



**HAL**  
open science

# Stabilisation des pesticides dans les sols sous forme de résidus non extractibles : Modélisation compartimentale pour l'évaluation de l'accumulation et de la libération différée de pesticides stabilisés.

Macaire Rodrigue Edzang-Ondo

## ► To cite this version:

Macaire Rodrigue Edzang-Ondo. Stabilisation des pesticides dans les sols sous forme de résidus non extractibles : Modélisation compartimentale pour l'évaluation de l'accumulation et de la libération différée de pesticides stabilisés.. Sciences de l'environnement. AgroParisTech, 2005. Français. NNT : . pastel-00825687

**HAL Id: pastel-00825687**

**<https://pastel.hal.science/pastel-00825687>**

Submitted on 24 May 2013

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

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



U.M.R. Environnement  
et Grandes cultures



## THÈSE

Présentée en vue de l'obtention du titre de

**Docteur de l'Institut National Agronomique de Paris-Grignon**

par

**Macaire Rodrigue EDZANG-ONDO**

---

**Stabilisation des pesticides dans les sols sous forme de résidus  
non extractibles :  
Modélisation compartimentale pour l'évaluation de  
l'accumulation et de la libération différée de pesticides stabilisés**

---

soutenue publiquement le 28 Novembre 2005

devant le jury composé de :

<b>Claire CHENU</b>	: Professeur I.N.A. - P.G., Paris	<i>Président</i>
<b>Michel SCHIAVON</b>	: Professeur I.N.P.L.-E.N.S.A.I.A., Nancy	<i>Rapporteur</i>
<b>Enrique BARRIUSO</b>	: Directeur de recherche I.N.R.A., Grignon	<i>Directeur de thèse</i>
<b>Claude LARGEAU</b>	: Directeur de recherche C.N.R.S.	<i>Rapporteur</i>
<b>Marie France DIGNAC</b>	: Chargée de recherche I.N.R.A., Grignon	<i>Examineur</i>
<b>Benoît GABRIELLE</b>	: Chargé de recherche I.N.R.A., Grignon	<i>Examineur</i>



*À Maman<sup>†</sup>, Dada<sup>†</sup> et Floride<sup>†</sup>.*

*"Ce que vous aviez prévu pour après-demain est arrivé avant-hier."*

(Bertrand de Jouvenel)



# REMERCIEMENTS

*Tout au long des quatre années durant lesquelles j'ai mené ce travail de recherche dans le cadre du "Programme Pesticides" du Ministère de l'Écologie et du Développement Durable, j'ai eu le plaisir de rencontrer de nombreux scientifiques : étudiants, techniciens, ingénieurs et chercheurs qui m'ont tous, plus que par le passé, motivé à poursuivre ma carrière dans l'enseignement et la recherche. Je tiens tout particulièrement à remercier Monsieur Enrique BARRIUSO, Directeur de recherche à l'INRA, responsable de l'Équipe Sol de l'UMR INRA - INA P-G "Environnement et Grandes Cultures". Je le remercie d'avoir accepté de m'accueillir au sein de l'unité. Sa disponibilité et son savoir-faire pour l'encadrement et à la direction de cette thèse ont largement contribué à éveiller ma curiosité pour l'univers des sciences du sol que j'étais entraîné de découvrir. Qu'il trouve ici mon infinie reconnaissance.*

*Monsieur Raoul CALVET, Professeur honoraire à l'INA-PG m'a permis, entre autres, de combler mes lacunes en matière de pesticide et de fonctionnement des sols. Qu'il soit également remercié pour sa disponibilité.*

*Monsieur Pierre BENOÎT, Chargé de recherche à l'INRA a accepté d'être dans le comité de pilotage de cette thèse. Ces quelques lignes témoignent mes remerciements et ma reconnaissance à son égard, car par ailleurs, il a souvent apporté des réponses à mes interrogations.*

*Monsieur Benoît GABRIELLE, Chargé de recherche à l'INRA, a su me donner sa sympathie en même qu'il m'a ouvert les portes de son bureau. Ses conseils ont été d'une très grande utilité pour maîtriser les rudiments de la modélisation mathématique. Soyez sincèrement remercié pour tout ce que vous avez fait pour moi et appréciez ce travail en tant que membre du Jury.*

*Monsieur Michel SCHIAVON, Professeur à l'INPL - ENSAIAI, pour avoir accepté d'être le Rapporteur de ce travail ; et pour m'avoir accueilli à Nancy pour une visite dans son laboratoire, où j'ai été en contact avec les lysimètres pour la première fois, et pour des prélèvements sur le site de la Bouzulle. Lors de ce premier contact, son sourire et sa disponibilité ont simplement suffi pour me rassurer. Qu'il soit particulièrement remercié pour n'avoir ménagé aucun effort pour assurer, avec son équipe, la gestion et procéder aux analyses des lysimètres installés à Nancy. Je vous serai toujours reconnaissant.*

*Madame Claire CHENU, Professeur à l'INA-PG, m'a apporté un soutien en acceptant de prendre la relève de la direction de cette thèse et d'en être membre du Jury. Je ne saurai vous oublier pour toutes les responsabilités que vous avez prises spontanément et sans réserve pour m'aider à entreprendre certaines démarches administratives lors des deux dernières années académiques. Soyez infiniment remerciée.*

*Au sein de l'Équipe sol de l'INRA, Madame Valérie BERGHEAUD, a participé de manière active à ce travail. Elle m'a apporté l'apprentissage de la plupart des techniques usitées au laboratoire de Science du sol, en général, et au laboratoire de  $^{14}\text{C}$  en particulier. Véritable cheville ouvrière de ce travail, je lui adresse mes sincères remerciements pour la qualité de ses analyses et conseils dans une stricte rigueur que je n'avais pas toujours appréciée à sa juste valeur. Christophe LABAT, en plus de l'amitié m'a apporté la force de son poignet, son intelligence et sa disponibilité lors de la manipulation des colonnes : échantillonnages sur le terrain, fabrication de nouveaux matériels, instrumentation et collecte des mesures. Certaines expériences n'auraient pu être menées à leur terme sans l'aide et l'assistance de ces deux personnes.*

*D'autres personnes qui n'étaient pas directement impliquées dans l'encadrement de la thèse sont intervenues à un moment donné dans ce travail. Je voudrais les citer tout en les remerciant. Ce sont mesdames Valérie POT, Sabine HOUOT et Hélène JEAN-JACQUES, Simone PONCELET et messieurs Hervé AUTRET, Pierre VACHIER, Jean Noël RAMPON, Yves COQUET et Joël MICHELIN.*

*Je remercie également l'ensemble des personnes l'Équipe Sol d'EGC pour leur accueil et les nombreux services qu'ils ont pu me rendre. L'ambiance aimable et amicale du laboratoire a été marquée par le passage des étudiants et des thésards que j'ai eu la chance de côtoyer et de connaître : Ludovic, Caroline, Jérôme, Cédric, Laure, Mohamed et Ariel. Qu'ils trouvent ici le témoignage de leur souvenir que je garderai à jamais.*

*Je dédie ce travail à mon employeur, l'Université des Sciences et Techniques de Masuku de Franceville, au Gabon, qui a accepté de me libérer afin d'effectuer ce travail. J'adresse particulièrement mes remerciements à Messieurs MENDENE M'EKWA, ancien Directeur de l'École polytechnique de Masuku et Ambroise EDOU MINKO, Vice-Recteur, pour leurs interventions et leur sollicitude.*

*À Mon épouse, Gilberte*

*et à nos chers enfants Lothar, Grâce-Coretta, Floride et Déborah,*

*Lysiane et Anthony, pour qui ce travail aurait été un véritable sacrifice...*

*... Et à tous les autres.*



# Résumé

Tous les pesticides forment dans le sol des résidus non extractibles ou "résidus liés" dans des pourcentages variables, en fonction de leur nature chimique et des conditions expérimentales d'incubation. Dans un contexte des applications répétées de pesticides, faut-il s'attendre à une modification de la dynamique propre des résidus non extractibles? Ou à l'accumulation de ces résidus jusqu'à un plateau dont le niveau de concentration serait la résultante de l'équilibre cinétique entre la formation et la remobilisation (dégradation) des résidus non extractibles?

Pour évaluer la formation des résidus non extractibles et de leur remobilisation éventuelle, deux types d'incubations ont été réalisées dans trois sols, avec la  $^{14}\text{C}$ -atrazine et le  $^{14}\text{C}$ -isoproturon en conditions contrôlées de laboratoire, et sous conditions naturelles avec de la  $^{14}\text{C}$ -atrazine à l'aide des lysimètres placés à Grignon et à Nancy. L'évaluation associée à l'évolution des résidus a permis l'acquisition des informations sur les qualités et quantités de résidus formés et sur les cinétiques d'évolution (remobilisation) des résidus non extractibles.

La conséquence la plus significative des applications répétées de deux herbicides est l'induction d'une activité biologique des sols spécialisés dans leur dégradation. Le résultat est une dégradation rapide du pesticide allant jusqu'à sa minéralisation, avec une diminution importante de sa persistance et du nombre d'intermédiaires (métabolites) restant dans le sol. Cette dégradation rapide rentre en compétition avec des phénomènes souvent plus lents, responsables de la formation des résidus non extractibles.

