 ; Scheunert et

Reuter, 2000 ; Gevaio *et al.*, 2001).

Dans ce chapitre, nous envisageons d'effectuer une évaluation de la bio-disponibilité des résidus liés obtenus au cours des travaux décrits dans ce mémoire. Pour ce faire, les résidus liés associés aux différentes fractions granulométriques et chimiques obtenue sont mis en incubation dans le sol MG8. Ce sol possède une population microbienne adaptée à la minéralisation du noyau triazinique, ce qui nous permet d'utiliser le  $^{14}\text{C-CO}_2$  comme indicateur de la bio-disponibilité des résidus liés d'atrazine. A partir des données obtenues, on discutera l'influence des mécanismes de stabilisation «supposés» responsables de leur formation sur leur bio-disponibilité.

## 5.2 Matériels et méthodes

### 5.2.1 Incubation des résidus liés associés aux fractions granulométriques et chimiques obtenues après 55 jours d'incubation

Les fractions granulométriques et chimiques solides obtenues après 55 jours d'incubation (MOF > 50  $\mu\text{m}$ , Min > 50  $\mu\text{m}$ , 20-50  $\mu\text{m}$ , < 20  $\mu\text{m}$ , Humine, (Humine)<sub>aprèsHF</sub>, (Humine)<sub>HF</sub> et Humine réfractaire) (Figure 3.1, page 76) sont séchées à  $40 \pm 5^\circ \text{C}$ , et broyées à l'aide d'un mortier en agate. De 0.3 à 5 g sont placés dans des pilluliers de 20 ou 100 ml en verre et de 2.5 à 20 g équivalent sec du sol MG8 tamisé à 5 mm y sont ajoutés (Tableau 5.1).

TAB. 5.1 – Rapport fraction/sol utilisé pour l'incubation des résidus liés d'atrazine associés aux fractions granulométriques et chimiques obtenues après 55 jours d'incubation

Fraction	Masse de fraction	Masse de sol MG8	Rapport fraction/sol
	g		
MOF > 50 $\mu\text{m}$	0.3	3.0	1/10
Min > 50 $\mu\text{m}$	5.0	20.0	1/4
20-50 $\mu\text{m}$	5.0	20.0	1/4
< 20 $\mu\text{m}$	5.0	20.0	1/4
Humine	5.0	20.0	1/4
(Humine) <sub>aprèsHF</sub>	0.5	5.0	1/10
(Humine) <sub>HF</sub>	0.5	5.0	1/10
Humine réfractaire†	1.0	5.0	1/5

† : cumul des trois répétitions

Le sol MG8 a été choisi car il présente la population microbienne capable de minéraliser le

noyau triazinique la plus importante (Tableau 1.3, page 29 et Figure 1.2, page 30). Les fractions contenant les résidus liés d'atrazine et le sol MG8 sont mélangés puis de l'eau milliQ y est ajouté afin de se placer à une humidité équivalente à 100 % de la capacité de rétention.

Ces pilluliers sont placés dans des bocaux en verre fermés hermétiquement. Un pillulier de 10 ml d'eau et un de 2 ml de NaOH 2M y sont également placés pour respectivement maintenir une humidité constante et piéger le CO<sub>2</sub> produit. Les bocaux sont ensuite placés à 28 ± 1 ° C dans l'obscurité et les pièges à CO<sub>2</sub> sont périodiquement remplacés. L'humidité est contrôlée et ajustée si nécessaire périodiquement. Le <sup>14</sup>C-CO<sub>2</sub> présent dans les pièges NaOH 2M est mesuré par scintillation liquide. Ces expériences sont conduites pour les trois répétitions des différentes fractions des quatre sols, excepté dans le cas de l'humine réfractaire pour laquelle les trois répétitions sont cumulées afin d'avoir suffisamment de radioactivité. A la fin des incubations, d'une durée de 221 jours, les échantillons sont extraits une fois au CaCl<sub>2</sub> 10<sup>-2</sup> M et deux fois au méthanol (rapport sol+fraction/extractant 1/2 m/m) par agitation par retournement pendant 24 h à 20 ± 1 ° C dans l'obscurité suivie d'une centrifugation à 1800 g de 10 min. Une partie aliquote des surnageants est prélevée afin de déterminer les quantités de résidus extraits à l'aide de la mesure de la radioactivité par scintillation en milieu liquide.

### 5.2.2 Extraction des fractions granulométriques et chimiques

Parallèlement, de 0.1 à 1 g de ces fractions sont placés dans des tubes à centrifuger en verre de 25 ml et de 3 à 6 ml de CaCl<sub>2</sub> 10<sup>-2</sup> M y sont ajouté (Tableau 5.2). Les tubes sont ensuite agités par retournement pendant 24 h à 20 ± 1 ° C dans l'obscurité puis centrifugés à 1800 g pendant 10 min (centrifugeuse Biofuge Primo, Sorvall Heraeus Instruments). Le surnageant est récupéré, remplacé par un même volume de méthanol et les culots sont dispersés à l'aide d'un vortex puis agités pendant 24 h. Une extraction au CaCl<sub>2</sub> 10<sup>-2</sup> M, et trois extractions au méthanol sont réalisées au total sur les trois répétitions des différentes fractions granulométriques et chimiques

solides des quatre sols, excepté pour l'humine réfractaire pour lesquelles les trois répétitions ont dû être regroupées afin d'avoir une teneur en  $^{14}\text{C}$  suffisante. Les quantités de résidus extraits sont calculées à partir de la mesure des concentrations en  $^{14}\text{C}$  sur des parties aliquotes des surnageants par scintillation en milieu liquide (Chapitre 1, page 27).

TAB. 5.2 – *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*

Fraction	Masse de fraction	Masse d'extractant†	Rapport fraction/extractant
	g		
MOF > 50 $\mu\text{m}$	0.1	3.0	1/30
Min > 50 $\mu\text{m}$	0.5	3.0	1/6
20-50 $\mu\text{m}$	1.0	6.0	1/6
< 20 $\mu\text{m}$	1	6	1/6
Humine	0.5	3.0	1/6
(Humine) <sub>après HF</sub>	0.2	3.0	1/15
(Humine) <sub>HF</sub>	0.2	3.0	1/15
Humine réfractaire‡	0.2	3.0	1/15

† :  $\text{CaCl}_2$   $10^{-2}$  M puis méthanol

‡ : cumul des trois répétitions

## 5.3 Résultats

### 5.3.1 Bio-disponibilité pour les micro-organismes des résidus liés d'atrazine associées aux fractions granulométriques et chimiques

L'extraction des fractions granulométriques et chimiques avant incubation nous permet de constater que de 5.8 à 38.8 % de ces résidus liés sont rendus extractibles par l'effet des traitements effectués lors des différentes étapes du protocole de fractionnement (Tableau 5.3). Pour les fractions granulométriques, les opérations de séchage et de broyage sont probablement celles qui impliquent les modifications structurales les plus importantes, permettant une meilleure accessibilité aux solvants. La fraction Min > 50  $\mu\text{m}$  présente les plus forts taux d'extraction pour les quatre sols (de 27.7 à 38.8 % du  $^{14}\text{C}$  de la fraction), et la fraction (Humine)<sub>HF</sub> les plus faibles (de 5.8 à 7.5 % du  $^{14}\text{C}$  de la fraction).

La minéralisation des résidus liés associés aux fractions granulométriques et chimiques atteint

TAB. 5.3 – *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*

Sol	Fraction	Avant ré-incubation		Après ré-incubation	
		Extractibles†	Minéralisation	Extractibles†	
		% du <sup>14</sup> C de la fraction			
MG8	MOF > 50 μm	13.4 ± 1.9	13.7 ± 0.6	5.0 ± 0.5	
	Min > 50 μm	28.3 ± 2.0	17.8 ± 2.5	13.0 ± 0.2	
	20-50 μm	13.9 ± 1.1	17.3 ± 0.5	2.4 ± 2.1	
	< 20 μm	8.2 ± 1.5	28.3 ± 2.0	2.3 ± 0.4	
	Humine	13.4 ± 1.7	24.7 ± 1.0	2.1 ± 0.2	
	(Humine) <sub>après HF</sub>	10.0 ± 1.2	31.1 ± 1.8	1.6 ± 0.9	
	(Humine) <sub>HF</sub>	5.8 ± 0.2	30.4 ± 0.8	1.4 ± 0.2	
	Humine réfractaire‡	7.7	13.5	1.6	
WG8	MOF > 50 μm	12.8 ± 2.7	12.4 ± 0.8	4.9 ± 1.7	
	Min > 50 μm	31.2 ± 3.5	18.5 ± 0.4	17.2 ± 2.4	
	20-50 μm	16.1 ± 0.9	17.4 ± 1.1	4.0 ± 0.2	
	< 20 μm	14.4 ± 0.9	19.7 ± 0.1	3.7 ± 0.1	
	Humine	17.7 ± 1.2	16.3 ± 1.3	3.3 ± 0.2	
	(Humine) <sub>après HF</sub>	10.9 ± 0.5	12.7 ± 0.9	1.9 ± 0.1	
	(Humine) <sub>HF</sub>	7.1 ± 0.5	9.7 ± 1.0	2.0 ± 0.1	
	Humine réfractaire‡	8.2	10.6	1.3	
MV6	MOF > 50 μm	11.5 ± 1.2	19.0 ± 1.1	1.9 ± 0.1	
	Min > 50 μm	38.8 ± 1.1	44.2 ± 2.6	3.6 ± 0.2	
	20-50 μm	15.8 ± 1.4	22.8 ± 1.3	1.8 ± 0.2	
	< 20 μm	20.7 ± 2.6	30.5 ± 0.7	2.1 ± 0.0	
	Humine	16.0 ± 0.8	18.7 ± 0.6	2.0 ± 0.1	
	(Humine) <sub>après HF</sub>	10.2 ± 0.9	12.0 ± 0.8	1.4 ± 0.2	
	(Humine) <sub>HF</sub>	5.8 ± 0.8	10.7 ± 1.9	1.5 ± 0.1	
	Humine réfractaire‡	10.3	19.1	0.9	
MS5	MOF > 50 μm	13.5 ± 1.9	19.9 ± 2.4	2.3 ± 0.3	
	Min > 50 μm	27.7 ± 3.2	36.9 ± 1.8	2.8 ± 0.4	
	20-50 μm	13.2 ± 0.7	29.0 ± 0.5	2.2 ± 0.1	
	< 20 μm	16.4 ± 3.0	33.5 ± 0.6	2.6 ± 0.1	
	Humine	13.2 ± 0.5	20.1 ± 0.7	2.1 ± 0.1	
	(Humine) <sub>après HF</sub>	12.6 ± 1.1	13.4 ± 2.0	1.9 ± 0.3	
	(Humine) <sub>HF</sub>	7.5 ± 0.5	11.7 ± 0.4	1.5 ± 0.0	
	Humine réfractaire‡	13.6	22.3	2.7	

† : somme des extractibles à l'eau et au méthanol

‡ : cumul des trois répétitions

de 11 à 44 % du <sup>14</sup>C-liés aux fractions selon les fractions et les sols (Figure 5.1). Il n'y a pas de phase de latence avant le démarrage de la minéralisation, ce qui est en accord avec la présence d'une microflore adaptée à la dégradation de l'atrazine dans le sol MG8. Ceci indique la disponibilité immédiate des résidus liés rendus accessibles lors des traitements associés au protocole de fractionnement. Les fractions MOF > 50 μm présentent les plus faibles taux de minéralisation pour les quatre sols. Pour les fractions granulométriques (MOF > 50 μm, Min > 50 μm, 20-50 μm et < 20 μm), et l'«Humine réfractaire» issues des sols les plus acides (MV6 et MS5) présentent les plus forts taux de minéralisation. L'Humine, l'(Humine)<sub>après HF</sub> et l'(Humine)<sub>HF</sub> du sol MG8

présentent les plus fort taux de minéralisation. Les trois autres sols présentent des taux de minéralisation du même ordre de grandeur qui décroissent dans le sens Humine > (Humine)<sub>après HF</sub> > Humine<sub>HF</sub>.

Les taux de minéralisation des résidus liés sont supérieurs aux pourcentages de résidus liés extractibles avant ré-incubation, excepté pour les fractions MOF > 50  $\mu\text{m}$  et Min > 50  $\mu\text{m}$  des sols MG8 et WG8 (Tableau 5.3). Dans tous les cas, la somme des taux de minéralisation et des pourcentages de résidus qui sont rendus extractibles après ré-incubation est toujours supérieure à l'extractibilité des résidus liés avant ré-incubation. Cependant, la différence entre les taux de minéralisation et l'extractibilité avant ré-incubation reste assez faible (de 0 à 25 % d'écart selon les sols et les fractions). Les quantités de résidus rendus extractibles après ré-incubation représentent de 1.4 à 17.2 % du  $^{14}\text{C}$  associé aux fractions.