L'approche compartimentale de la modélisation du devenir des pesticides dans les sols a permis d'estimer, d'une part les constantes  $k_{ij}$  des flux de remobilisation des résidus non extractibles, et d'autre part, de classer par importance relative, les flux les plus significatifs entre les trois types de compartiments identifiés, en fonction de l'extraction des résidus et du solvant utilisé. Les résidus non extractibles se forment à partir des résidus extractibles avec le méthanol. Mais une formation des résidus non extractibles à partir des résidus hydrosolubles, à priori les plus disponibles dans les sols, est aussi mise en évidence. Ce point est probablement en relation avec le rôle de la biomasse microbienne du sol qui constitue en soi un compartiment de stockage des résidus de pesticides non extractibles. Mais cette biomasse microbienne est aussi un compartiment de transit et d'activation chimique par la formation des métabolites, intermédiaires souvent plus réactifs que la molécule mère (cas de l'isoproturon).

Les constantes  $k_{ij}$  de remobilisation ainsi estimées sont plus élevées pour l'atrazine que pour l'isoproturon. Ces constantes sont systématiquement plus faibles dans le sol acide (*NB*) que dans les calciques (*GM* et *GB*). Dans les sols calciques, l'induction d'une activité biologique spécifique capable de dégrader rapidement l'atrazine ou l'isoproturon se traduit par une augmentation des constantes de remobilisation de leurs résidus non extractibles, ce qui traduit la capacité des microorganismes ainsi activés de s'attaquer à des résidus à priori peu ou non disponibles. Ces constantes de vitesse de remobilisation peuvent être converties, en première approximation, en valeurs de demi-vie ( $DT_{50}$ ). On montre ainsi que les  $DT_{50}$  des résidus liés peuvent être relativement faibles dans les sols possédant une activité biologique spécifique de dégradation des pesticides. Par contre dans d'autres sols, et surtout pour l'isoproturon, les  $DT_{50}$  des résidus non extractibles sont plus élevées, pouvant dépasser un an. Les valeurs des constantes de remobilisation peuvent être utilisées pour réaliser des estimations de risque de remobilisation. Néanmoins, l'utilisation de ces résultats se trouve confrontée à la difficulté de généralisation des données acquises pour un pesticide pour leur application à d'autres pesticides, et/ou d'autres sols.

# Abstract

All pesticides form non-extractable (bound) residues in soils in variable percentages, according to their chemical nature and to the experimental conditions. In the context of repeated applications of pesticides, is it right to wait for a modification of the formation kinetics of non-extractable residues? Accumulation of these residues would be until a plateau which the kinetics concentration level would be the resultant of the kinetics balance between the formation and the re-mobilization (degradation) of non extractable residues.

To evaluate the formation of non-extractable residues and their possible re-mobilization, incubations have been realized with three soils, under laboratory conditions with  $^{14}\text{C}$ -atrazine and  $^{14}\text{C}$ -isoproturon, and with  $^{14}\text{C}$ -atrazine applied on lysimeters in natural conditions. The residues evaluation provided information on quality and quantity of residues formed and on kinetics evolution of bound residues.

The most significant effect of repeated applications of pesticides is the induction of a biological activity of soils specialized in their degradation. The result is a quick degradation of the pesticide, going until its mineralization, with an important decreasing of its persistence and of the number of intermediates remaining in the soil. This rapid degradation enters into competition with some phenomena often slow, responsible for the formation of non-extractable residues.

The compartment approach to modelling pesticide behaviour in the soils allows to estimate the re-mobilization flow constant  $k_{ij}$ , and to classify the most significant flow between the three compartments identified, according to the residues extraction and the solvent used. Bound residues were mostly formed from extractable residues with methanol. But a formation of bound residues from water-soluble residues, the most disponible in the soil, is also put out. This point is probably in relation with the intervention of the bacterial biomass of the soil which is itself a storage compartment of bound residues. But this bacterial biomass is also a transit compartment and a chemical activation compartment through the metabolites formation, intermediates often most reactive than the active substance (e.g. isoproturon).

The bound residues mobilization constants  $k_{ij}$  such estimated, are higher for atrazine than for isoproturon. These  $k_{ij}$  are systematically more slower in the acid soil than in the basic soil. In the basic soil, the induction of a specific biological activity able to degrade quickly the herbicide atrazine or isoproturon increased the re-mobilization's constants of their bound residues, which shows the ability of the micro-organisms such activated to degrade the residues disponible with low availability. These mobilization flow constants can be used to calculate the half life ( $DT_{50}$ ). The  $DT_{50}$  of non-extractable residues are relatively low in soil having a specific biological activity for the pesticide degradation. In other soils and above all for isoproturon, the  $DT_{50}$  of non-extractable residues are highest, exceeding sometimes one year. The values of mobilization flow constants can be used to realize risk estimations of re-mobilization. Nevertheless, the use of results is being confronted with the difficulty to generalize the data acquired for one pesticide for application to others, and/or in other soils.

**Keywords :** *Atrazine, Isoproturon, Non-extractable residues, Repeated Applications, Compartment modelling,  $DT_{50}$*



# Table des matières

<b>I</b>	<b>Introduction générale</b>	<b>17</b>
<b>1</b>	<b>Formation des résidus liés : état des connaissances</b>	<b>23</b>
A	Introduction . . . . .	23
B	Définitions . . . . .	24
C	Interactions sols - pesticides . . . . .	26
D	Liaisons mises en jeu . . . . .	27
E	Nature des résidus liés . . . . .	30
F	Localisation des résidus liés . . . . .	31
G	Libération des résidus liés . . . . .	33
<b>2</b>	<b>Matériels et Méthodes</b>	<b>37</b>
A	Sols et Pesticides . . . . .	37
B	Incubations en conditions contrôlées . . . . .	39
C	Expérimentations en conditions naturelles . . . . .	41
C1	Types de colonnes . . . . .	42
C2	Paramètres climatiques . . . . .	44
C3	Prélèvement des lysimètres . . . . .	46
D	Analyses . . . . .	46
D1	Résidus minéralisés . . . . .	46

D2	Extractions des résidus . . . . .	47
D3	Chromatographie CLHP . . . . .	47
D4	Quantification des résidus liés . . . . .	49
D5	$^{14}C$ incorporé dans la biomasse microbienne . . . . .	49
E	Traitement des données . . . . .	50
<b>3</b>	<b>Applications répétées en conditions contrôlées</b>	<b>51</b>
A	Introduction . . . . .	51
B	Extractibilité des pesticides . . . . .	53
B1	Résidus hydrosolubles . . . . .	53
B2	Résidus extraits au méthanol . . . . .	55
B3	Nature chimique des résidus . . . . .	57
C	Cinétiques de minéralisation . . . . .	66
C1	Minéralisation après une application . . . . .	67
C2	Minéralisation lors des applications répétées . . . . .	68
C3	Évolution des vitesses de minéralisation . . . . .	70
D	Formation des résidus non extractibles . . . . .	72
D1	Évolution des résidus non extractibles . . . . .	72
E	Paramètres cinétiques . . . . .	77
E1	Matériel et méthodes de modélisation . . . . .	78
E2	Résultats de la modélisation . . . . .	82
F	Discussion . . . . .	91
F1	Résidus extractibles . . . . .	91
F2	Minéralisation des pesticides . . . . .	96
F3	Évolution des résidus non extractibles . . . . .	100

<i>TABLE DES MATIÈRES</i>	15
G Conclusion . . . . .	104
<b>4 Dispositifs lysimétriques</b>	<b>107</b>
A Introduction . . . . .	107
B Fonctionnement des lysimètres . . . . .	109
B1 Température . . . . .	109
B2 Teneur et potentiel de l'eau . . . . .	111
B3 Fonctionnement hydrique des colonnes . . . . .	111
C Percolation des résidus . . . . .	112
D Évolution du $^{14}C$ total . . . . .	114
D1 <i>Résidus totaux dans les couches des lysimètres</i> . . . . .	114
D2 Distribution des résidus extractibles . . . . .	121
D3 $^{14}C$ extractible au cours d'applications répétées . . . . .	124
D4 Nature chimique des résidus . . . . .	125
D5 Évolution des résidus non extractibles en fonction de la profondeur . . . . .	130
D6 $^{14}C$ incorporée dans la biomasse microbienne . . . . .	134
D7 Modélisation de l'évolution des pesticides dans les lysimètres . . . . .	136
D8 Discussion . . . . .	143
E Conclusions . . . . .	146
<b>5 Analyse compartimentale</b>	<b>149</b>
A Introduction . . . . .	149
B Matériels et méthodes . . . . .	153
B1 Démarches expérimentales . . . . .	154
C Résultats et discussion . . . . .	156
C1 Dynamique du $^{14}C$ lors d'applications répétées en conditions contrôlées . . . . .	156

C2	Dynamique de l'atrazine et de l'isoproturon dans le sol GM . . . . .	159
C3	Dynamique de l'atrazine et de l'isoproturon dans le sol GB . . . . .	164
C4	Dynamique de l'atrazine et de l'isoproturon dans le sol NB . . . . .	168
C5	Dynamique de <sup>14</sup> C-atrazine en conditions de plein champ . . . . .	176
C6	Discussion . . . . .	188
D	Conclusions . . . . .	191
<b>II</b>	<b>Conclusions générales</b>	<b>193</b>
<b>III</b>	<b>Références bibliographiques</b>	<b>199</b>
<b>A</b>	<b>Annexes</b>	<b>217</b>

Première partie

Introduction générale



## Introduction générale

Les premières armes pour lutter contre les ravageurs et essayer d'améliorer la qualité des plantes font état de l'utilisation des prières, d'aspersion d'eau bénite voire de sorcellerie jusqu'au début du 19<sup>e</sup> siècle. Par la suite, d'autres procédés plus efficaces apparaissent. Ils mettent en pratique des méthodes de traitement des plantes à partir de la nicotine ou de composés arsenicaux pour empoisonner les insectes. En même temps, on découvre les vertus des solutions cupriques et de soufre pour combattre les maladies cryptogamiques. Toutefois, les notions de pesticides sont acquises à la fin du 19<sup>e</sup> siècle, mais le désherbage continue à être pratiqué manuellement et mécaniquement jusqu'au début du 20<sup>e</sup> siècle.