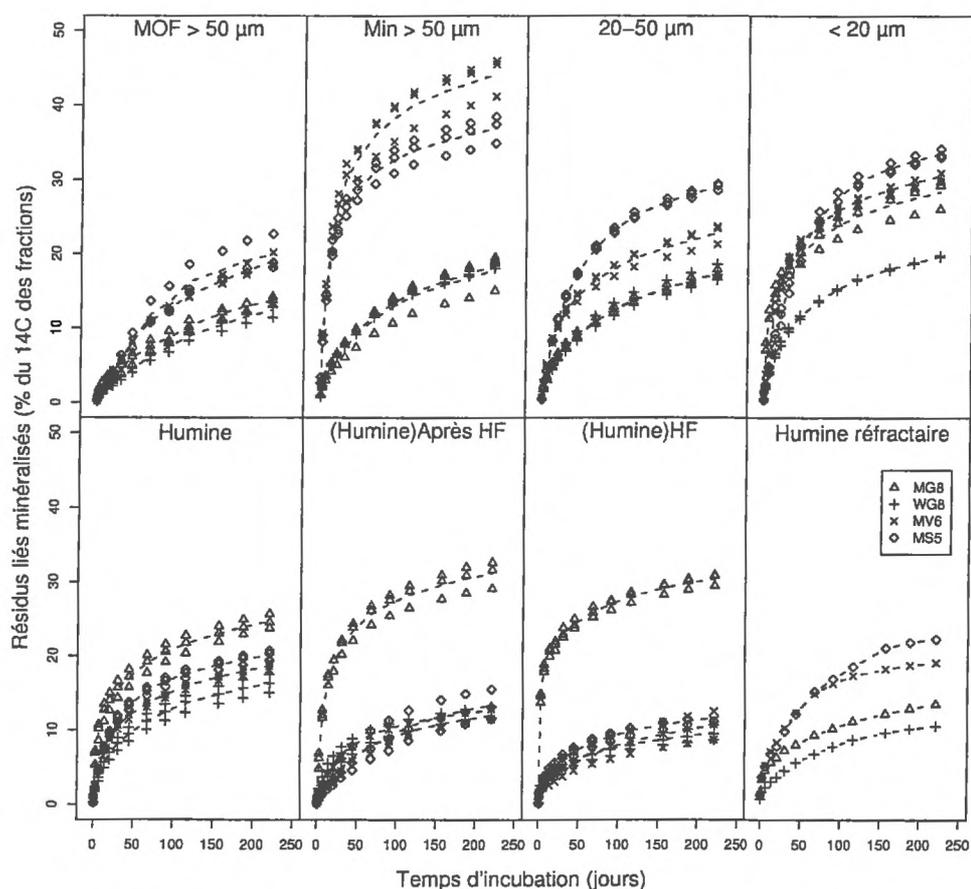


FIG. 5.1 – Cinétiques de minéralisation des résidus liés associés aux fractions granulométriques et chimiques

La somme des quantités de résidus liés minéralisés, pondérée par le pourcentage massique de chaque fraction par rapport au sol total, permet d'estimer les quantités totales de résidus liés minéralisables pour les quatre sols non fractionnés. Celles-ci seraient de 25, 18, 27 et 32 % des résidus liés totaux pour MG8, WG8, MV6 et MS5, respectivement, correspondant à 3, 6, 11 et 9 % du  $^{14}\text{C}$ -appliqué.

### 5.3.2 Influence des mécanismes de stabilisation sur la bio-disponibilité des résidus liés d'atrazine

Pour tenter d'obtenir des informations sur la bio-disponibilité des résidus liés en fonction du type de mécanisme supposé impliqué dans leur formation, les taux de minéralisation des résidus liés associés aux différentes fractions peuvent être discutés en fonction des mécanismes «supposés» : le piégeage physique et la formation de liaison(s) covalente(s).

On considère comme «piégés physiquement» la radioactivité chromatographiée ou non-dialysable à 1000 Da (ATR + métabolites et N.I. «libres») libérée lors des traitements chimiques ne supposant pas de coupures de liaisons covalentes (AF, extraits HF,  $(\text{AF})_{\text{HF}}$  récupérés lors des extractions alcalines et du traitement HF).

On considère comme «liés chimiquement» la radioactivité associée à des macro-molécules humiques (AH) et non-dialysables à 5000 Da, ainsi que la radioactivité libérée lors de traitements hydrolytiques pouvant impliquer la coupure de liaisons covalentes (Hydrolyses acides).

Les composés «non-étudiés» récupérés dans les extraits HF et les hydrolysats n'ont pas été associés à un mécanisme de formation donné, tout comme les résidus liés associés aux «Humines réfractaires» qui n'ont pas été solubilisés.

Ces différentes hypothèses permettent de distinguer différents compartiments de résidus liés en fonction des deux types de mécanismes supposés. Les résultats du chapitre 3 (Tableau 3.3,

page 88) permettent de calculer la taille de ces compartiments selon les considérations précédemment mentionnées. Pour la fraction granulométrique  $< 20 \mu\text{m}$ , la somme DEDIA + DEA + DIA + ATR + HO-DEDIA + HO-DIA + HO-DEA + HO-ATR et la somme des N.I. «libres» analysés dans les AF, AH, extraits HF,  $(\text{AF})_{\text{HF}}$ ,  $(\text{AH})_{\text{HF}}$  après 55 jours d'incubation constituent les compartiments (ATR + métabolites) et N.I. «libres» stabilisés sous forme de résidus liés par «piégeage physique». Pour l'Humine, le compartiment (ATR + métabolites) stabilisé par «piégeage physique» est calculé comme la somme DEDIA + DEA + DIA + ATR + HO-DEDIA + HO-DIA + HO-DEA + HO-ATR analysés dans les extraits HF,  $(\text{AF})_{\text{HF}}$ ,  $(\text{AH})_{\text{HF}}$  après 55 jours d'incubation,...

Les différents traitements chimiques effectués sur les fractions  $< 20 \mu\text{m}$  des quatre sols provoquent prioritairement la solubilisation des résidus d'atrazine piégés physiquement, puis des résidus «liés chimiquement» et «non-étudiés» (Figure 5.2).

Pour les fractions  $< 20 \mu\text{m}$  des quatre sols, le séchage et le broyage provoquent une augmentation de l'extractibilité des résidus liés associés à ces fractions. Pour les deux sols calcaires (MG8 et WG8), l'extraction alcaline réalisée sur la fraction  $< 20 \mu\text{m}$  provoque une augmentation de l'extractibilité des résidus liés avant ré-incubation. Dans les autres cas, l'extractibilité des résidus liés associés aux fractions chimiques diminue au cours des traitements successifs réalisés (Figure 5.2).

Pour les sols WG8, MV6 et MS5, les taux de minéralisation et l'extractibilité après ré-incubation des résidus liés diminuent quand le compartiment des résidus piégés physiquement (somme ATR + métabolites et N.I. «Libres») diminue. Pour l'Humine $_{\text{HF}}$  et l'humine réfractaire, l'extractibilité et la minéralisation sont supérieures à 0 alors qu'il n'y a «plus» de résidus «piégés physiquement» dans ces fractions. Dans le cas du sol MG8, la minéralisation des résidus liés est à peu près constante pour toutes les fractions excepté l'humine réfractaire qui présente une minéralisation des résidus liés sensiblement plus faible (Figure 5.2).

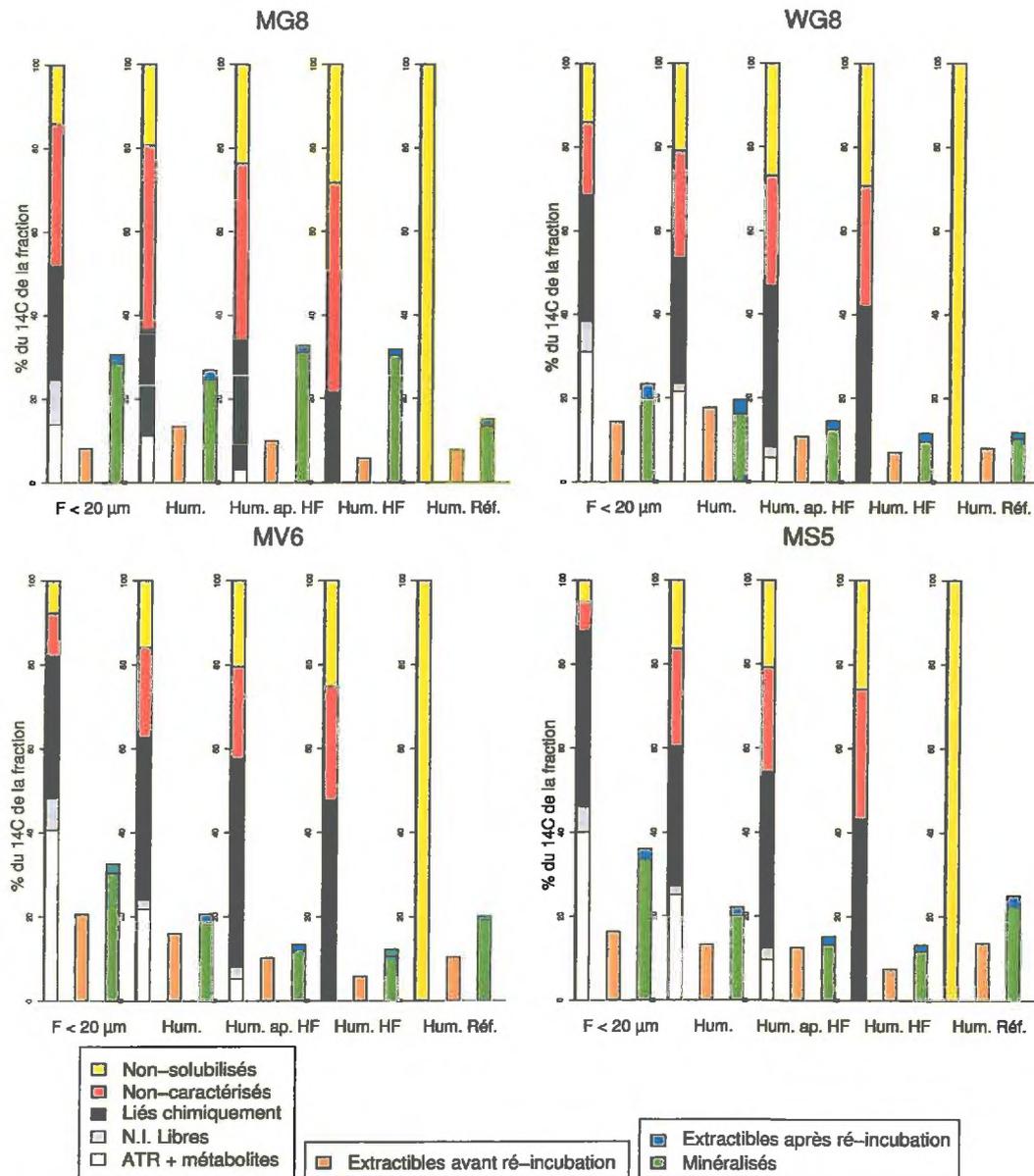


FIG. 5.2 – Résultats de la ré-incubation des résidus liés, comparaison à leur extractibilité avant ré-incubation et comparaison avec leur caractérisation (Hum.=Humine, Hum.ap.HF=(Humine)<sub>après HF</sub>, Hum.HF=(Humine)<sub>HF</sub> et Hum.Réf.=Humine réfractaire)

## 5.4 Discussion

L'extraction de résidus liés après les différents traitements réalisés sur les fractions granulométriques et chimiques confirme le relargage possible d'une partie des résidus liés d'atrazine lors de modifications physiques du sol (Schiavon et Soulas, 1983). Hatzinger et Alexander (1995) ont également constaté que la dispersion des agrégats de sol par sonication provoquait une augmentation de la minéralisation de résidus de phénanthrène incubés pendant 300 jours. La destructuration des sols semble donc rendre plus accessibles des sites où des molécules auraient diffusés, les rendant inaccessibles aux solvants lors d'extractions ne destructurant pas la matrice sol. On peut donc penser qu'en conditions de plein champ, le travail du sol, des cycles d'humectation/dessication ou de gel/dégel, peuvent provoquer des relargages de molécules initialement stabilisées sous forme de résidus liés. Bien que le fractionnement ait provoqué une augmentation de la disponibilité d'une partie des résidus liés, les résultats obtenus nous indiquent que la minéralisation est supérieure aux quantités de résidus liés rendus disponibles, ce qui confirme la minéralisation possible des résidus liés d'atrazine (Johnson *et al.*, 1999 ; Gevao *et al.*, 2001). Les quantités totales de résidus liés théoriquement minéralisables pour les sols non-fractionnés ont été calculées à partir des taux de minéralisation des fractions granulométriques. Bien que surestimant très probablement les quantités réellement minéralisables du fait de l'effet du fractionnement de chacune des fractions granulométriques, ces valeurs théoriques sont du même ordre de grandeur que les résultats obtenus par Khan et Behki (1990). Ces auteurs ont obtenu une ré-extractibilité de 30 à 35 % pour des résidus liés d'atrazine de sols inoculés avec des micro-organismes capables de dégrader l'atrazine (*Pseudomonas* 192 et 194). Gevao *et al.* (2001) ont également obtenus une ré-extractibilité à l'eau et au méthanol de résidus liés d'atrazine du même ordre de grandeur (24 % des résidus liés). Ainsi, les quantités totales de résidus liés minéralisables pourraient être considérées comme une assez bonne indication des quantités de résidus liés qui conservent un risque environnemental potentiel, bien que la nature chimique des composés minéralisés ne soit

pas connue.