C'est à la faveur de la seconde guerre mondiale que les premières molécules organiques de synthèse voient le jour. Les propriétés insecticides de certains composés issus des gaz de combat tels que les organo-chlorés et les organo-phosphorés sont découvertes par dizaines, en même temps que de nombreux fongicides et herbicides. Ce sera le début de la phytopharmacie, une des bases de l'agronomie moderne. La forte croissance démographique observée après la guerre et les besoins alimentaires, en constante progression qu'elle a entraîné, sont à l'origine de l'intensification de la production agricole. Ainsi, compte tenu de leurs effets sur les rendements agricoles, l'application des *molécules miracles* que sont devenus les produits phytosanitaires devient nécessaire et incontournable. "On utilise largement les pesticides... trop largement peut-être" (Lhoste et Grison, 1989). L'usage des pesticides est maintenant tellement répandu dans notre société qu'on a tendance à oublier que ces produits sont d'abord fabriqués pour détruire et contrôler des organismes vivants jugés indésirables ou nuisibles, qu'il s'agisse de plantes, d'insectes ou de rongeurs. Le sol se retrouve ainsi être, tôt ou tard, le réceptacle de la plupart des pesticides utilisés en agriculture. Toutefois, l'utilisation réglementée, mais néanmoins massive des pesticides (76100 t en 2004 sur le sol français, dont 57300 t de produits organiques de synthèse, UIPP, 2004) pour le contrôle phytosanitaire des cultures pose des problèmes environnementaux liés à leur présence. L'environnement immédiat du milieu ciblé peut aussi être contaminé par ces substances toxiques, soit l'eau, l'air et le sol. La plupart des pesticides sont peu sélectifs et peuvent avoir des effets nocifs sur les organismes non visés, y compris l'être humain. C'est pourquoi de nombreux pays ont légiféré afin de contrôler l'utilisation et la vente de ces produits.

Quelque soit le mode d'utilisation (foliaire ou par traitement des sols), le pesticide, produit phytosanitaire de synthèse peut, lorsqu'il est appliqué en traitement de sol, subir un ensemble de phénomènes de rétention et de dégradation, responsables des modifications dans sa spéciation initiale et de son devenir dans le sol à plus ou moins long terme (fig. 1).

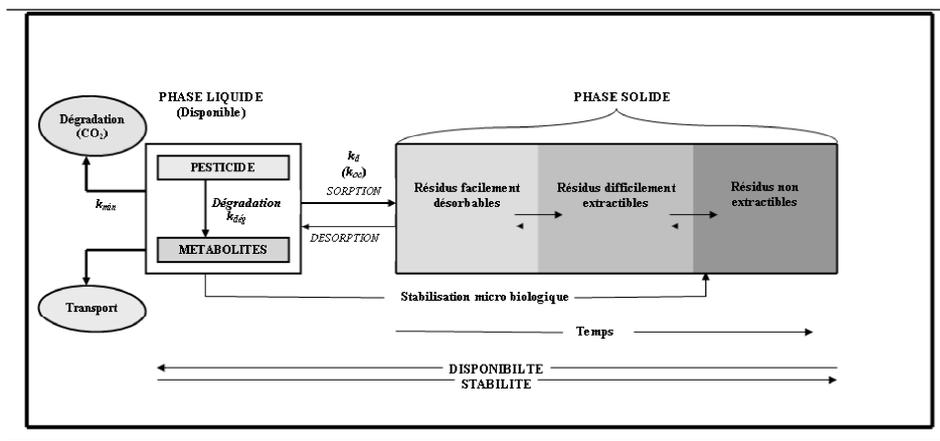


FIG. 1 – Devenir des pesticides dans les sols (d'après Barriuso, 1994)

En effet dès leur arrivée dans le sol, les pesticides sont soumis à différents processus impliqués dans leur dissipation. La formation des résidus non (facilement) extractibles ou "résidus liés" constitue une composante majeure de la dissipation apparente des pesticides dans les sols. Les résidus non extractibles constituent un état particulier des résidus de pesticides, caractérisé par leur non extractibilité. On retrouve cette terminologie dans le domaine des sols, mais on parle aussi de résidus non extractibles dans les plantes et les animaux, non seulement pour les pesticides, mais aussi pour d'autres composés organiques comme, par exemple, les médicaments ou les produits vétérinaires. Les premiers travaux où ce terme est utilisé datent de la fin des années 1960. Ils traitent de "résidus liés" dans les plantes. Les premières publications concernant les résidus non extractibles apparaissent au début des années 1970 (Lichtenstein *et al.*, 1977; Khan, 1982a). Ce sont Schiavon *et al.* (1977) qui réalisent les premiers travaux dans le domaine en France, et qui en introduisent le concept et la terminologie.

Au-delà de la définition conceptuelle des résidus non extractibles, il faut s'attarder à la définition opérationnelle, dépendant des techniques permettant d'identifier et de quantifier les résidus non extractibles. Pour cela, on est obligé de travailler avec des techniques radioisotopiques, permettant de quantifier les résidus non extractibles sur lesquels les méthodes classiques de chimie analytique ne sont pas utilisables, la plupart nécessitant le passage préalable des résidus sous une

forme soluble. Classiquement, les résidus non extractibles sont mis en évidence lors d'expériences d'incubation de sols traités avec des pesticides marqués avec du  $^{14}C$  (Bertin et Schiavon, 1989). Après incubation, les sols sont soumis à l'extraction exhaustive des résidus, souvent à l'aide de solvants organiques. La radioactivité restant dans le culot d'extraction est mesurée à l'aide de techniques de combustion, et correspond aux résidus non facilement extractibles ou "résidus liés". Il serait donc plus approprié de parler de radioactivité non extractible. Ces résidus non extractibles correspondent à un défaut de bilan lors de l'utilisation des techniques analytiques classiques, comme la chromatographie, et ils ne sont mesurables que si un marqueur (le  $^{14}C$ ) est utilisé.

La formation des résidus non extractibles peut être interpréter comme un processus de dissipation, car le pesticide initial n'est plus extractible. Mais ces résidus peuvent aussi être considérés comme le résultat d'un processus de stabilisation, car une partie du pesticide appliqué reste toujours présente dans le sol, bien que l'on ne sache pas sous quelle forme.

Dans ce contexte général, la recherche effectuée dans cette thèse vise l'obtention des réponses aux points suivants :

1. La dissipation des pesticides, constatée au niveau d'une parcelle, correspond-elle à une dégradation complète sous forme de  $CO_2$  ou à une stabilisation sous forme de résidus non extractibles ?
2. La formation des résidus liés est-elle un processus de dissipation réelle ou apparente ?
3. Les résidus non extractibles peuvent-ils être libérés (ou remobilisé) ? Si oui, pouvons-nous caractériser les flux de pesticides impliqués ?
4. Existe-t-il un risque d'accumulation de ce type de résidus ? Si tel est le cas, quand et à quelle vitesse un "équilibre" de concentration est-il atteint ? Et quelles signification et conséquences peut-on attendre des niveaux de concentration estimés ?

Notre travail est centré sur l'étude des résidus non extractibles. Il a pour objectifs l'obtention des informations cinétiques sur leur formation et sur leur dissipation, pour prévoir leur devenir à long terme. Avec l'hypothèse que les résidus non extractibles sont le résultat d'un processus de stabilisation des pesticides ou de leurs produits de dégradation, il s'agit d'évaluer les risques d'accumulation de ce type de résidus, ainsi que les risques de leur libération plus ou moins

différée. Ce travail repose sur la mise en place d'une série de dispositifs expérimentaux couplés : microcosmes et lysimètres (Führ, 1985 ; Fermanich *et al.*, 1991 ; Fermanich et Daniel, 1991 ; Leake, 1991 ; Kördel *et al.*, 1991 ; Krüger *et al.*, 1993 ; Dousset *et al.*, 1994 ; Printz *et al.*, 1995). Sur ces dispositifs, des applications répétées des pesticides permettront : *i* de balayer des comportements différents des pesticides en fonction des types de sol ; *ii* de simuler des applications répétées de pesticides et leur devenir, en mesurant les proportions successives de pesticides extractibles et non extractibles, et *iii* d'extrapoler les résultats obtenus en conditions contrôlées à des conditions de plein champ. L'ensemble des données sera utilisé pour la construction d'un modèle numérique de simulation du devenir des pesticides, avec prise en compte du phénomène de stabilisation. En outre, le modèle élaboré devra permettre l'évaluation du risque d'accumulation et de libération éventuelle des résidus non extractibles.

L'étude porte sur deux herbicides et trois sols. L'atrazine est utilisée comme pesticide modèle de référence et l'isoproturon est étudié à titre comparatif, avec l'intérêt supplémentaire de présenter des voies de stabilisation supposées différentes de celles de l'atrazine. Les sols proviennent de deux sites : deux sols calciques sont en monoculture de maïs et de blé depuis plus de trente années à Grignon (78) ; et l'autre sol provient d'un site expérimental à la Bouzule (54) ; il s'agit d'un sol acide sous une jachère. Les compartiments du sol utilisés dans la modélisation sont approchés expérimentalement à l'aide de méthodes d'extraction et de fractionnement systématisées et simplifiées, permettant, par ailleurs, l'obtention des résultats répétitifs dans le temps.

# Chapitre 1

## État des connaissances sur la formations des résidus non extractibles dans les sols

### A Introduction

Le sol est le réceptacle des produits utilisés au cours des activités agricoles. Lorsque les pesticides arrivent au sol, ils y subissent une série de phénomènes, conséquence de leur rétention et de leur dégradation. Ces phénomènes sont évolutifs avec le temps et semblent entraîner la dissipation des pesticides qui, peu à peu, deviennent chimiquement non identifiables dans le sol. En réalité une partie de cette dissipation traduit la stabilisation des pesticides dans les sols (Benoit *et al.*, 1999a).

En effet, la première étape régissant le devenir d'un pesticide après son arrivée dans le sol est sa rétention sur les constituants du sol. Cette rétention est initialement due à l'adsorption, un phénomène réversible. Mais les interactions mises en jeu peuvent évoluer dans le temps vers des interactions moins réversibles, les molécules de pesticides, initialement désorbables, voient leur extractibilité diminuer. Cette évolution culmine avec la formation des résidus non extractibles ou

"résidus liés" (Bailey et White, 1964; Bertin et Schiavon, 1989; Calderbank, 1989). Cette stabilisation est souvent considérée comme un mécanisme de dissipation contribuant à l'élimination des pesticides et de leurs résidus, ou à la détoxification du sol pollué (Dec *et al.*, 1997a). Le sol apparaît alors comme un système épurateur et/ou un lieu de stockage des résidus de pesticides.

Beaucoup d'informations sont disponibles sur la plupart des processus responsables de la formation des résidus non extractibles, mais très peu traitent ceux liés aux cinétiques de formation des résidus non extractibles de pesticides (Ambrosini *et al.*, 1977; Lichteinstein, 1977; Viswanathan *et al.*, 1978; Klein et Scheunert, 1982). Dans ce chapitre, nous nous intéressons à l'état des connaissances relatif aux phénomènes de diminution de la disponibilité des pesticides et leur stabilisation sous des formes non facilement extractibles; l'expression résidus non extractibles englobant les résidus des produits véritablement liés aux constituants du sol (Marthur et Morley, 1978; Khan, 1982a; Bertin, 1989; Bollag, 1991; Bollag *et al.*, 1992; Burgos *et al.*, 1996; Scheunert et Schröder, 1998; Gevao *et al.*, 2000; Loiseau, 2001), et ceux, également non extractibles, simplement retenus par d'autres mécanismes que les techniques d'extraction communément employées ne permettent pas de mettre en solution (Bertin et Schiavon, 1989).

## B Définitions

Les pesticides sont des molécules organiques de synthèse utilisées pour la protection des cultures. Lorsqu'ils sont appliqués en traitement des sols, ils forment avec ses constituants des liaisons conduisant à la formation des résidus non extractibles et non facilement identifiables, aussi appelés "résidus liés" (Smith *et al.*, 1973; Hsu et Bartha, 1976, 1982; Khan, 1982a; Bollag *et al.*, 1983; Saxena et Bartha, 1983a; Bertin et Schiavon, 1989).

Les termes "résidus libres" et résidus non extractibles ("résidu liés") de pesticides font référence à l'extraction des résidus dans le sol par des solvants qui n'altèrent pas la structure chimique du pesticide ou de ses dérivés ou métabolites. La distinction entre ces deux formes n'est pas claire en ce sens que les "résidus libres" ou extractibles ne sont pas entièrement libres lorsqu'ils se trouvent dans le sol, ils sont liés au sol par des liaisons de faibles énergie. En revanche, une partie de la fraction extractible est emprisonnée dans la phase solide du sol, en même

temps que la biodisponibilité et la dégradation sont réduites (Alexander, 1994). L'extractant et les conditions expérimentales sont déterminants pour préciser la nature liée ou non d'un résidu. Selon Alexander (1995), en augmentant la durée et l'intensité des extractions, on arrive à extraire des quantités plus importantes de résidus qu'on considèrerait initialement non extractibles. D'autres types d'extractions de résidus de pesticides telles que l'extraction par fluide super critique (Khan, 1982b; Worobey et Webster, 1982; You et Bartha, 1982; Capriel *et al.*, 1986; Robertson et Lester, 1994; Koskinen *et al.*, 1995); les techniques de distillation à haute température (Khan et Hamilton, 1980), l'extraction par micro-ondes (Nicollier et Donzel, 1994) donnent des résultats souvent différents entre eux et différents de ceux obtenus par les procédures conventionnelles d'extraction au Soxhlet.

La première définition des résidus non extractibles est proposée par l'USEPA en 1975 : "Les résidus liés sont des résidus de pesticides non extractibles par des solvants organiques, non identifiables chimiquement et qui restent, après extraction exhaustive, au sein des fractions acides humiques, acides fulviques et humines". La définition des résidus non extractibles proposée par Roberts *al.* (1984), adoptée par l'IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) et généralement acceptée dans la littérature est la suivante ; "les résidus non extractibles dans les plantes et les sols sont des espèces chimiques ayant pour origine les bonnes pratiques agricoles et qui sont non extractibles par des méthodes qui ne changent pas significativement la nature chimique de ces résidus. Les fragments recyclés par voies métaboliques conduisant à des produits naturels sont exclus de cette signification". Depuis, d'autres définitions ou prises de position apparaissent périodiquement dans la littérature. Ainsi, pour Calderbank (1989), "Les résidus liés sont des résidus d'un pesticide intact ou des produits de dégradation dérivés de la molécule mère qui sont dès lors incapables d'exercer leur activité biologique originelle et/ou ne peuvent plus être extraits du sol par des méthodes qui ne dégradent pas le composé à moins que de telles méthodes soient capables de détruire la structure du sol sans affecter le composé". Cette dernière définition introduit la notion d'activité biologique des résidus, ce qui est très controversé dans la littérature, de même que la notion de modification de la matrice, bien que d'autres scientifiques considèrent que la méthode d'extraction ne doit pas changer substantiellement les composés eux-mêmes ou la structure de la matrice (Führ *et al.*, 1996).

La réversibilité partielle des processus par lesquels les pesticides se lient aux constituants du sol est une indication de l'existence de mécanismes et de sites de liaisons variés. Il y a lieu de penser que plusieurs mécanismes pourraient être responsables des liaisons entre les molécules de pesticides et les constituants du sol (Calderbank, 1989). En fonction de la nature des liaisons et des conditions environnementales, les composés retenus peuvent être relargués dans la solution de sol ou être minéralisés (Khan, 1982b; Dec et Bollag, 1988).

L'impact des résidus non extractibles sur l'environnement ne dépend pas moins de leur non extractibilité en conditions de laboratoire que de leur biodisponibilité (Khan, 1982a; Calderbank, 1989). Khan (1982a) a fait une distinction entre la biodisponibilité et la fraction non disponible des résidus non extractibles. La fraction biodisponible des résidus non extractibles correspond aux résidus non extractibles qui peuvent passer dans les plantes et/ou dans les organismes géophages; ce qui n'est pas le cas de la fraction non disponible, très fortement liée aux constituants du sol.

## C Interactions sols - pesticides

Il existe un grand nombre de pesticides appartenant chacun à une classe de composés, les propriétés physico-chimiques de chaque substance conditionnant son comportement dans le sol et son activité biologique. Les pesticides peuvent être classés selon plusieurs considérations, en fonction des cibles visées, de la structure chimique de la molécule, ou des propriétés de toxicité. La figure 1.1 représente une classification des pesticides selon leurs propriétés chimiques et leur comportement dans l'eau.

Le sol se comporte comme un compartiment clef régulant la dynamique globale des pesticides. Le comportement des pesticides dans le sol (fig. 1) conditionne leur impact sur les autres compartiments de l'environnement. L'adsorption (Benoit *et al.*, 1996) est probablement le plus important mode d'interaction entre le sol et les pesticides; elle contrôle la concentration de ces derniers dans la phase liquide du sol. Les phénomènes d'adsorption peuvent passer d'une réversibilité complète à une irréversibilité totale, leur importance dépendant des constituants du sol (Liu *et al.*, 1971; Schiavon, 1977; Helling et Krivonak, 1978; Khan 1982a; Barriuso et Calvet, 1992; Benoit *et al.*, 1996) et des propriétés des pesticides (Bailey et White, 1970; Senesi, 1992;

Pignatello et Xing, 1996) ou des conditions du milieu (Clay *et al.*, 1988 ; McGlamery et Slife, 1996). L'adsorption peut impliquer des facteurs physiques ou de nature chimique. Les réactions chimiques des pesticides ou de leurs métabolites conduisent à la formation des composés stables, provoquant d'une part, la persistance des résidus de pesticides dans les sols et d'autre part, la perte de l'identité chimique de la molécule mère (Berry et Boyd, 1985 ; Calderbank, 1989 ; Bollag, 1992 ; Dec et Bollag, 1997). Par ailleurs, les interactions des produits xénobiotiques avec les constituants du sol peuvent entraîner la baisse de la biodisponibilité ; la réduction de la toxicité du produit et l'immobilisation du composé par les constituants du sol, réduisant ainsi son infiltration et son transport à travers le sol (Berry et Boyd, 1985 ; Calderbank, 1989 ; Bollag, 1992 ; Dec et Bollag, 1997).