Les taux de minéralisation des résidus liés des fractions granulométriques (MOF  $> 50 \mu\text{m}$ , Min  $> 50 \mu\text{m}$ , 20-50  $\mu\text{m}$  et  $< 20 \mu\text{m}$ ) sont plus élevés pour les deux sols acides (MV6 et MS5) par rapport aux deux sols calcaires (MG8 et WG8). Ceci tend à indiquer un rôle des carbonates dans la protection des résidus liés en ralentissant leur minéralisation.

Les fractions  $< 20 \mu\text{m}$  étant obtenues par tamisage, il n'y a pas d'altération chimique de la matière organique, et donc probablement pas d'augmentation de la disponibilité des résidus liés «liés chimiquement», «non solubilisables», et «non-étudiés» (ces derniers étant principalement solubilisés lors des hydrolyses acides et lors du traitement HF, cf. tableau 3.3 page 88). On peut alors émettre l'hypothèse que les résidus liés associés aux fractions  $< 20 \mu\text{m}$  les plus disponibles sont les résidus liés «piégés physiquement». Hypothèse qui semble être confirmée par les résultats obtenus pour la minéralisation des résidus liés associés aux fractions  $< 20 \mu\text{m}$ . L'allure des cinétiques de minéralisation des résidus liés obtenues sont similaires à la cinétique de minéralisation de l'atrazine dans le sol MG8 (Figure 1.2 page 30). Le sol MG8 présente une population microbienne spécifique capable de minéraliser le noyau triazinique, on peut alors penser que les résidus liés minéralisés contenaient le noyau triazinique, ce qui est le cas des résidus «piégés physiquement» et identifiés. Khan et Behki (1990) ont constaté que les résidus liés relargués par l'activité microbienne de *Pseudomonas* 192, étaient constitués à 27 % d'atrazine, 12 % d'hydroxy-atrazine, 18 % de dééthyl-atrazine et 10 % de déisopropyl-atrazine, résultats qui tendent à confirmer l'hypothèse que les résidus «piégés physiquement» sont les plus bio-disponibles. Ces résultats tendraient alors à indiquer que de 10 à 40 % des résidus liés associés aux fractions MOF  $> 50 \mu\text{m}$ , Min  $> 50 \mu\text{m}$  et 20-50  $\mu\text{m}$  des quatre sols étudiés seraient «piégés physiquement» et contiendraient encore le noyau triazinique intact.

La destructuration chimique de la matière organique par extraction alcaline provoque une dispersion colloïdale par dissociation de liaisons impliquant les groupements acides de la ma-

tière organique. Lors de cette extraction, il ne semble pas que l'on augmente la bio-disponibilité des résidus «liés chimiquement», «non-solubilisables» et «non-étudiés» restant associés aux humines. En effet, les taux de minéralisation sont équivalents à la taille des compartiments des résidus supposés «piégés physiquement». Après l'élimination des minéraux par un traitement HF, les taux de minéralisation des résidus liés sont supérieurs à la taille des compartiments des résidus supposés «piégés physiquement». Ceci tend à indiquer un rôle protecteur de la matrice minérale vis-à-vis des résidus liés d'atrazine, et que les résidus «liés chimiquement» et/ou «les résidus non-étudiés» et «non-solubilisables» sont minéralisables. Ceci est d'ailleurs confirmé par les taux de minéralisation des «Humines réfractaires» dans lesquels on ne retrouve que des résidus liés «non-solubilisables». Scheunert et Reuter (2000) ont également montré que de l'isoproturon lié chimiquement à des acides fulviques et humiques synthétiques pouvait être minéralisé. Des modifications chimiques du sol, induisant une modification du pH par exemple, peuvent donc également provoqué des relarguages possibles de résidus liés (Yee *et al.*, 1985).

Dans le cas du sol MG8, les taux de minéralisation sont systématiquement supérieurs à la taille des compartiments des résidus supposés «piégés physiquement» (ATR + métabolites + N.I. «libres»). Ceci peut s'expliquer par une nature chimique différente des composés «non-étudiés» qui seraient plus facilement accessibles et dégradables dans le sol MG8. Ceci peut être en rapport avec la forte activité minéralisatrice du sol MG8 qui induit une dégradation avancée des résidus d'atrazine et une incorporation possible des produits de dégradation dans des constituants microbiens non-extractibles mais rendus bio-disponibles pour la microflore du sol.

## 5.5 Conclusion

Des modifications physiques du sol rendent plus disponibles les résidus liés d'atrazine. De 18 à 32 % des résidus liés sont bio-disponibles pour les micro-organismes suite à une destructuration physique du sol. Ces résidus liés rendus plus disponibles étaient probablement des résidus d'atra-

zine «piégés physiquement» et contenant encore le noyau triazinique. Ils auraient diffusés dans la micro-porosité du sol, dans des sites non-accessibles pour les micro-organismes dégradants et non-accessibles aux solvants utilisés lors des extractions réalisées. Dans le cas de cette étude, ces résidus liés rendus plus disponibles sont minéralisés du fait de la présence d'une population microbienne adaptée à la dégradation du noyau triazinique. Cependant, des données de la littérature semblent indiquer que le relargage ne semble pas être dépendant du type de la population microbienne présente dans le sol, mais des modifications physiques ou physico-chimiques du sol. Autrement dit, on peut penser que si le sol WG8 avait été utilisé pour réaliser ces incubations, on aurait obtenu une proportion plus importante de résidus ré-extractibles après incubation, et un taux de minéralisation moins important.

Les résidus liés piégés physiquement semblent être les plus facilement mobilisables (et minéralisables dans notre cas). Les résidus «liés chimiquement», «non-étudiés» et «non-solubilisables» peuvent tout de même être minéralisés, mais probablement dans une moindre mesure. En effet, pour mettre en évidence une minéralisation de ces résidus, une destructuration chimique importante du sol semble nécessaire.

Cependant, des modifications physiques provoquées par des cycles humectation/dessiccation ou gel/dégel et/ou des modifications physico-chimiques des sols (modifications du pH des sols par chaulage, apport d'engrais azotée) sont susceptibles de provoquer un relargage et/ou une augmentation de la disponibilité des résidus liés.

## Conclusions Générales

## Conclusions Générales

L'importance de la stabilisation de l'atrazine et de ses dérivés sous forme de résidus liés est pilotée par la capacité des micro-organismes à minéraliser le noyau triazinique (Figure 5.3). L'application répétée d'atrazine au champ permet l'adaptation et la croissance d'une population microbienne capable de minéraliser l'atrazine. Plus cette activité minéralisatrice est grande, moins la part des résidus stabilisés est importante. L'activité minéralisatrice des micro-organismes capable de dégrader et/ou minéraliser l'atrazine favorise la formation de dérivés d'atrazine très dégradés avec ouverture du noyau triazinique. Ces dérivés fortement dégradés se stabilisent également sous forme de résidus liés.

Un  $\text{pH} < 6.5$  ralentit le développement et/ou l'activité de la population microbienne capable de minéraliser l'atrazine. La dégradation accélérée de l'atrazine passe par l'hydroxylation du noyau triazinique. La formation d'hydroxy-atrazine comme intermédiaire clef dans cette dégradation accélérée peut être à l'origine d'un blocage suite à son adsorption et à la diminution de sa bio-disponibilité. L'adsorption de l'hydroxy-atrazine plus importante que celle de l'atrazine, elle augmente quand le  $\text{pH}$  du sol diminue et est maximale quand le  $\text{pH}$  est proche de la valeur de son  $\text{pK}_a$ . On constate que la stabilisation sous forme de résidus liés des dérivés hydroxylés de l'atrazine (principalement sous forme d'hydroxy-atrazine) est favorisée pour les sols acides.

Dans tous les cas, la matière organique est le principal facteur pilotant la distribution des résidus liés au sein des fractions granulométriques et chimiques des sols. Une augmentation de la teneur en matière organique augmente l'adsorption et diminue la désorption de l'atrazine et

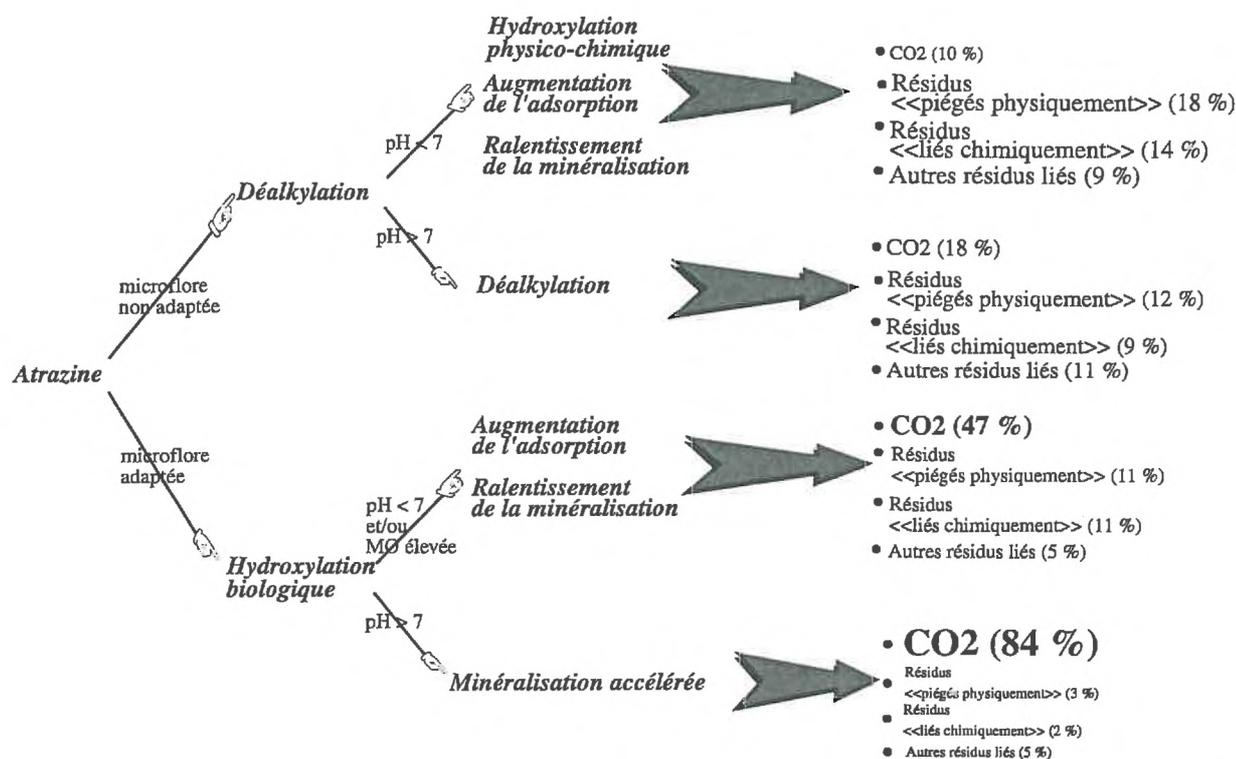


FIG. 5.3 – Schéma des principales voies de dissipation de l'atrazine en fonction de la capacité de la microflore à dégrader l'atrazine et des caractéristiques physico-chimiques du sol

de ses principaux métabolites (DEA et HO-ATR). La matière organique fraîche ou peu humifiée (MOF > 50  $\mu\text{m}$ ) semble être la plus efficace pour stabiliser l'atrazine et ses dérivés sous forme de résidus liés, mais elle est très peu abondante comparé à la matière organique humifiée (contenue dans les fractions < 20  $\mu\text{m}$ ) où sont majoritairement stockés les résidus liés d'atrazine. La microporosité colloïdale ainsi que que l'environnement fonctionnel de la matière organique participe à une meilleure préservation de l'atrazine et de ses dérivés. Ainsi, pour une activité minéralisatrice du noyau triazinique comparable, le pourcentage de résidus liés conservant le noyau triazinique est plus important pour un sol riche en matière organique par rapport à un sol «pauvre» en matière organique (comparaison MG8 et MS5, Figure 5.4). Les acides humiques favorisent la stabilisation de l'atrazine et de ses dérivés par formation de liaison(s) covalente(s).

On peut dire que le processus de stabilisation peut se dissocier en trois phases : (i) une phase de formation des résidus liés, (ii) une phase d'évolution des résidus liés et (ii) une phase de

dégradation des résidus liés. Dans le cas des travaux présentés, on a montré une faible évolution qualitative des résidus liés, qui ne s'est pas traduite par des modifications de la distribution des résidus liés au sein des fractions granulométriques et chimiques. Les deux sols minéralisant le moins ont vu leur quantité de résidus liés augmenter tout au long des incubations réalisées. Pour les deux sols minéralisant le plus, la phase de dégradation des résidus liés semble débiter entre 55 et 226 jours d'incubation.

Les résultats obtenus ont permis de mettre en évidence que les mécanismes de stabilisation de l'atrazine et de ses produits de dégradation font intervenir : (i) l'adsorption (qui est la phase initiale) suivi d'une diffusion des composés dans la micro-porosité des sols et/ou dans la structure colloïdale de la matière organique aboutissant à des résidus piégés physiquement (de 26 à 45 % des résidus liés associés aux fractions  $< 20 \mu\text{m}$  contenant la matière organique humifiée), ainsi que ; (ii) la formation de liaison(s) covalente(s) entre l'atrazine et/ou l'hydroxy-atrazine avec les constituants organiques des sols (de 14 à 26 % des résidus liés), et la formation de liaison(s) covalente(s) avec d'autres produits de dégradation de l'atrazine (de 8 à 13 %) aboutissant aux résidus «liés chimiquement» (Figure 5.4).

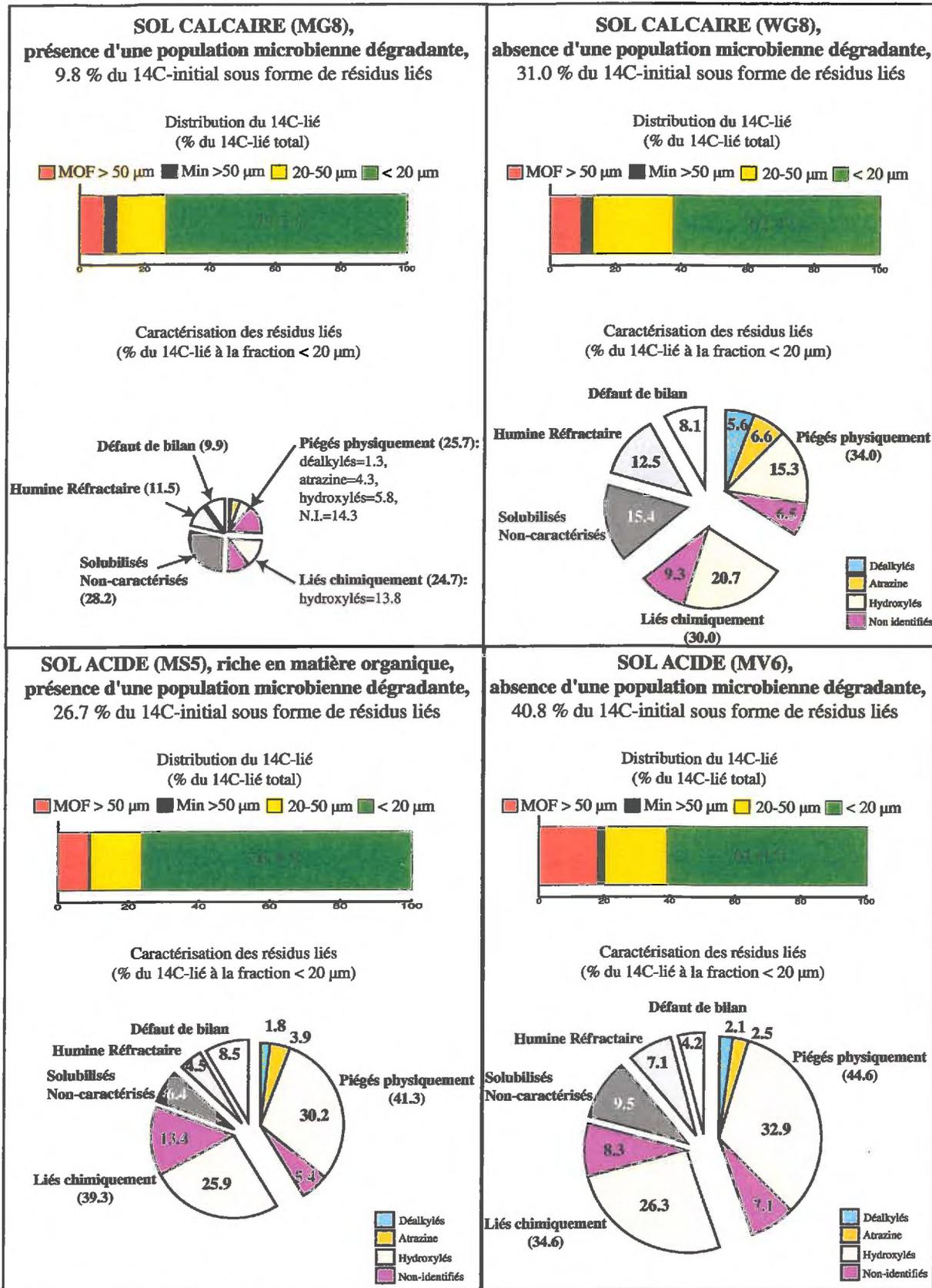


FIG. 5.4 – Formation des résidus liés d'atrazine pour les quatre sols : (i) % total de résidus liés formés, (ii) répartition des résidus liés totaux au sein des fractions granulométriques, (iii) caractérisation des résidus liés associés aux fractions < 20 µm et (iv) regroupement des résidus liés caractérisés par type de mécanismes supposés impliqués dans leur formation

La caractérisation des résidus liés a permis de constater la conservation du noyau triazinique (de 20 à 50 % des résidus liés totaux) aussi bien «piégé physiquement» que «lié chimiquement». Les résidus stabilisés par «piégeage physique» peuvent évoluer (quantitativement et qualitativement), mais avec des cinétiques lentes comparées aux résidus extractibles. *A contrario*, les résidus «liés chimiquement» semblent ne pas évoluer, ou alors avec des cinétiques plus lentes que les résidus «piégés physiquement». Bien que les résidus liés d'atrazine soient moins disponibles que l'atrazine désorbable, la stabilisation n'est pas un phénomène de stockage irréversible. Des modifications physiques et physico-chimiques des sols liés aux traitements utilisés (fractionnement granulométrique, séchage/broyage, fractionnement chimique) provoquent une augmentation de la disponibilité des résidus liés mise en évidence par la ré-extractibilité des résidus liés (de 6 à 21 % des résidus liés associés aux différentes fractions). Cette augmentation de la disponibilité se traduit par une bio-disponibilité immédiate des résidus liés pour les micro-organismes, mise en évidence par les taux de minéralisation mesuré lors des ré-incubations des résidus liés (de 10 à 44 % des résidus liés associés aux différentes fractions).

Des résultats «préliminaires» obtenus par l'utilisation du marquage isotopique au  $^{13}\text{C}$  associé à la spectrométrie de masse à rapport isotopique et à la spectrométrie de masse moléculaire mériteraient d'être approfondis. Le couplage de ces techniques paraît être une voie possible pour l'étude des résidus liés associés à la matière organique réfractaire aux traitements chimiques. Ces techniques pourraient également s'avérer utiles pour la caractérisation des résidus liés solubilisés mais non-identifiés.

L'effet d'application répétées de pesticides au champ est également une autre voie d'étude afin d'estimer si, après plusieurs années de traitement, le «stock» de résidus liés formés augmente ou s'il atteint un «plateau». Cette évaluation des risques d'accumulation nécessite d'être appuyée par l'élaboration d'une démarche de modélisation numérique permettant d'approcher des compartiments ayant des cinétiques lentes difficilement étudiables expérimentalement.

Des aspects non pris en compte dans ce travail doivent être également étudiés, comme l'influence des plantes dans les processus de stabilisation des pesticides, via le rôle des exudats racinaires par exemple. De plus, on a pu constater que la stabilisation de l'atrazine n'est pas un processus irréversible, et il est donc nécessaire d'évaluer les risques éco-toxicologiques des résidus liés. Des pollutions à long terme et à des concentrations faibles sont susceptibles de se produire du fait d'une «libération» progressive des résidus stabilisés. Des effets phyto-toxiques peuvent également être envisagés. L'atrazine a été utilisée comme molécule modèle pour la mise au point de ce protocole de caractérisation des résidus liés. Le protocole et les concepts élaborés mériteraient d'être généralisables à d'autres polluants pour permettre l'évaluation des risques environnementaux associés à la stabilisation des polluants sous forme de résidus liés.

## Bibliographie

# Bibliographie

- [1] R. Abdelhafid. *Minéralisation accélérée de l'atrazine dans les sols : conditions de mise en place, caractérisation et influence de la disponibilité en carbone et en azote*. PhD thesis, Institut National Agronomique Paris-Grignon, 1998.
- [2] S. Aivazian. *Etude statistique des dépendances*. Mir, 1970.
- [3] M. Alexander. Aging, bioavailability, and overestimation of risk from environmental pollutants. *Environ. Sci. Technol.*, 34(20) :4259–4265, 2000.
- [4] M. A. S. Aly and W. C. Dauterman. Bioavailability, biological activity and characterization of bound residues of diflubenzuron in wheat. *J. Environ. Sci. Health*, B27(2) :113–123, 1992.
- [5] M. A. S. Aly and W. C. Dauterman. Bioavailability, biological activity and characterization of bound residues of fenvalerate in wheat. *J. Environ. Sci. Health*, B27(3) :223–233, 1992.
- [6] F. Andreux, J. M. Portal, M. Schiavon, G. Bertin, and E. Barriuso. The usefulness of humus fractionation methods in studies about the behaviour of pollutants in soils. *Toxicol. Environ. Chem.*, 31-32 :29–38, 1991.
- [7] D. E. Armstrong and G. Chesters. Adsorption catalyzed chemical hydrolysis of atrazine. *Current Research*, 2(9) :683–689, 1968.
- [8] D. E. Armstrong, G. Chesters, and R. F. Harris. Atrazine hydrolysis in soil. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, 31 :61–66, 1967.

- [9] N. Augris, J. Balesdent, A. Mariotti, S. Derenne, and C. Largeau. Structure and origin of insoluble and non-hydrolysable, aliphatic organic matter in a forest soil. *Org. Geochem.*, 28 :119–124, 1998.
- [10] N. Augris-Poirier. *Processus de stabilisation du carbone dans les sols : rôle des macromolécules chimiquement résistantes*. PhD thesis, Université Pierre et Marie Curie, Paris VI, 1999.
- [11] H. M. Balba, G. G. Still, and E. R. Mansager. Pyrolytic method for estimation of bound residues of chloroaniline compounds in plants. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 62(2) :237–240, 1979.
- [12] J. A. Baldock and J. O. Skjemstad. Role of the soil matrix and minerals in protecting natural organic materials against biological attack. *Org. Geochem.*, 31 :697–710, 2000.
- [13] E. Barriuso, U. Baer, and R. Calvet. Dissolved organic matter and adsorption-desorption of dimefuron, atrazine, and carbetamide by soils. *J. Environ. Qual.*, 21(3) :359–367, 1992.
- [14] E. Barriuso, P. Benoit, and S. Houot. *Application of soil organic matter fractionation methods to the study of pesticide stabilization and bound residues formation in soils*, chapter 3.1, pages 117–130. INRA éditions, 2000.
- [15] E. Barriuso and R. Calvet. Soil type and herbicides adsorption. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, 46(117-128), 1992.
- [16] E. Barriuso, R. Calvet, M. Schiavon, and G. Soulas. Les pesticides et les polluants organiques des sols : Transformations et dissipation. *Etude et Gestion des Sols*, 3(4) :279–296, 1996.
- [17] E. Barriuso and S. Houot. Rapid mineralisation of the s-triazine ring of atrazine in soils in relation to soil management. *Soil Biol. Biochem.*, 28(10-11) :1341–1348, 1996.
- [18] E. Barriuso and W. C. Koskinen. Incorporating nonextractable atrazine residues into soil size fractions as a function of time. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 60(1) :150–157, 1996.

- [19] E. Barriuso, W. C. Koskinen, and B. Sorenson. Modification of atrazine desorption during field incubation experiments. *Sci. Total Environ.*, 123/124 :333–344, 1992.
- [20] E. Barriuso, D.A. Laird, W.C. Koskinen, and R.H. Dowdy. Atrazine desorption from smectite. *Soil Sci. Am. J.*, 58(6) :1632–1638, 1994.
- [21] E. Barriuso, M. Schiavon, F. Andreux, and J. M. Portal. Localization of atrazine non-extractable (bound) residues in soil size fractions. *Chemosphere*, 22(12) :1131–1140, 1991.
- [22] P. Benoit, E. Barriuso, V. Bergheaud, and V. Etiévant. Binding capacities of different soil size fractions in the formation of herbicide-bound residues. *Agronomie*, 20(505-512), 2000.
- [23] P. Benoit and C. M. Preston. Transformation and binding of 13c- and 14c-labelled atrazine in relation with straw decomposition in soil. *Eur. J. Soil Sci.*, 51 :43–54, 2000.
- [24] D.P. Biradar and A.L. Rayburn. Chromosomal damage induced by herbicide contamination at concentrations observed in public water supplies. *J. Environ. Qual.*, 24 :1222–1225, 1995.
- [25] J. M. Bollag. *Enzymatic binding of pesticide degradation products to soil organic matter and their possible release*, volume 459, pages 122–132. ACS, 1991.
- [26] J. M. Bollag, C. J. Myers, and R. D. Minard. Biological and chemical interactions of pesticides with soil organic matter. *Sci. Total Environ.*, 123/124 :205–217, 1992.
- [27] J.M. Bracewell and G.W. Robertson. Analytical potential of pyrolysis products derived from soil organic matter. *Anal. Proc.*, 12 :532–535, 1981.
- [28] P. Burauel and F. Führ. Formation and long term fate of non-extractable residues in outdoor lysimeter studies. *Environ. Poll.*, 108 :45–52, 2000.
- [29] A. Calderbank. The occurrence and significance of bound pesticide residues in soil. *Rev. Environ. Cont. Toxicol.*, 108 :71–103, 1989.
- [30] R. Calvet. Analyse du concept de bio-diponibilité d'une substance dans le sol. *Science du sol*, pages 183–202, 1988.