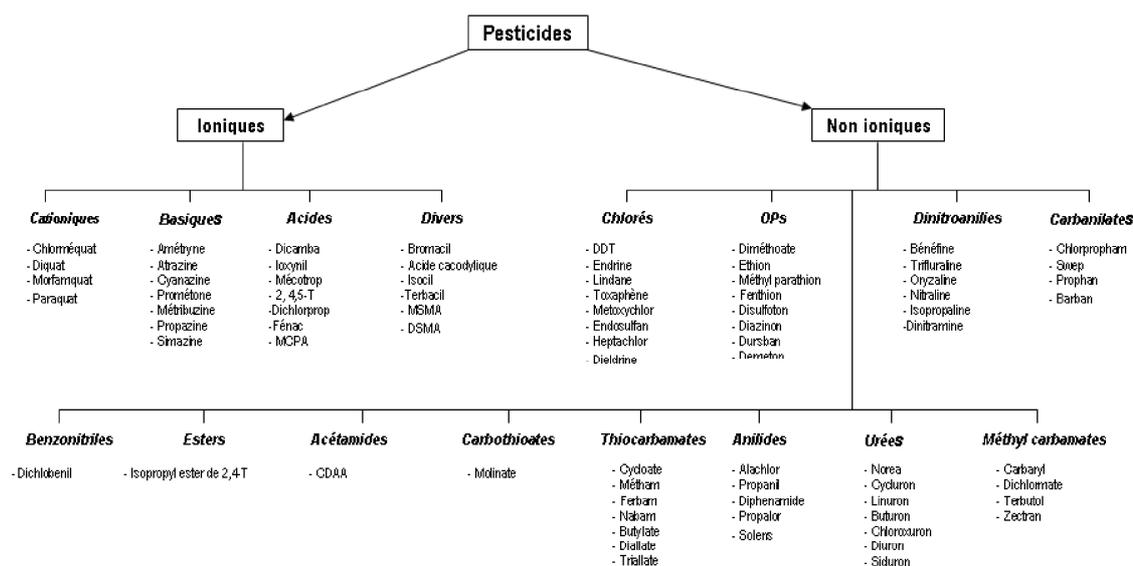


FIG. 1.1 – Classification des pesticides (d'après Gevaio, 2000)  
ine

## D Liaisons mises en jeu au cours de la stabilisation des pesticides

D'une manière générale, les molécules de pesticides forment des liaisons principalement avec les constituants organiques du sol (Ambrosini *et al.*, 1977 ; Guth, 1996 ; Kopinke *et al.*, 1996 ; Wais, 1996) sans exclure la formation de quelques liaisons irréversibles avec la fraction minérale (Helling et Krivonak, 1978a). Parmi les liaisons mises en jeu pour la formation des résidus non extractibles, Hayes *et al.* (1968) ; Hsu et Bertha (1976) et Wais *et al.* (1996) parlent de liaisons

covalentes à cause de la résistance constatée de ces résidus aux extractants organiques et aux échanges d'ions, mais ils demeurent sensibles aux acides (Schiavon et Soulas, 1983). La formation des liaisons covalentes entre les pesticides et/ou leurs métabolites et les substances humiques est souvent la conséquence d'une catalyse chimique, photochimique ou enzymatique, entraînant la formation des composés stables, incorporés dans le sol de manière irréversible (Gevao *et al.*, 2000). Selon Bollag et Myers (1992) ; Bollag *et al.* (1992) et Senesi (1992), les pesticides qui sont susceptibles d'établir des liaisons covalentes avec les matières organiques des sols sont ceux dont les molécules possèdent des fonctions chimiques similaires à celles des substances humiques.

L'incorporation des pesticides dans la matière organique des sols a été également mise en évidence. Wolf et Martin (1976) ont constaté que le  $^{14}\text{C}$ -2,4-dichlorophenol et le  $^{14}\text{C}$ -chlorpropham étaient adsorbés dans les polymères humiques des sols. De même, Mathur et Morley (1978) ont démontré l'incorporation de methoxychlor, un insecticide, dans les acides humiques. D'autre part, après traitement d'un sol contenant les résidus non extractibles avec de la soude ; Smith *et al.* (1973) avancent l'hypothèse selon laquelle les résidus non extractibles seraient liés aux constituants du sol non par des liaisons covalentes, mais y seraient fortement adsorbés (Khan, 1982b ; Kopinke *et al.*, 1996).

Les pesticides non polaires et hydrophobes peuvent être séquestrés par la matière organique des sols lorsque la durée de contact sol-pesticide augmente. La séquestration des pesticides et de leurs résidus dans les sols peut impliquer les mêmes mécanismes que pour l'adsorption par la matière organique, mais c'est un phénomène observé relativement à long terme, contrairement aux phénomènes d'adsorption qui peuvent se produire quelques minutes après l'application du pesticide dans les sols. Pignatello et Xing (1996), dans leur revue des mécanismes de sorption, décrivent la séquestration comme une adsorption lente. Pour Huang *et al.* (1996) et Pignatello et Xing (1996), l'adsorption et la séquestration peuvent être considérées comme un même processus, initialement rapide mais devenant de plus en plus lent avec le temps. Les résidus séquestrés se trouveraient dans des macro sites de la matrice des sols, ce qui les rend inaccessibles (Alexander, 1995). Schiavon *et al.* (1977) proposent le piégeage de molécules s-triaziniques au cours de la polycondensation des substances humiques que Bertin (1989) trouve secondaire. La nature des sites de séquestration n'est pas clairement définie. Pour Schiavon *et al.* (1977) et Khan (1982b), les résidus non extractibles seraient emprisonnés au sein d'un réseau tridimensionnel des ma-

cromolécules humiques, ou pourraient être retenus à l'intérieur des lacunes observées dans la structure des polymères humiques (Khan, 1982b; Kopinke *et al.*, 1996). Pour Xing et Pignatello (1997), les lacunes de séquestration pourraient être des vides de quelques nanomètres, des cavités ou des pores dans les structures de la matière organique condensée. Il pourrait aussi s'agir de minuscules amas polyaromatiques à l'intérieur des substances humiques.

Senesi et Testini (1982), et Bertin *et al.* (1988) parlent de liaisons par transfert de charges, alors que Bertin (1989) avance l'idée des liaisons hydrogène stabilisées par un système d'hétérocycles. D'autres types liaisons ont été mises en évidence dans la formation des résidus non extractibles. Les liaisons ioniques nécessitent la présence des groupes carboxyliques et hydroxycarboxyliques ionisés ou facilement ionisables des substances humiques. L'existence des liaisons ioniques fortes et stables a été démontrée par différents auteurs (Burns *et al.*, 1973; Khan, 1973a; Khan, 1973b; Senesi, 1993) lors de l'étude du paraquat et du diquat. Pour Weber *et al.* (1969) et Senesi *et al.* (1986), le pH du milieu contrôle le degré d'ionisation des groupements acides des substances humiques, de telle sorte que la formation des liaisons ioniques qui s'établissent entre les pesticides basiques et les substances acides dépendent du pH du milieu. La liaison ionique par les accepteurs de proton a été démontrée dans les études sur les s-triazines. Weber et Weed (1969) et Weber *et al.* (1969) ont observé que pour des valeurs de pH équivalente au  $pK_a$ , l'adsorption de la substance active est maximale. Les liaisons ioniques ont également été décrites par Senesi (1993) et Weber (1972) dans l'étude du phosphone et du phenacridane. Ces auteurs ont avancé que les résidus non extractibles étaient incomplètement liés avec la matière organique à cause des effets stériques dus à ce type de liaisons. Les liaisons par échanges de ligands se forment par le fait que les ions métalliques complexés avec les acides humiques sont généralement associés avec les molécules d'eau qui sont substituées par des molécules de pesticides, elles même associées à un ou plusieurs ions métalliques. Le phénomène a été décrit pour les s-triazines (Senesi, 1992) et les pesticides anioniques (Nearpass, 1976).

Les liaisons dues aux forces de van der Waals sont des forces intermoléculaires faibles, considérées aussi comme forces de London ou forces de dispersion, forces de Debye ou forces dipôle - dipôle, en fonction de leur origine. Les liaisons de van der Waals, considérées comme liaisons dipôle - dipôle, sont surtout observées entre les pesticides non ioniques ou non polaires et les substances humiques (Senesi, 1992). Elles s'établissent avec une grande partie des bipyridyliums

(Burns *et al.*, 1973) comme le parathion (Lenheer et Aldrichs, 1971), l'alachlor (Senesi *et al.*, 1986), le DDT (Pierce *et al.*, 1971), le piroclam et le 2,4-D (Khan, 1973b; Kozak, 1983).

Les interactions hydrophobes sont des interactions entre les groupes hydrophobes des substances humiques et les pesticides non polaires. Les composés qui interagissent sont les chaînes aliphatiques, les graisses ou les composés ligninolétiques des substances humiques (Senesi, 1993). Les interactions hydrophobes ont été observées sur le DDT et d'autres insecticides organo-chlorés (Pierce *et al.*, 1971; Khan, 1973c), le parathion (Lenheer et Aldrichs, 1971). Ces interactions ont une importance mineure sur les s-triazines (Walker et Crowford, 1968) et les phényl-urées (Khan et Mazurkevich, 1974).

Tous ces mécanismes ne se déroulent pas simultanément. Néanmoins en fonction de la nature des groupes fonctionnels de la substance active et de l'acidité du milieu, plusieurs de ces mécanismes peuvent avoir lieu en même temps (Gevao *et al.*, 2000). Par ailleurs, une forte adsorption des pesticides ou de leur résidus ne suppose pas la formation des résidus non extractibles.

## E Nature des résidus non extractibles

La nature des résidus non extractibles des pesticides n'est pas souvent bien connue même si quelques avancées ont été obtenues (Kaufman *et al.*, 1976; Guth, 1996; Wais, 1996; Dec *et al.*, 1997b; Loiseau2001). Des résidus non extractibles d'atrazine ont pu être identifiés comme la molécule mère, ses métabolites mono-déalkylés, chlorés ou non (Khan et Ivarson, 1981) et de l'hydroxyatrazine (Capriel *et al.*, 1985; Khan et Kacew, 1986; Khan et Behki, 1990; Loiseau *et al.*, 2000). D'un point de vue purement chimique, l'IUPAC considère que les fragments de molécules de pesticides recyclées par voies métaboliques et conduisant à des produits naturels ne doivent pas être considérés comme des résidus non extractibles. Dans ces conditions, l'évaluation de la radioactivité non extractible ne rend pas compte de l'importance réelle de ces résidus. Il est donc nécessaire d'identifier la part de cette radioactivité revenant à la molécule mère et/ou à ses métabolites (Bertin et Schiavon, 1989).

Cependant, il est démontré dans plusieurs études que la molécule mère et ses métabolites représentent une partie de la radioactivité non extractible (Golab *et al.*, 1975; Helling et Krivonak, 1978a). Khan et Hamilton (1980) indiquent que pour un sol traité à la prométryne et après deux mois d'incubation, la molécule mère et ses métabolites déalkylés représentent 54% de la radioactivité non extractible. L'atrazine et tous ses métabolites chlorés et hydroxylés peuvent contracter des liaisons irréversibles avec le sol, mais le phénomène serait moins important avec l'hydroxyatrazine (Schiavon, 1988). Neuf ans après l'application au sol, Capriel *et al.* (1985) ont montré que l'atrazine et ses dérivés hydroxylés sont les composés dominants au sein de la fraction non extractible.

Il y a une relation entre la structure moléculaire du pesticide et les possibilités de formation des résidus non extractibles. Les taux de résidus non extractibles formés après l'application d'une série de chlorobenzènes dans des conditions proches de celles de plein champ sont corrélés négativement avec le nombre d'atomes de chlore présents dans la molécule de pesticide (Scheunert *et al.*, 1985). Il y a aussi une relation entre la formation des résidus non extractibles et les applications répétées de pesticides, en ce sens que la quantité de résidus non extractibles augmenterait dans le sol avec le nombre d'applications de pesticide (Mittelstaedt et Führ, 1996).

Ainsi, certains pesticides se lient aux constituants du sol sans aucune transformation préalable, alors que d'autres doivent subir une dégradation qui les conduit à une forme plus réactive. À partir du parathion, la formation des résidus non extractibles serait conditionnée par sa dégradation biologique (Katan, 1976 ; Katan et Lichtenstein, 1977). Pour Venkateswarlu et Sethumathan (1979), il y aurait une augmentation significative du taux de formation des résidus non extractibles dans des conditions favorables à l'hydrolyse du carbofuran en carbofuran-phénol.

## F Localisation des résidus non extractibles

Différentes hypothèses sont avancées sur la nature des liaisons sols - pesticides, sur la stabilité de ces liaisons et sur le rôle joué par différentes fractions humiques dans la formation des "résidus liés" (Barriuso *et al.*, 1994 ; Guth, 1996 ; Kopinke *et al.*, 1996). Différentes distributions des résidus non extractibles dans les fractions du sol ont été proposées (Katan, 1976 ; Lichtenstein *et al.*,

1977; Helling et Krivonak, 1978a; Khan, 1982b; Capriel *et al.*, 1985; Kopinke *et al.*, 1996; Guth, 1996; Reuter et Scheunert, 1996; Wais *et al.*, 1996; Xie *et al.*, 1997; Barriuso *et al.*, 2000; Loiseau, 2001).

L'utilisation des méthodes classiques d'extraction et de fractionnement de la matière organique permet à Helling et Krivonak (1978b) de préciser que la majeure partie (50 à 60%) des résidus non extractibles issus de la dinitroaniline est associée aux fractions acides fulviques, sauf en conditions anaérobies où l'humine et les acides humiques constituent les fractions les plus riches (46 et 40% respectivement). Lors de l'étude de la dégradation du fenitrothion, Spillner *et al.* (1979) proposent que la majeure partie des résidus non extractibles se trouve localisée dans les acides humiques, puis dans l'humine et enfin dans les acides fulviques. Pour Khan (1982b), la distribution des résidus non extractibles, après une année d'observation d'un sol traité à la prométryne, est décroissante des fractions humines, aux acides humiques et aux acides fulviques. Pour Schiavon *et al.* (1977), c'est dans les acides fulviques que se forme la plus grande partie de résidus non extractibles d'atrazine, et pour Capriel *et al.* (1985), c'est dans l'humine. Toutefois, l'atrazine et ses dérivés mono-alkylés se fixent préférentiellement sur les acides fulviques, alors que la déalkyl-atrazine se fixe, elle, sur les acides humiques et dans les fractions minérales (Capriel *et al.*, 1985). En fractionnant quatre sols contenant des résidus non extractibles de la  $^{14}C$ -atrazine, Loiseau (2001) a montré que la majorité des résidus non extractibles se trouvait dans la fraction granulométrique inférieure à 20  $\mu m$ .

Le pouvoir d'une fraction de matière organique d'un sol à former des résidus non extractibles avec un pesticide varie au cours du temps (Schiavon et Soulas, 1983; Barriuso et Houot, 1996; Barriuso et Koskinen, 1996), et dépend du produit considéré (Andreux *et al.*, 1992). Quant à la durée de vie supposée des résidus non extractibles, les études de Capriel *et al.* (1985) indiquent une pérennité des résidus non extractibles sur une décennie. D'autre part, Khan et Saidak (1981) ont étudié un champ de maïs où l'atrazine a été appliquée pendant vingt ans à des doses de 1,40 à 2,24  $kg.ha^{-1}$ . L'analyse des échantillons de sol prélevés six et douze mois après l'arrêt de la dernière application a révélé la présence de résidus du produit et de ses dérivés hydroxymonoalkylés. De même, les pousses et les racines des plantes d'avoine cultivées dans le même champ contenaient de l'hydroxyatrazine et l'un de ses dérivés monodéalkylés, sous la forme conjuguée. Ces résultats suggèrent que les applications répétées d'atrazine conduisent à la

persistance dans le sol de certains de ses produits de dégradation, principalement des analogues hydroxylés (Mittelstaedt et Führ, 1996).

## G - Libération des résidus non extractibles

L'existence d'une possibilité de libération des résidus non extractibles constitue une préoccupation essentielle, tant du point de vue agronomique qu'environnementale. Les résidus non extractibles pourraient être libérés par des mécanismes physico-chimiques ou à travers des processus biochimiques. Il semble que l'activité des microorganismes soit le premier facteur responsable de la libération des résidus non extractibles. D'autres facteurs, tels que les changements dans les pratiques agricoles et l'introduction de substances chimiques qui modifient la structure des sols, peuvent aussi conduire à la libération des résidus non extractibles, soit directement, soit par absorption par les plantes.

La libération des résidus non extractibles semble dépendre de processus différents suivant la molécule mise en jeu et les conditions du milieu (Kopinke *et al.*, 1996); Reuter et Scheunert, 1996; Thiele et Brummer, 1996; Wais *et al.*, 1996). En effet, à l'intérieur de la fraction résidus non extractibles coexiste une partie susceptible d'être libérée par l'intervention de phénomènes physiques et/ou biologiques. Pour Bertin (1989), le sol paraît exercer un pouvoir épurateur qui se décompose en deux phases : une première phase de stockage des résidus non extractibles après traitement, suivie par l'élimination progressive des résidus non extractibles par minéralisation, au même titre que la matière organique endogène.

L'étude de la remobilisation et de la libération des résidus non extractibles nécessite l'extraction exhaustive de tous les résidus libres du sol. L'incubation de la prométryne pendant 22 j a permis à Khan et Iverson (1981) de retrouver 27% de la radioactivité non extractible, dont la moitié s'est avérée être la molécule mère. Reuter et Scheunert (1996), en incubant pendant 12 semaines du  $^{14}\text{C}$ -isoproturon dans quatre sols et deux fractions différentes, constatent une libération des résidus non extractibles; mais ils notent une diminution de la quantité de résidus non extractibles libérés après humification de la paille de blé contenue dans ces sols, due à la formation de liaisons irréversibles entre le pesticide et les sols.

Il semble que les microorganismes soient susceptibles de rompre les liaisons établies entre le pesticide et les constituants du sol (Liebich *et al.*, 1999). Khan et Iverson (1982) constatent que la nature de la population microbienne n'influe pas significativement sur la quantité des résidus non extractibles libérés en sélectionnant et en incubant quatre souches différentes de microorganismes spécifiques de la dégradation de la cellulose, des protéines, des lipides et de la lignine. Ce résultat serait dû au fait que les processus de libération impliqueraient un phénomène de co-métabolisme, et/ou que les résidus non extractibles seraient inclus dans différentes matrices. D'autres études ont démontré des possibilités de dégradation évidente de résidus de pesticides, suivie de la libération des résidus non extractibles de pesticides. Khan et Bekhi (1990), en incubant avec une biomasse spécifique (*Pseudomonas*) certains résidus d'atrazine, obtiennent la libération de 35% des résidus non extractibles (atrazine, dééthylatrazine, déisopropylatrazine, hydroxyatrazine) en 80 *j*. Mais les composés libérés sont soumis à des phénomènes chimiques et biologiques dégradatifs.