- [31] R. Calvet. Adsorption of organic chemicals in soils. *Environ. Health Perspec.*, 83 :145–177, 1989.
- [32] R. Calvet, M. Tercé, and J. C. Arvieu. Adsorption des pesticides par les sols et leurs constituants : description du phénomène d'adsorption. *Ann. Agron.*, 31(1) :33–62, 1980.
- [33] P. Capriel, A. Haisch, and S. U. Khan. Distribution and nature of bound (nonextractable) residues of atrazine in a mineral soil nine years after the herbicide application. *J. Agric. Food Chem.*, 33 :567–569, 1985.
- [34] D. O. Carpenter. Human health effects of environmental pollutants : New insights. *Environ. Monitor. Assess.*, 53 :245–258, 1998.
- [35] R. Castéras. Influence du ph sur le devenir de l'atrazine dans un sol. Mémoire de daa, INA-PG, 1998.
- [36] R. Celis, E. Barriuso, and S. Houot. Sorption and desorption of atrazine by sludge-amended soil : Dissolved organic matter effects. *J. Environ. Qual.*, 27(6) :1348–1356, 1998.
- [37] R. Celis, J. Cornejo, M. C. Hermosin, and W. C. Koskinen. Sorption-desorption of atrazine and simazine by model soil colloidal components. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 61 :436–443, 1997.
- [38] P. Chassin and R. Calvet. Rétention des molécules herbicides dans les sols. réflexions sur le rôle des matières organiques. In INRA, editor, *Comportements et effets secondaires des pesticides dans le sol*, volume 31 of *Les colloques de l'INRA*, pages 125–133, 1985.
- [39] S. A. Clay and W. C. Koskinen. Adsorption and desorption of atrazine, hydroxyatrazine, and s-glutathione atrazine on two soils. *Weed Sci.*, 38(3) :262–266, 1990.
- [40] S. A. Clay and W. C. Koskinen. Characterization of alachlor and atrazine desorption from soils. *Weed Sci.*, 38(1) :74–80, 1990.
- [41] Y. Coquet. *Etude in situ des phénomènes de retrait-gonflement des sols : application à deux sols tropicaux peu gonflants*, Annexes. PhD thesis, Université d'Orléans, 1995.

- [42] Y. Coquet and E. Barriuso. Spatial variability of pesticide adsorption within the topsoil of a small agricultural catchment. In *Geophys. Res. Abs.*, page 2769, 2001.
- [43] N. Dakhel. *Effet des paramètres pédo-climatiques sur les mécanismes responsables de la dissipation de l'amtrole dans les sols : adsorption, dégradation et stabilisation des résidus*. PhD thesis, Institut National Agronomique Paris-Grignon, 2001.
- [44] A. Dankwardt, R. Simon, D. Freitag, A. Kettrup, and B. Hock. *Determination of non-extractable triazine residues by enzyme immunoassay (EIA) - Investigation of model compounds and soil fulvic and humic acids*, pages 52–55. Number 2. Wiley-WCH DFG, 1998.
- [45] F. Dubois de la Sablonière. Pesticides dans les eaux souterraines du bassin loire-bretagne : état des lieux et perspectives de lutte. In O. Banton et G. Porel, editor, *ESRA 2000 Eaux souterraines en région agricole, Poitiers*, pages S0 5–S08. INRS-Eau Université du Québec et HydrASA Université de Poitiers, september 2000.
- [46] J. Dec and J. M. Bollag. Microbial release and degradation of catechol and chlorophenols bound to synthetic humic acid. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 52 :1366–1371, 1988.
- [47] J. Dec and J. M. Bollag. Determination of covalent and non-covalent binding interactions between xenobiotic chemicals and soil. *Soil Sci.*, 162(12) :858–874, 1997.
- [48] J. Dec, K. Haider, A. Benesi, V. Rangaswamy, A. Schäffer, U. Plücken, and J. M. Bollag. Analysis of soil-bound residues of <sup>13</sup>C-labeled fungicide cyprodinil by nmr spectroscopy. *Environ. Sci. Technol.*, 31(4) :1128–1135, 1997.
- [49] J. Dec, K. Haider, V. Rangaswamy, A. Schäffer, E. Fernandes, and J. M. Bollag. Formation of soil-bound residues of cyprodinil and their plant uptake. *J. Agric. Food Chem.*, 45(2) :514–520, 1997.
- [50] J. Dec, K. Haider, A. Schäffer, E. Fernandes, and J. M. Bollag. Use of a silylation procedure and <sup>13</sup>C-nmr spectroscopy to characterize bound and sequestered residues of cyprodinil in soil. *Environ. Sci. Technol.*, 31(10) :2991–2997, 1997.

- [51] J. Dec, K.L. Shuttleworth, and J.M. Bollag. Microbial release of 2,4-dichlorophenol bound to humic acid or incorporating during humification. *J. Environ. Qual.*, 19 :546–551, 1990.
- [52] S. Dousset. *Evaluation des potentialités de lessivage de la terbuthylazine et de l'atrazine dans trois sols de la région centre*. PhD thesis, Institut National Polytechnique de Lorraine - Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires, Février 1994.
- [53] Philippe Duchaufour. *Abrégé de Pédologie*. Masson, 1997.
- [54] F. Fuhr, H. Ophoff, P. Burauel, U. Wanner, and K. Haider. Modification of the definition of bound residues. In Senate Commission for the Assessment of Chemicals Used in Agriculture, editor, *Pesticide bound residues in soil*, volume 2, pages 175–176. Wiley-VCH, DFG, 1998.
- [55] T. W. Fuhremann and E. P. Lichtenstein. Release of soil-bound methyl [14c]parathion residues and their uptake by earthworms and oat plants. *J. Agric. Food Chem.*, 26(3) :605–610, 1978.
- [56] B. Gevao, C. Mordaunt, K.T. Semple, T.G. Pearce, and K.C. Jones. Bioavailability of nonextractable (bound) residues to earthworms. *Environ. Sci. Technol.*, 35 :501–507, 2001.
- [57] B. Gevao, K. T. Semple, and K. C. Jones. Bound pesticide residues in soils : a review. *Environ. Poll.*, 108 :3–14, 2000.
- [58] C. H. Giles. Interpretation and use of sorption isotherms. *S.C.I. Monograph*, 37 :15–32, 1960.
- [59] C. H. Giles, T. H. MacEwan, S. N. Nakhwa, and D. Smith. Studies in adsorption. part xi. a system of classification of solution adsorption isotherms, and its use in diagnosis of adsorption mechanisms and in measurement of specific surface areas of solids. *J. Chem. Soc.*, 3 :3973–3993, 1960.
- [60] I. Gobbo-Butty. Suivi des résidus de produits phytosanitaires dans les eaux souterraines et de surface dans le canton de neuchâtel (suisse). In O. Banton et G. Porel, editor, ESRA

2000 *Eaux souterraines en région agricole, Poitiers*, pages S1 23–26. INRS-Eau Université du Québec et HydrASA Université de Poitiers, september 2000.

- [61] L. Grasset. *Etude de l'humine et des acides humiques des sols : importance de la composante lipidique*. PhD thesis, Université de Poitiers, 1997.
- [62] E. A. Guthrie, J. M. Bortiatynski, J. D. H. van Heemst, J. E. Richman, K. S. Hardy, E. M. Kovach, and P. G. Hatcher. Determination of [13c]pyrene sequestration in sediment microcosms using flash pyrolysis-gc-ms and 13c nmr. *Environ. Sci. Technol.*, 33 :119–125, 1999.
- [63] J. A. Harman-Fetcho, L. L. McConnell, and J. E. Baker. Agricultural pesticides in the patuxent river, a tributary of the chesapeake bay. *J. Environ. Qual.*, 28 :928–938, 1999.
- [64] C. I. Harris. Adsorption, movement, and phytotoxicity of monuron and s-triazine herbicides in soil. *Weeds*, 14 :6–10, 1966.
- [65] C. I. Harris and G.F. Warren. Adsorption and desorption of pesticides by soil. *Weeds*, 12 :120–126, 1964.
- [66] P.B. Hatzinger and M. Alexander. Effect of aging of chemicals in soil on their biodegradability and extractibility. *Environ. Sci. Technol.*, 29(2) :537–545, 1995.
- [67] S. Hayar, C. Munier-Lamy, T. Chone, and M. Schiavon. Physico-chemical versus microbial release of 14c-atrazine bound residues from a loamy clay soil incubated in laboratory microcosms. *Chemosphere*, 34(12) :2683–2697, 1997.
- [68] M. H. B. Hayes. Adsorption of triazine herbicides on soil organic matter, including a short review on soil organic matter chemistry. *Res. Rev.*, 32 :131–174, 1970.
- [69] S. Houot, E. Topp, A. Yassir, and G. Soulas. Dependence of accelerated degradation of atrazine on soil ph in french and canadian soils. *Soil Biol. Biochem.*, 32 :615–625, 2000.

- [70] T.S. Hsu and R. Bartha. Hydrolysable and non-hydrolysable 3,4-dichloroaniline-humu complexes and their respective rates of bio-degradation. *J. Agric Food Chem.*, 24 :118–122, 1976.
- [71] IAEA, editor. *The role of organic matter in adsorption of the triazine herbicides by soils*, volume SM-106/19, 1968.
- [72] J. Israelachvili and R. Pashley. The hydrophobic interaction is long range, decaying exponentially with distance. *Nature*, 300 :341–342, 1982.
- [73] J.L. Jacobson and S.W. Jacobson. Intellectual impairment in children exposed to polychlorinated biphenyls in utero. *N. Engl. J. Med.*, 335(11) :783–789, 1996.
- [74] S.E. Johnson, J.S. Herman, A.L. Mills, and G.M. Hornberger. Bioavailability and desorption characteristics of aged, nonextractable atrazine in soil. *Environ. Toxicol. Chem.*, 18(8) :1747–1754, 1999.
- [75] D.D. Kaufman and P.C. Kearney. Microbial degradation of s-triazine herbicides. *Res. Rev.*, 32 :235–265, 1970.
- [76] S. U. Khan. Plant uptake of unextracted (bound) residues from an organic soil treated with prometryn. *J. Agric. Food Chem.*, 28 :1096–1098, 1980.
- [77] S. U. Khan. Bound pesticide residues in soil and plants. *Res. Rev.*, 84 :1–25, 1982.
- [78] S. U. Khan and R. M. Behki. Effects of pseudomonas species on the release of bound <sup>14</sup>C residues from soil treated with [<sup>14</sup>C]atrazine. *J. Agric. Food Chem.*, 38 :2090–2093, 1990.
- [79] S. U. Khan and H. A. Hamilton. Extractable and bound (nonextractable) residues of prometryn and its metabolites in an organic soil. *J. Agric. Food Chem.*, 28 :126–132, 1980.
- [80] S. U. Khan and K. C. Ivarson. Microbial release of unextracted (bound) residues from an organic soil treated with prometryn. *J. Agric. Food Chem.*, 29 :1301–1303, 1981.

- [81] S. U. Khan and K. C. Ivarson. Release of soil bound (nonextractable) residues by various physiological groups of microorganisms. *J. Environ. Sci. Health*, B17(6) :737-749, 1982.
- [82] R. Kloskowski, F. Führ, and W. Mittelstaedt. Plant availability of bound anilazine residues in a degraded loess soil. *J. Environ. Sci. Health*, B21(6) :487-505, 1986.
- [83] D.W. Kolpin, E.M. Thurman, and S.M. Linhart. The environmental occurrence of herbicides : the importance of degradates in ground water. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 35 :385-390, 1998.
- [84] E.L. Kruger, L. Somasundaram, R.S. Kanwar, and J.R. Coats. Movement and degradation of <sup>14</sup>C-atrazine in undisturbed soil columns. *Environ. Toxicol. Chem.*, 12 :1969-1975, 1993.
- [85] R. Kuckuk, W. Hill, J. Nolte, and A. N. Davies. Preliminary investigations into the interactions of herbicides with aqueous humic substances. *Pesti. Sci.*, 51 :1450-1454, 1997.
- [86] D. A. Laird, P. Y. Yen, W. C. Koskinen, T. R. Steinheimer, and R. H. Dowdy. Sorption of atrazine on soil clay components. *Environ. Sci. Technol.*, 28(6) :1054-1061, 1994.
- [87] C. Largeau, S. Derenne, E. Casadevall, A. Kadouri, and N. Sellier. Pyrolysis of immature torbanite and of the resistant biopolymer (prb a) isolated from extant alga botriococcus braunii. mechanism of formation and structure of torbanite. *Org. Geochem.*, 10 :1023-1032, 1986.
- [88] R.G. Lehmann, J.R. Miller, and D.A. Laskowski. Fate of fluroxypyr in soil : Ii. desorption as a function of incubation time. *Weed Res.*, 30 :383-388, 1990.
- [89] P. Leinweber and H.R. Schulten. Advances in analytical pyrolysis of soil organic matter. *J. Anal. Appl. Pyrolysis*, 49 :359-383, 1999.
- [90] S. Liu, S.T. Yen, and D.W. Koplin. Pesticides in ground water : do atrazine metabolites matter? *J. Am. Water Res. Ass.*, 32(4) :845-853, 1996.

- [91] L. Loiseau. Etude des processus intervenant dans la stabilisation des polluants organiques dans les sols. Mémoire de d.e.a. fonctionnement physique, chimique et biologique de la biosphère continentale, Université Pierre et Marie Curie, 1998.
- [92] L. Loiseau, E. Barriuso, Y. Zegouagh, C. Largeau, and A. Mariotti. Release of the atrazine non-extractable (bound) residues of two soils using degradative techniques. *Agronomie*, 20 :513–524, 2000.
- [93] R.T. Mandelbaum, L.P. Wackett, and D.L. Allan. Rapid hydrolysis of atrazine to hydroxy-atrazine by soil bacteria. *Environ. Sci. Technol.*, 27 :1943–1946, 1993.
- [94] L. Martin-Neto, D.G. Tragheta, C.M.P. Vaz, S. Crestana, and G. Sposito. On the interaction mechanisms of atrazine and hydroxyatrazine with humic substances. *J. Environ. Qual.*, 30 :520–525, 2001.
- [95] L. Martin-Neto, E.M. Viera, and G. Sposito. Mechanism of atrazine sorption by humic acid : a spectroscopic study. *Environ. Sci. Technol.*, 28 :1867–1873, 1994.
- [96] R. Mathew, S. Kacew, and S. U. Khan. Bioavailabilty in rats of bound pesticide residues from tolerant or susceptible varieties of soybean and canola treated with metribuzin or atrazine. *Chemosphere*, 36(3) :589–596, 1998.
- [97] O.S. Mbuya, P. Nkedi-Kizza, and K.J. Boote. Fate of atrazine in sandy soil cropped with sorghum. *J. Environ. Qual.*, 30 :71–77, 2001.
- [98] P.J. McCall and G.L. Agin. Desorption kinetics of picloram as affected by residence time in the soil. *Environ. Toxicol. Chem.*, 4 :37–44, 1985.
- [99] M.D. McGlamery and F.W. Slife. The adsorption and desorption of atrazine as affected by ph, temperature, and concentration. *Weeds*, 14 :237, 1966.
- [100] W. Mersie and C. Seybold. Adsorption and desorption of atrazine, deethylatrazine, deisopropylatrazine, and hydroxyatrazine on levy wetland soil. *J. Agric. Food Chem.*, 44 :1925–1929, 1996.

- [101] J.E. Nelson, W.F. Meggit, and D. Penner. Fractionation of residues of pendimethalin, trifluralin, and oryzalin during degradation in soil. *Weed Sci.*, 31(1) :68–75, 1983.
- [102] P.H. Nicholls. Factors influencing entry of pesticides into soil water. *J. Agric. Food Chem.*, 33 :567–569, 1988.
- [103] G. L. Northcott and K. C. Jones. Experimental approaches and analytical techniques for determining organic compound bound residues in soil and sediment. *Env. Poll.*, 108 :19–43, 2000.
- [104] International Union of Pure and Applied Chemistry. *Manual of symbols and terminology for physico-chemical quantities and units, Appendix II, Definitions, Terminology and symbols in colloid and surface chemistry*, pages 579–621. Butterworths, London, 1972.
- [105] A. Piccolo, G. Celano, P. Conte, A. Zena, and R. Spaccini. Adsorption of atrazine on humic substances of different molecular structure and their hydrolysed products as modified by pH. In A.A.M. Del Re, C. Brown, E. Capri, G. Errera, S.P. Evans, and M. Trevisan, editors, *Human and environmental exposure to xenobiotics*, pages 425–431. Proceedings of the XI Symposium Pesticide Chemistry, Cremona, Italia, La Goliardica Pavese, September 1999.
- [106] A. Piccolo, P. Conte, I. Scheunert, and M. Paci. Atrazine interactions with soil humic substances of different molecular structure. *J. Environ. Qual.*, 27 :1324–1333, 1998.
- [107] J.J. Pignatello. *The measurement and interpretation of sorption and desorption rates for organic compounds in soil media*, volume 69, chapter 1, pages 1–73. Academic Press, 2000.
- [108] J.J. Pignatello and B. Xing. Mechanisms of slow sorption of organic chemicals to natural particles. *Environ. Sci. Technol.*, 30(1) :1–11, 1996.
- [109] D. Pimentel. Amounts of pesticides reaching target pests : environmental impacts and ethics. *J. Agric. Environ. Ethics*, 8(1) :17–29, 1995.
- [110] E. Pogany and K.H. Pawlizki. Formation, distribution and bioavailability of cell wall bound residues of 4-chloroaniline and 2,4-dichlorophenol. *Chemosphere*, 21(3) :349–358, 1990.

- [111] L. Pussenier, S. Goux, V. Vanderheyden, P. Debongnie, I. Trésinie, and G. Foucart. Rapid dissipation of atrazine in soils taken from various maize fields. *Weed Res.*, 37 :171–179, 1997.
- [112] K.D. Racke and E.P. Lichtenstein. Effects of soil microorganisms on the release of bound 14c residues from soils previously treated with [14c]parathion. *J. Agric. Food Chem.*, 33 :938–943, 1985.
- [113] M. Radosevich, S.J. Traina, and O.H. Tuovinen. Atrazine mineralization in laboratory-aged soil microcosms inoculated with s-triazine-degrading bacteria. *J. Environ. Qual.*, 26 :206–214, 1997.
- [114] H.H. Richnow, A. Eschenbach, B. Mahro, M. Kästner, E. Annweiler, R. Seifert, and W. Michaelis. Formation of nonextractable soil residues : a stable isotope approach. *Environ. Sci. Technol.*, 33 :3761–3767, 1999.
- [115] H.H.M. Rijnaarts, A. Bachmann, J.C. Jumelet, and A.J.B. Zehnder. Effect of desorption and intraparticle mass transfer on the aerobic biomineralization of alpha-hexachlorocyclohexane in a contaminated calcareous soil. *Environ. Sci. Technol.*, 24 :1349–1354, 1990.
- [116] T. Roberts, editor. *Metabolic pathways of agrochemicals : herbicides and plant growth regulators*, volume Part One. The Royal Society of Chemistry, 1998.
- [117] T. R. Roberts, W. Klein, G. G Still, P. C. Kearney, N. Dresler, J. Desmoras, H. O. Esser, N. Aharonson, and J. W. Vonk. Non-extractable pesticide residues in soils and plants. *Pure & Appl. Chem*, 56 :945–956, 1984.
- [118] T. R. Roberts and M.E. Standen. Further studies of the degradation of the pyrethroid insecticide cypermethrin in soils. *Pestic. Sci.*, 12 :285–296, 1981.
- [119] S. Rousseaux. *Diversité taxonomique, génotypique et physiologique des souches bactériennes dégradant l'atrazine dans les sols*. PhD thesis, Université de Bourgogne, 2001.

- [120] C. Saiz-Jimenez. *The chemical structure of humic substances : recent advances*, chapter 1, pages 1–43. 1996.
- [121] V. Salmon, S. Derenne, E. Lallier-Vergès, C. Largeau, and B. Beaudoin. Protection of organic matter by mineral matrix in a cenomian black shale. *Org. Geochem*, 31 :463–474, 2000.
- [122] T. Satoh. Organo-mineral status in soils. i. thermal analytical characteristics of humus in the soils. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 1 :1–12, 1984.
- [123] T. Satoh. Organo-mineral status in soils. ii. thermal nature of organo-mineral complex particles and their humic substances. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 1 :95–104, 1984.
- [124] I. Scheunert and S. Reuter. Formation and release of residues of the <sup>14</sup>C-labelled herbicide isoproturon and its metabolites bound in model polymers and in soil. *Environ. Pollut.*, 108 :61–68, 2000.
- [125] M. Schiavon. Studies of the leaching of atrazine, of its chlorinated derivatives, and of hydroxyatrazine from soil using <sup>14</sup>C-ring-labeled compounds under outdoor conditions. *Eco-tox. Environ. Safety*, 15 :46–54, 1988.
- [126] M. Schiavon. Studies of the leaching of atrazine, of its chlorinated derivatives, and of hydroxyatrazine from soil using <sup>14</sup>C-ring-labeled compounds under outdoor conditions. *Eco-tox. Environ. Safety*, 15 :55–61, 1988.
- [127] M. Schiavon, F. Jacquin, and Goussault C. Blocage de molécules s-triaziniques par la matière organique. *IAEA-SM-211*, pages 327–332, 1977.
- [128] M. Schiavon and G. Soulas. Etude de la contamination des eaux de drainage et de la matière organique du sol par un herbicide (atrazine) et ses dérivés de dégradation. Technical report, Ministère de l'Environnement, Convention N°81398, 1983.
- [129] M. Schnitzer and I. Hoffman. Pyrolysis of soil organic matter. *Soil Sci. Soc. Proc.*, 29 :520–525, 1964.

- [130] M. Schnitzer and I. Hoffman. Thermogravimetry of soil humic compounds. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 29 :859–870, 1965.
- [131] H. R. Schulten and G. Gleixner. Analytical pyrolysis of humic substances and dissolved organic matter in aquatic systems : structure and origin. *Org. Geochem.*, 33(11) :2489–2498, 1999.
- [132] H. R. Schulten and P. Leinweber. Thermal stability and composition of mineral-bound organic matter in density fractions of soil. *Eur. J. Soil Sci.*, 50 :237–248, 1999.
- [133] H. R. Schulten and M. Schnitzer. Structural studies on soil humic acids by curie-point pyrolysis-gas chromatography / mass spectrometry. *Soil Sci.*, 153(3) :205–224, 1992.
- [134] K.M. Scow and M. Alexander. Effect of diffusion on the kinetics of biodegradation : experimental results with synthetic aggregates. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 56 :128–134, 1992.
- [135] N. Senesi. Binding mechanisms of pesticides to soil humic substances. *Sci. Tot. Environ.*, 123/124 :63–76, 1992.
- [136] N. Senesi and C. Testini. Physico-chemical investigations of interaction mechanisms between s-triazine herbicides and soil humic acids. *Geoderma*, 28 :129–146, 1982.
- [137] N. Senesi and C. Testini. *The environmental fate of herbicides : the role of humic substances*, volume 35, pages 477–490. Hallberg R., 1983.
- [138] C.A. Seybold and W. Mersie. Adsorption and desorption of atrazine, deethylatrazine, deisopropylatrazine, hydroxyatrazine, and metolachlor in two soils from virginia. *J. Environ. Qual.*, 25 :1179–1185, 1996.
- [139] J. O. Skjemstad, P. Clarke, J. A. Taylor, J. M. Oades, and R. H. Newman. The removal of magnetic materials from surface soils. a solid state  $^{13}\text{C}$  cp/mas n.m.r. study. *Aust. J. Soil Res.*, 32(1215-1229), 1994.
- [140] J. D. Sullivan and G. T. Felbeck. A study of the interaction of s-triazine herbicides with humic acids from three different soils. *Soil Sci.*, 106(1) :42–52, 1968.