L'activité microbienne ne semble pas être le seul facteur pouvant aboutir à la libération des résidus non extractibles de pesticide. En effet, beaucoup d'auteurs ont montré que la stabilité des résidus non extractibles était affectée par un grand nombre de facteurs. Pour certains, les rayons U.V. pourraient provoquer une mobilisation des résidus non extractibles. C'est ainsi qu'après une exposition de 216 *h* aux rayons U.V., 30% des résidus non extractibles de prométryne, dans une suspension de sol, sont devenus extractibles par le méthanol (Khan, 1982a). En incubant les résidus non extractibles avec une biomasse spécifique en conditions stériles après 80 *j*, on observe un phénomène physique qui entraîne la libération de 5% des résidus non extractibles, et qui est attribuée à une modification de la structure du sol par des phénomènes de dessiccation (Schiavon, 1980; Bernoux, 1991). Schiavon et Soulas (1983) observent que ce phénomène est particulièrement marqué lorsque la radioactivité a pour origine le traitement du sol par deux métabolites déalkylés de l'atrazine : la dééthyl-déisopropylatrazine et la dééthylatrazine. Dans ce cas, la libération des résidus non extractibles serait due à une modification de la configuration spatiale des composés humiques à l'origine de l'emprisonnement des molécules de pesticides. L'étude de l'incidence de la fertilisation et des modifications du pH du sol a aussi permis de mettre en évidence la libération des résidus non extractibles. Dans les associations 3,4-dichloroaniline-humus traités au  $NH_4OH$  et après une incubation de 30 *j*, 11% des résidus non extractibles sont libérés (Saxena et Bartha, 1983), preuve, selon les auteurs de cette étude, que la fertilisation azotée sous forme

ammoniacale est susceptible d'aboutir à la mobilisation de quantités significatives de résidus non extractibles d'aniline. Ce sont les formes ioniques  $NH_4^+$  et  $NO_3^-$  qui libèrent le plus de résidus non extractibles, tandis que l'urée apparaît sans effet lors de l'étude de trois sources d'azote sur la libération des résidus non extractibles de prométryne (Khan, 1980). Yee *et al.*, (1985), en étudiant les conséquences de la modification du pH lors de la libération des résidus non extractibles de prométryne, ont mis des échantillons d'un même sol contenant des résidus non extractibles en présence de solution tampon, à des pH compris entre 4 et 8. La radioactivité libérée varie entre 21 et 25% (en pourcentage du total non extractible) sauf à pH 5 où elle ne dépasse pas 15%. La prométryne représente 70% et l'hydroxyprométryne (30% du total), excepté à pH 5 où la part de chacun de ces deux produits est respectivement de 46 et 54%.

Ces résultats montrent que les changements de pH et les interactions ioniques peuvent déplacer les résidus non extractibles, en modifiant la répartition des charges de la molécule de pesticide et des polymères humiques. Ces résultats montrent également qu'un nombre important de facteurs peuvent intervenir sur la libération des résidus non extractibles : activité microbienne, dessiccation du sol, modification du pH, fertilisation, etc. Il reste donc à apprécier d'autres facteurs et à définir leur rôle respectif, probablement variable en fonction du pesticide considéré (Bertin et Schiavon, 1989).



## Chapitre 2

# Matériels et Méthodes

### A Sols et Pesticides

Trois sols agricoles ont été retenus. Ils proviennent des dispositifs expérimentaux suivis depuis plusieurs années et dont l'historique cultural est connu. Le choix de ces sols a été fait en fonction de leur comportement vis-à-vis de la dégradation de l'atrazine. En particulier, leur capacité ou non à développer une activité spécifique conduisant à la minéralisation accélérée du noyau triazinique. Deux sols bruns calciques limoneux avec des pH alcalins proviennent du domaine expérimental de l'INRA, à Grignon (Département des Yvelines - 78). L'un, le sol GM, a été prélevé sur une parcelle en monoculture de maïs depuis 1973. Il présente une capacité de dégradation accélérée de l'atrazine. L'autre, le sol GB, a été prélevé sur une parcelle voisine du sol GM, en monoculture de blé depuis 1973 et ayant été souvent traitée avec l'isoproturon mais sans développement d'une activité biologique de dégradation accélérée de l'atrazine. Le troisième sol, NB, est un sol brun acide limoneux provenant du dispositif expérimental de la Bouzulle (ENSAIA, Nancy, Département de la Moselle - 54). Il a été prélevé sur une parcelle cultivée : monoculture de maïs de 1967 à 1988 traitée régulièrement avec de l'atrazine ; rotation maïs-blé-orge en 1987 et depuis 1988, rotation blé-orge avec traitement à l'isoproturon, mais sans plus recevoir d'atrazine. Les principales propriétés de ces trois sols sont données dans le tableau 2.1.

Deux herbicides ont été retenus : l'atrazine [6-chloro- $N^2$ -éthyl- $N^4$ -isopropyl-1, 3, 5-triazine-2,

TAB. 2.1 – Caractéristiques des sols (horizon 0 - 20 cm)

Abréviation	Origine	Historique	pH	Argiles	limons	Sables	$C_{org}$	$CaCO_3$
				(g.kg <sup>-1</sup> )				
GM	Grignon	Depuis 1973 monoculture de maïs et atrazine	8,1	272	587	123	17	16
GB	Grignon	Depuis 1973 monoculture de blé sans atrazine mais isoproturon	8,0	269	590	124	20	20
NB	Nancy-la Bouzulle	Maïs 1967-1988 (atrazine) Rotation blé-orge depuis 1988 (isoproturon)	5,8	257	509	216	14	-

4-diamine] et l'isoproturon [N-(isopropyl-4-phényl-N') diméthylurée] (fig. 2.1). L'atrazine qui appartient à la famille des s-triazines, est utilisée comme pesticide modèle de référence, caractérisée par une faible réactivité chimique. L'isoproturon est étudié à titre comparatif et avec l'intérêt supplémentaire de présenter des voies de stabilisation supposées différentes de celles de l'atrazine. En effet, une partie de résidus non extractibles provenant de l'isoproturon se forme au travers de la réactivité chimique de l'aniline résultant de la première étape de dégradation de l'isoproturon. Ces deux pesticides ont été choisis par leur signification agronomique et par des impacts environnementaux constatés. Cependant, en raison de ces impacts, les restrictions (depuis 2001) de l'utilisation de l'atrazine se sont transformées en une interdiction de son usage en France depuis 2004. Les principales caractéristiques de ces herbicides sont données dans le tableau 2.2.

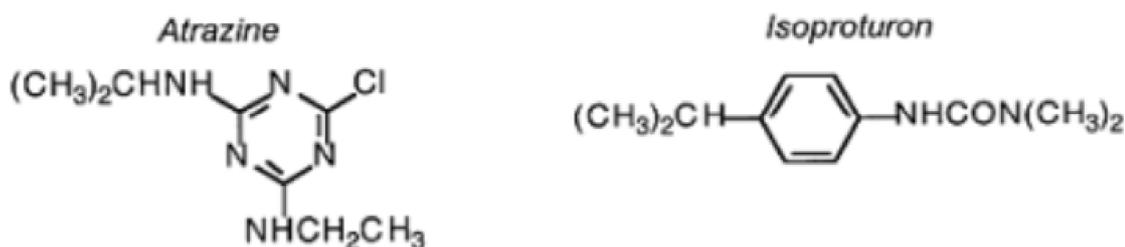


FIG. 2.1 – Structure moléculaire de l'atrazine et de l'isoproturon

TAB. 2.2 – Caractéristiques des pesticides

Nom	Atrazine	Isoproturon
Famille	Triazine	Urée substituée
Masse molaire ( $g.mol^{-1}$ )	215,7	206,29
Tension de vapeur (mPa à 20°C)	0,039	0,0033
Solubilité eau ( $mg.l^{-1}$ à 20°C, pH=7)	33,0	65,0
pKa	1,7	-
$logK_{ow}$ (25°C)	2,5	2,25

## B Incubations en conditions contrôlées de laboratoire

Le dispositif d'incubation en conditions contrôlées a été conçu pour recevoir trois apports successifs de  $^{14}C$ -pesticide chaque échantillons des sols GM, GB et NB selon le principe de la figure 2.2. Il s'agit de dispositifs classiques d'incubation en microcosmes fermés statiques avec du sol remanié et homogénéisé (fig. 2.3).