- [141] R.E. Talbert and O.H. Fletchall. The adsorption of some s-triazines. *Weeds*, 13 :46, 1965.
- [142] C. Tomlin, editor. *The pesticide manual*. British Crop Protection Council and The Royal Society of Chemistry, 10 edition, 1994.
- [143] S.M. Waliszewski, A.A. Aguire, A. Benitez, R.M. Infanzon, R. Infanzon, and J. Rivera. Organochlorine pesticide residues in human blood serum of inhabitants of veracruz, mexico. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 62 :397–402, 1999.
- [144] J. B. Weber, S. B. Weed, and T. M. Ward. Adsorption of s-triazines by soil organic matter. *Weed Sci.*, 17 :417–421, 1969.
- [145] M.G. Weller, A. Zeck, P. Pfortner, E. Simon, and R. Niessner. Novel concepts for the immunological detection of bound residues. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, 75(1-2) :201–215, 1999.
- [146] B. Welté and S. Soffietti. Suivi des résidus de pesticides dans des eaux de source dont on contrôle tous les intrants sur le bassin versant. In O. Banton et G. Porel, editor, *ESRA 2000 Eaux souterraines en région agricole, Poitiers*, pages S1 15–S1 18. INRS-Eau Université du Québec et HydrASA Université de Poitiers, september 2000.
- [147] D. A. Winkelmann and S. J. Klaine. Atrazine metabolite behavior in soil-core microcosms : formation, disappearance, and bound residues. In ACS, editor, *Pesticide transformation products : fate and significance in the environment*, volume 459, pages 75–92, Washington, DC, 1991.
- [148] D. A. Winkelmann and S. J. Klaine. Degradation and bound residue formation of four atrazine metabolites, deethylatrazine, deisopropylatrazine, dealkylatrazine and hydroxy-atrazine, in a western tennessee soil. *Environ. Tox. Chem.*, 10 :347–354, 1991.
- [149] B. L. Worobey and G. R. B. Webster. Pyrolytic release of tightly complexed 4-chloroaniline from soils and soil humic acids. *J. Agric. Food Chem.*, 30 :164–169, 1982.

- 
- [150] H. Xie, T. F. Guetzloff, and J. A. Rice. Fractionation of pesticide residues bound to humin. *Soil Sci.*, 162(6) :421–429, 1997.
- [151] B. Yaron. General principles of pesticide movement to groundwater. *Agric. Ecosys. Environ.*, 26 :275–297, 1989.
- [152] D. Yee, P. Weinberger, and S. U. Khan. Release of soil-bound prometryne residues under different soil ph and nitrogen fertilizer regimes. *Weed Sci.*, 33 :882–887, 1985.
- [153] Y. Zegouagh, S. Derenne, C. Largeau, and A. Saliot. A geochemical investigation of carboxylic acids released via sequential treatments of two surficial sediments from the chang-jiang delta and east china sea. *Org. Geochem.*, 31(5) :375–388, 2000.
- [154] Y. Zegouagh, L. Loiseau, S. Derenne, E. Barriuso, C. Largeau, and A. Mariotti. Effect of removal of mineral matrix by HF 2 % treatment on the molecular composition of soil organic matter as revealed by pyrolysis. 14th international symposium on analytical and applied pyrolysis, Seville, Spain, April 2000.
- [155] Y. Zegouagh, L. Loiseau, S. Derenne, E. Barriuso, C. Largeau, and A. Mariotti. Molecular characterization of soil organic constituents by pyrolysis after mineral matrix removal by HF 2 % treatment. 10th International meeting of the IHSS, Toulouse, France, July 2000.

## Annexe A

Test de comparaison de deux droites de régression (Aivazian, 1970)

## Annexe A

# Test de comparaison de deux droites de régression (Aivazian, 1970)

Reproduit de Coquet (1995).

On dispose de deux échantillons, numérotés 1 et 2, de tailles  $n_1$  et  $n_2$ . Sur chacun de ces échantillons, on étudie par régression linéaire, la dépendance entre deux variables  $X$  et  $Y$ . On obtient ainsi deux droites d'ajustement :

$$\hat{Y}_1 = \hat{\alpha}_1 + \hat{\beta}_1 \cdot X_1$$

$$\hat{Y}_2 = \hat{\alpha}_2 + \hat{\beta}_2 \cdot X_2$$

On cherche à savoir si ces deux droites de régression caractérisent deux échantillons provenant d'une seule et même population, ou de deux populations significativement différentes l'une de l'autre. Pour ce faire, trois tests sont réalisés successivement. Un test sur les variances résiduelles des échantillons, puis un test sur les pentes des droites de régression, et enfin un test sur les ordonnées à l'origine de ces droites.

## A.1 Test des variances

Soient  $\hat{\sigma}_1^2$  et  $\hat{\sigma}_2^2$ , les variances résiduelles des deux échantillons, après application du modèle de régression. Le premier test à réaliser est celui de l'homogénéité des variances résiduelles entre les deux échantillons. On calcule le rapport des variances (test de Fisher) :

$$F = \frac{\hat{\sigma}_1^2}{\hat{\sigma}_2^2}, \quad \text{tel que } F \approx \mathcal{F}(n_1 - 2, n_2 - 2)$$

Ce rapport est proche de 1 si les échantillons sont issus de populations ayant statistiquement la même variance  $\hat{\sigma}_1^2 = \hat{\sigma}_2^2$ . Ainsi, si on a

$$\frac{1}{f_{\alpha(n_1-2, n_2-2)}} < \frac{\hat{\sigma}_1^2}{\hat{\sigma}_2^2} < f_{\alpha(n_1-2, n_2-2)} \quad (\text{A.1})$$

où  $f_{\alpha(n_1-2, n_2-2)}$  est la valeur du  $f$  de Fisher au seuil  $\alpha$ , avec  $(n_1-2)$  degrés de liberté au numérateur et  $(n_2-2)$  degrés de liberté au dénominateur, alors on peut accepter l'hypothèse selon laquelle les échantillons sont issus de populations ayant la même variance. Sinon, on rejette cette hypothèse au risque  $\alpha$ .

## A.2 Cas de variances homogènes

Si les deux variances résiduelles  $\hat{\sigma}_1^2$  et  $\hat{\sigma}_2^2$  ne sont pas statistiquement différentes l'une de l'autre, on doit, d'une part vérifier l'homogénéité des pentes des droites de régression, d'autre part l'homogénéité de leurs ordonnées à l'origine.

### A.2.1 Test de l'homogénéité des pentes des droites de régression

Soit  $\hat{\sigma}^2$  l'estimation de la variance théorique globale de la population dont sont issus les deux échantillons :

$$\hat{\sigma}^2 = \frac{(n_1 - 2) \cdot \hat{\sigma}_1^2 + (n_2 - 2) \cdot \hat{\sigma}_2^2}{(n_1 + n_2 - 4)}$$

Soient

$$\sum_{i=1}^{n_1} (x_{1i} - \bar{x}_1)^2 \quad \text{et} \quad \sum_{i=1}^{n_2} (x_{2i} - \bar{x}_2)^2$$

les sommes des carrés des écarts à la moyenne des variables indépendantes pour les deux échantillons, avec

$$\bar{x}_1 = \frac{1}{n_1} \cdot \sum_{i=1}^{n_1} x_{1i} \quad \text{et} \quad \bar{x}_2 = \frac{1}{n_2} \cdot \sum_{i=1}^{n_2} x_{2i}$$

les moyennes de ces variables pour les échantillons.

On accepte l'hypothèse d'identité des pentes des droites de régression si l'inégalité

$$|\hat{\beta}_1 - \hat{\beta}_2| < t_{\alpha, (n_1+n_2-4)} \cdot \hat{\sigma} \cdot \sqrt{\frac{1}{\sum_{i=1}^{n_1} (x_{1i} - \bar{x}_1)^2} + \frac{1}{\sum_{i=1}^{n_2} (x_{2i} - \bar{x}_2)^2}} \quad (\text{A.2})$$

où  $t_{\alpha, (n_1+n_2-4)}$  est la valeur de  $t$  de Student pour le seuil  $\alpha$  (test bilatéral) et avec  $(n_1+n_2-4)$  degré de liberté, est vérifiée.

### A.2.2 Test de l'homogénéité des ordonnées à l'origine des droites de régression

Soit

$$\hat{\beta} = \frac{\sum_{i=1}^{n_1} (x_{1i} - \bar{x}_1)^2 \cdot \hat{\beta}_1 + \sum_{i=1}^{n_2} (x_{2i} - \bar{x}_2)^2 \cdot \hat{\beta}_2}{\sum_{i=1}^{n_1} (x_{1i} - \bar{x}_1)^2 + \sum_{i=1}^{n_2} (x_{2i} - \bar{x}_2)^2}$$

l'estimation conjointe de la pente de la droite commune aux deux échantillons, dans le cas où ces échantillons ont des droites de régression de pentes homogènes.

Soit  $\hat{\beta}' = (\bar{y}_1 - \bar{y}_2) / (\bar{x}_1 - \bar{x}_2)$ , l'estimation de cette même pente, en supposant que les ordonnées

à l'origine des deux droites de régression sur les échantillons sont identiques, avec

$$\bar{y}_1 = \frac{1}{n_1} \cdot \sum_{i=1}^{n_1} y_{1i} \quad \text{et} \quad \bar{y}_2 = \frac{1}{n_2} \cdot \sum_{i=1}^{n_2} y_{2i}$$

les moyennes des variables dépendantes pour les deux échantillons. On accepte l'hypothèse d'identité des ordonnées à l'origine si l'inégalité

$$|\hat{\beta} - \hat{\beta}| < t_{\alpha, (n_1+n_2-4)} \cdot \hat{\sigma} \cdot \sqrt{\frac{1}{\sum_{i=1}^{n_1} (x_{1i} - \bar{x}_1)^2 + \sum_{i=1}^{n_2} (x_{2i} - \bar{x}_2)^2} + \frac{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}{(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)^2}} \quad (\text{A.3})$$

est vérifiée.

Ainsi, si ces deux dernières inégalités (A.2 et A.3) sont vérifiées, on peut dire que les deux droites de régression ne sont pas significativement différentes l'une de l'autre, et que les deux échantillons peuvent être considérés comme issus d'une seule et même population.

### A.3 Cas de variances non homogènes

Si les variances résiduelles  $\hat{\sigma}_1^2$  et  $\hat{\sigma}_2^2$  diffèrent significativement l'une de l'autre, c'est-à-dire si l'une des inégalités de l'équation A.1 n'est pas vérifiée, alors on peut dire que ces deux échantillons proviennent de deux populations statistiquement différentes. Il n'existe alors pas de critères statistiques exacts pour comparer les droites de régression de ces échantillons. On peut toutefois utiliser les tests suivants, qui ne sont qu'approximatifs et ne donneront qu'une indication assez grossière de la relation entre ces deux droites. Cependant, les résultats de ces tests deviennent de plus en plus précis et fiables lorsque les tailles  $n_1$  et  $n_2$  des échantillons sont grandes.

### A.3.1 Test de l'homogénéité des pentes des droites de régression

Tout d'abord, afin d'accepter l'hypothèses d'égalité des pentes des deux droites, on devra vérifier l'inégalité suivante

$$|\hat{\beta}_1 - \hat{\beta}_2| < t_{\alpha, l} \sqrt{\frac{\hat{\sigma}_1^2}{\sum_{i=1}^{n_1} (x_{1i} - \bar{x}_1)^2} + \frac{\hat{\sigma}_2^2}{\sum_{i=1}^{n_2} (x_{2i} - \bar{x}_2)^2}} \quad (\text{A.4})$$

Le nombre de degrés de liberté  $l$  du  $t$  de Student au seuil  $\alpha$  (test bilatéral) figurant dans cette équation est calculé par

$$l = \left( \frac{C^2}{n_1 - 2} + \frac{(1 - C^2)}{n_2 - 2} \right)^{-1}$$

avec

$$C = \frac{\hat{\sigma}_1^2}{\sum_{i=1}^{n_1} (x_{1i} - \bar{x}_1)^2} \div \left( \frac{\hat{\sigma}_1^2}{\sum_{i=1}^{n_1} (x_{1i} - \bar{x}_1)^2} + \frac{\hat{\sigma}_2^2}{\sum_{i=1}^{n_2} (x_{2i} - \bar{x}_2)^2} \right)$$

Si l'inégalité A.4 est vérifiée, il nous reste alors à tester l'hypothèse d'égalité des ordonnées à l'origine des deux droites.

### A.3.2 Test de l'homogénéité des ordonnées à l'origine des droites de régression

Soient

$$\hat{\beta}^* = \left( \hat{\beta}_1 \cdot \frac{\sum_{i=1}^{n_1} (x_{1i} - \bar{x}_1)^2}{\hat{\sigma}_1^2} + \hat{\beta}_2 \cdot \frac{\sum_{i=1}^{n_2} (x_{2i} - \bar{x}_2)^2}{\hat{\sigma}_2^2} \right) \div \left( \frac{\sum_{i=1}^{n_1} (x_{1i} - \bar{x}_1)^2}{\hat{\sigma}_1^2} + \frac{\sum_{i=1}^{n_2} (x_{2i} - \bar{x}_2)^2}{\hat{\sigma}_2^2} \right)$$

et

$$\hat{\beta} = \frac{\bar{y}_1 - \bar{y}_2}{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}$$

On peut accepter l'hypothèse d'égalité des ordonnées à l'origine des droites des deux échantillons testés, si l'inégalité

$$|\hat{\beta}^* - \hat{\beta}| < u_\alpha \cdot \sqrt{\frac{n_2 \cdot \hat{\sigma}_1^2 + n_1 \cdot \hat{\sigma}_2^2}{n_1 \cdot n_2 \cdot (\bar{x}_1 - \bar{x}_2)^2} + \frac{\hat{\sigma}_1^2 \cdot \hat{\sigma}_2^2}{(\sum_{i=1}^{n_1} (x_{1i} - \bar{x}_1)^2) \cdot \hat{\sigma}_2^2 + (\sum_{i=1}^{n_2} (x_{2i} - \bar{x}_2)^2) \cdot \hat{\sigma}_1^2}} \quad (\text{A.5})$$

où  $u_\alpha$  est l'écart gaussien au niveau de signification  $\alpha$  (test bilatéral), est vérifiée.

## Annexe B

Cinétiques d'hydrolyses de l'atrazine dans

NaOH 0.1 M et HF 2.5 %

## Annexe B

# Cinétiques d'hydrolyses de l'atrazine dans NaOH 0.1 M et HF 2.5 %

L'atrazine est une molécule connue pour s'hydrolyser en milieu acide et basique. Le protocole de fractionnement chimique utilisé pour la solubilisation des résidus liés met en oeuvre des conditions critiques de pH pour l'atrazine (extraction alcaline  $\text{pH} \geq 12$ , traitement HF et hydrolyse acides  $\text{pH} < 2$ ). Pour minimiser les artéfacts dus à ces traitements sur les résidus liés d'atrazine, les temps choisis pour les extractions alcalines et les traitements HF ont été déterminés en fonction des cinétiques d'hydrolyse de l'atrazine par ces deux réactifs (NaOH et HF) à température ambiante. Une solution de  $^{14}\text{C}$ -atrazine dans NaOH 0.1 M ou HF 2 % est préparée et laissée à température ambiante. Des parties aliquotes sont prélevées régulièrement entre 0 et 124 h, puis concentrées selon le protocole de concentration acide ou basique (cf. section 3.2.5, page 78). Les fractions retenues «R» et éluées dans le méthanol sont analysées par HPLC (cf. section 1.2.5, page 27). La radioactivité des échantillons est mesurée par scintillation en milieu liquide.

L'atrazine s'hydrolyse en hydroxy-atrazine (remplacement du chlore par un groupement hydroxyl) à pH basique et acide (Figure B.1).

Le temps cumulé pour les extractions alcalines et le traitement HF avant concentration pour

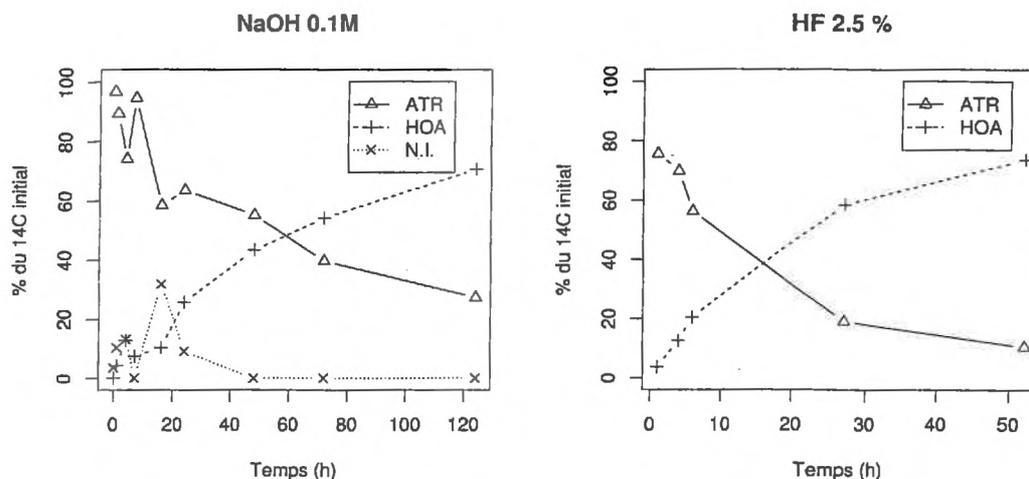


FIG. B.1 - Cinétiques d'hydrolyse de l'atrazine dans NaOH 0.1 M et HF 2.5 % à température ambiante  $\approx 20^{\circ} \text{C}$  (moyenne de deux répétitions)

analyse HPLC (centrifugations, floculation, lavages des culots et concentration sur cartouche ENV+, IST) est  $\leq 8$  h. D'après les cinétiques d'hydrolyse (Figure B.1), l'hydrolyse de l'atrazine serait donc d'environ 10 % lors des extractions alcalines et 20 % lors du traitement HF.

Pour estimer l'effet de la présence d'une phase solide (sol ou fraction granulométrique) sur les artefacts dus aux réactifs utilisés sur l'atrazine, les fractions obtenues des quatre sols non-traitées avec de l'atrazine ont été «dopées» en  $^{14}\text{C}$ -atrazine juste avant de subir un traitement chimique (cf. section 3.2.7). Les résultats sont présentés dans le tableau B.1.

Les transformations induites par les conditions expérimentales imposés pour les différentes étapes du fractionnement chimique sont limitées pour les extractions alcalines et le traitement HF 2.5 %. De 82 à 98 % de la  $^{14}\text{C}$ -atrazine appliquée est retrouvée intacte dans les extraits, mais une partie de la  $^{14}\text{C}$ -atrazine appliquée reste dans le culot de la fraction concernée.

Pour l'hydrolyse HCl 2M en conditions de reflux, de 70 à 98 % de la  $^{14}\text{C}$ -appliquée est récupérée dans les hydrolysats, dont 80 % du  $^{14}\text{C}$  retrouvé est sous forme d'hydroxy-atrazine et 20 % est non-identifié.

TAB. B.1 – Evaluation des modifications induites sur les taux de récupération et la nature chimique de la  $^{14}\text{C}$ -atrazine lors des différents traitements chimiques utilisés (NaOH/Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> 0.1 M, HF 2.5 %, HCl 2 M en conditions de reflux) en présence des fractions solides des quatre sol

Traitement	Sol	$^{14}\text{C}$ récupéré dans les extraits (% du $^{14}\text{C}$ -appliqué)	Analyse HPLC † (% $^{14}\text{C}$ -récupéré)
Extraction alcaline (NaOH/Na <sub>4</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub> 0.1 M)	MG8	83.3	85.6 (ATR)
	WG8	90.0	98.0 (ATR)
	MV6	97.9	100.0 (ATR)
	MS5	90.0	100.0 (ATR)
Traitement HF 2.5 %	MG8	82.1	100.0 (ATR)
	WG8	90.1	100.0 (ATR)
	MV6	-‡	-‡
	MS5	88.9	97.6 (ATR)
Hydrolyse acide HCl 2M	MG8	72.6	80.3 (HOA)
	WG8	70.4	78.7 (HOA)
	MV6	97.6	79.5 (HOA)
	MS5	98.2	76.3 (HOA)

† : entre parenthèse est indiqué la nature du composé identifié

‡ : échantillon perdu

## Annexe C

Mise au point de la récupération du  $^{14}\text{C}$

lors des concentrations sur cartouches ENV+

## Annexe C

# Mise au point de la récupération du $^{14}\text{C}$ lors des concentrations sur cartouches ENV+

Pour l'analyse HPLC, la radioactivité solubilisée lors des différentes étapes du protocole de fractionnement a due être concentrée. Cette concentration est réalisée par extraction liquide/solide (SPE) à l'aide cartouches ENV+ (masse de sorbent 200 mg, IST). Cette phase polymérique a été choisie pour son efficacité de rétention (puis d'élution) de l'atrazine et de ses principaux métabolites déalkylés et hydroxylés en solution aqueuse à pH neutre. Cependant, les extraits alcalins, les extraits HF et les hydrolysats acides obtenus lors du fractionnement chimique ont des  $\text{pH} \geq 12$  ou  $< 2$ , qui sont loin des conditions d'utilisation recommandées pour les cartouches ENV+.

Ainsi, afin de déterminer la compatibilité d'utilisation et les rendements de récupération du  $^{14}\text{C}$  lors des concentrations sur cartouches ENV+, une solution de  $^{14}\text{C}$ -atrazine dans NaOH 0.1 M a été préparée. Après 124 h de contact, le pH de la solution est de 12.5, et le pH d'une partie aliquote est ajusté à 2.8 avec de l'HCl. Ces deux parties aliquotes sont concentrées sur

des cartouches ENV+ préalablement activées par 6 ml de méthanol suivis de 6 ml d'eau milliQ (Waters). Après percolation des parties aliquotes (10 ml) des solutions acides et basiques suivie de 6 ml d'eau milliQ qui sont récupérés (fraction non-retenues «NR»), les cartouches sont séchées par passage d'air pendant 5 min puis éluées avec 9 ml de méthanol. Le méthanol élué est récupéré (fraction retenue «R»). Le  $^{14}\text{C}$  récupéré dans les fractions «NR» et «R» est mesuré par scintillation en milieu liquide. La phase stationnaire des cartouches ENV+ est récupérée et sa teneur en  $^{14}\text{C}$  est déterminée par scintillation liquide.

On constate alors que lorsque le pH de l'échantillon concentré est de 2.8, plus de 30 % du  $^{14}\text{C}$  n'est pas élué de la cartouche ENV+, contrairement à l'échantillon avec un pH=12.5 (Tableau C.1).

TAB. C.1 – Rendement de récupération du  $^{14}\text{C}$  lors de la concentration sur cartouche ENV+ pour une solution de pH basique ou acide

Fraction	Récupération du $^{14}\text{C}$ (en % du $^{14}\text{C}$ -initial)	
	Solution pH=12.5	Solution pH=2.8
«NR»	5.4	0.5
«R»	97.7	54.3
Cartouche ENV+	0.3	33.6

La comparaison des analyses HPLC des fraction retenues «R» pour les solutions acide et basique ont permis de constater que le  $^{14}\text{C}$  non élué de la cartouche ENV+ correspond à de la  $^{14}\text{C}$ -hydroxy-atrazine. Cette expérience a donc été répétée, mais après l'élution au méthanol suivi du séchage de la cartouche, 0.5 ml de NaOH 0.1 M sont ajoutés dans la cartouche et laissés au contact de la phase polymère pendant 5 min. On fait percoler la soude et la cartouche est ensuite rincée par 6 ml d'eau milliQ puis séchée par passage d'air. La soude et l'eau sont additionnées à la fraction non-retenue «NR» (solution aqueuse). On réalise ensuite une deuxième élution avec 6 ml de méthanol qui sont additionnés à la fraction retenue «R». On constate alors que la majorité de la radioactivité est éluée et récupérée dans la fraction «R» (Tableau C.2).

TAB. C.2 – *Modification du rendement de récupération du  $^{14}\text{C}$  après passage de NaOH 0.1 M dans les cartouches ENV+*

Fraction	Récupération du $^{14}\text{C}$ (en % du $^{14}\text{C}$ -initial)		
	Solution pH=12.5	Solution pH=2.8	Solution pH=2.8 suivi du «barbotage» de la cartouche dans NaOH 0.1 M
«NR»	5.4	0.5	3.7
«R»	97.7	54.3	96.1
Cartouche ENV+	0.3	33.6	0.7

---

## Résumé

La stabilisation des polluants organiques sous forme de résidus liés (ou non-extractibles) est souvent considérée comme un processus contribuant à l'élimination du polluant, ou à la détoxification du sol pollué. Cependant, le caractère non-extractible des résidus liés pose le problème de leur caractérisation et de l'évaluation des risques éco-toxicologiques qu'ils représentent à long terme.

Les objectifs de cette thèse étaient : (i) d'étudier les processus intervenant dans la stabilisation des polluants ; (ii) de caractériser les résidus liés ; et (iii) d'évaluer leur bio-disponibilité.

La démarche expérimentale a consisté en l'obtention de résidus liés lors d'incubation de sols traités avec de la  $^{14}\text{C}$  (ou  $^{13}\text{C}$ ) atrazine en conditions contrôlées de laboratoire. L'adaptation d'un protocole de fractionnement granulométrique et chimique utilisé pour l'étude de la matière organique des sols, et l'utilisation de techniques chromatographiques, pyrolytiques et spectrométrique ont permis de caractériser les résidus liés d'atrazine et de discuter les mécanismes impliqués dans leur formation. La bio-disponibilité des résidus liés a été évaluée par ré-incubation dans un sol.

La capacité de la microflore du sol à minéraliser l'atrazine pilote les quantités de résidus liés formés (de 10 % de l'apport initial pour un sol avec une microflore adapté à la minéralisation de l'atrazine, jusqu'à 41 % pour un sol non adapté). Les paramètres physico-chimiques des sols et des produits de dégradation de l'atrazine influencent la nature des résidus qui se stabilisent sous forme de résidus liés (de 15 à 23 % des résidus liés totaux sont des métabolites hydroxylés de l'atrazine pour les sols basiques, et de 36 à 43 % pour les sols acides). De 20 à 50 % des résidus liés totaux d'atrazine étaient sous forme d'atrazine et de ses métabolites. De 20 à 30 % étaient supposés piégés physiquement, et de 20 à 30 % supposés liés chimiquement. Enfin, de 18 à 32 % étaient bio-disponibles suite à une destructuration du sol.