Des solutions aqueuses des deux substances actives marquées radio-isotopiquement au  $^{14}C$  sur leur noyau aromatiques respectifs (triazine et phényle) ont été préparées. Deux solution non radioactives sont d'abord apprêtées avec 30 mg d'atrazine (pureté : 94,7%, Sigma) et d'isoproturon (pureté > 99%, Sigma) additionnés à 1000 ml d'eau (MilliQ-Millipore), puis l'ensemble est agité pendant 2 h. Les solutions obtenues sont stockées à 4°C, puis filtrées sous vide à 0,45  $\mu m$  (filtre HV Millipore *Durapore*®). Les concentrations des deux solutions (13,57  $mg.l^{-1}$  et 18,69  $mg.l^{-1}$ , respectivement) sont vérifiées par spectroscopie U.V. (appareil Lamda 5, Perkin-Elmer). Par la suite, deux solutions radioactives d'atrazine et d'isoproturon sont préparées à partir des sources dont les activités spécifiques sont respectivement de  $910 \times 10^3 GBq.mol^{-1}$  et de  $558.7 \times 10^3 GBq.mol^{-1}$ ; leurs concentrations (6,43  $mg.l^{-1}$  et 1,31  $mg.l^{-1}$  respectivement) sont mesurées par spectroscopie U.V. (appareil Lamda 5, Perkin-Elmer). L'addition de 0,9 ml et de 0,5 ml de chacune de ces solutions radioactives, respectivement d'atrazine et d'isoproturon, à 250 ml de chaque solution non radioactive précédemment préparée a permis d'obtenir une solution finale de  $^{14}C$ -atrazine et de  $^{14}C$ -isoproturon d'une concentration de 20  $mg.l^{-1}$ , dosée à  $16,67.10^3 Bq.ml^{-1}$ , leur pureté ( $96 \pm 0,5$  et  $99 \pm 0,5\%$ , respectivement pour l'atrazine et l'isoproturon) étant vérifiée par analyse chromatographie en phase liquide (chaîne chromatographique Waters équipée d'un passeur d'échantillons, d'une colonne *Nova – PackC18* (4,6  $\times$  250 mm) et

d'une double détection en ligne, barrette de diodes et radioactivité en flux continu (Radiomatic Flo-One A-500, Packard)).

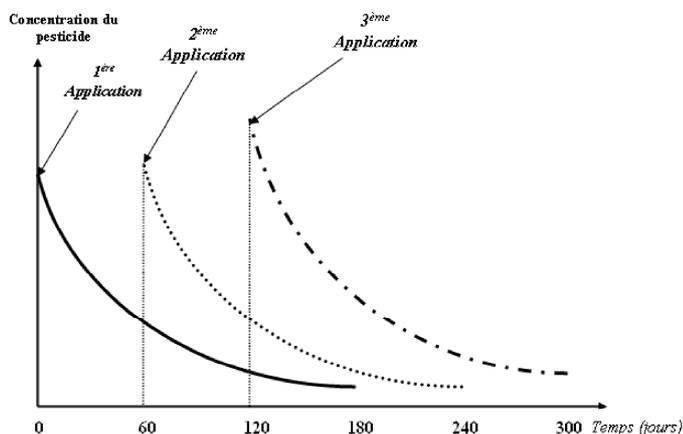


FIG. 2.2 – Schéma du principe pour la mise en place des expérimentations avec des applications répétées de pesticides en conditions contrôlées de laboratoire.

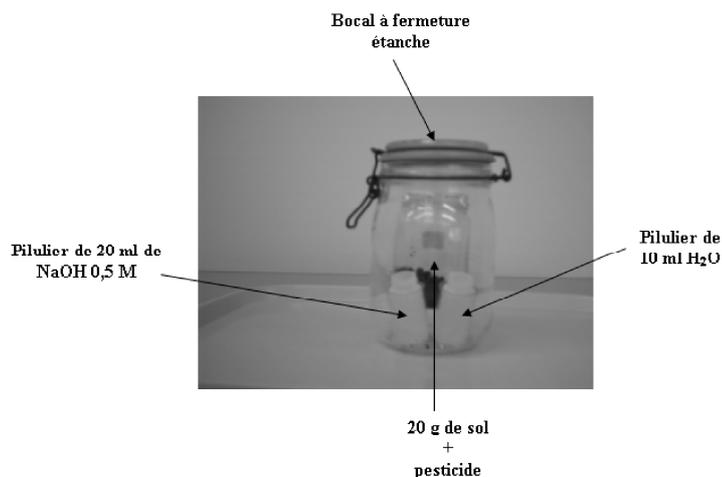


FIG. 2.3 – Dispositif d'incubation des pesticide en microcosmes

Les sols, prélevés sur les différents sites en février 2002, sont séchés à l'air pendant quatre jours et tamisés à 5 mm. L'équivalent de 20 g de sol sec par échantillon est mis dans un pilulier en verre, lui-même introduit dans un bocal à fermeture étanche de 500 ml. On y ajoute 0,5 ml de la solution aqueuse de  $^{14}\text{C}$ -atrazine ou de  $^{14}\text{C}$ -isoproturon précédemment préparée. L'addition d'un supplément d'eau ultra-pure (MilliQ-Millipore) permet d'ajuster la teneur en eau des échantillons à une humidité équivalente à 85% de leur capacité de rétention en eau. On introduit dans chaque bocal deux piluliers, l'un contenant 10 ml d'eau afin de maintenir constante l'humidité relative, et l'autre contenant 2 ml d'une solution  $\text{NaOH}$  0,5 M pour piéger le  $^{14}\text{C} - \text{CO}_2$  dégagé. Les

bocaux sont hermétiquement fermés et mis en incubation dans l'obscurité à une température de  $28 \pm 0,5^\circ\text{C}$ . Trois répétitions sont effectuées pour chaque échantillon et pour chaque pas de temps. Avec trois sols, deux pesticides et trois répétitions par échantillon de sol, nous avons incubé, pour une première application de pesticide,  $3 \times 3 \times 7 = 63$  échantillons par pesticide, pour la 2<sup>e</sup> et la 3<sup>e</sup> applications de pesticide,  $2 \times (3 \times 3 \times 6) = 108$  échantillons par pesticide. Ces échantillons sont répartis en trois séries (1, 2 et 3) par substance active en fonction du nombre d'applications. Dans chaque série, l'herbicide est apporté 60 *j* après l'application précédente. La durée d'incubation de chaque série après l'application du pesticide est de 180 *j* (fig. 2.2). De cette manière, le série 1 a été incubée pendant 180 *j*, la série 2, pendant 240 *j* correspondant à 60 *j* (après le 1<sup>er</sup> apport de pesticide) + 180 *j* (avec le 2<sup>e</sup> apport); et la 3<sup>e</sup> série, pendant 300 *j* : 60 *j* (après le 1<sup>er</sup> apport) + 60 *j* (après le 2<sup>e</sup> apport) + 180 *j* (après le 3<sup>e</sup> apport).

## C Expérimentation en conditions naturelles à l'aide des colonnes de sols

L'expérimentation en conditions naturelles a été faite en utilisant des dispositifs de type "micro-lysimètre" et "mini-lysimètre" placés en conditions d'extérieur. Le dispositif de type "micro-lysimètre", consiste en colonnes de sol de petite taille remplies avec du sol remanié et homogénéisé, prélevé directement sur le terrain, à Grignon. Ces dispositifs permettent la mise en évidence de l'effet des conditions climatiques, par comparaison des résultats obtenus sur les micro-lysimètres des mêmes sols placés à Grignon et à Vandœuvre-lès- Nancy (Nancy). Dans les dispositifs de type "mini-lysimètre", il s'agit d'utiliser des colonnes plus longues de sols échantillonnés de la même manière qu'avec les micro-lysimètres.

Les sites d'expérimentation se trouvent en plein air, sur des plateaux confinés dans des zones où toute pollution secondaire des sols dans les colonnes est à exclure. Les dispositifs d'incubations placés en conditions d'extérieur ont été conçus pour suivre les effets des applications répétées sur la dégradation de l'atrazine dans les profils de différents sols sur une période de plusieurs années. Mais compte tenu des dates de mise en place, à Grignon, quatre séries d'extractions (1, 3, 6 et 12 mois) ont été réalisées dans les micro-lysimètres de sols durant les douze premiers

mois des incubations effectuées après la première application de  $^{14}\text{C}$ -atrazine, et une seule série d'extractions a été réalisée 3 mois après la deuxième application. Dans les grandes colonnes, on n'a pu faire qu'une seule série d'extractions après 12 mois d'incubation. À Nancy, les sols des micro-lysimètres ont reçu trois applications successives d'atrazine à 12 mois d'intervalle, les extractions ayant été réalisées à 1, 3, 6, 12 mois après la première application, et à 3, 6 et 12 mois après les deuxième et troisième applications. Le nombre et la taille des dispositifs ont été calculés pour permettre de récupérer des échantillons périodiquement. Les percolats des lysimètres sont récupérés et analysés, et des lysimètres sont prélevés périodiquement. Les résidus restant dans les sols sont analysés en appliquant le même protocole que dans le cas des incubations en conditions contrôlées de laboratoire (voir B). Les lysimètres installés à Nancy ont été gérés et analysés par le laboratoire INRA-ESAIA "Sols et Environnement" (M. Schiavon).

## C1 - Types de colonnes

Deux séries de colonnes ont été fabriquées, constituées de tube en PVC d'un diamètre intérieur de 10 *cm*; la hauteur est de 27 *cm* (micro-lysimètres) et de 49 *cm* (mini-lysimètres). Leur remplissage se fait en deux étapes. Préalablement, les vingt premiers centimètres de la couche labourée de chaque parcelle sont découpés et mis de côté. Ensuite, les tubes en PVC sont enfoncés sous pression jusqu'à une profondeur permettant le prélèvement de 5 *cm* (micro-lysimètres) ou de 27 *cm* (mini-lysimètres) de sol tassé correspondant à la semelle de labour. Ce sol tassé se retrouve à la base de chaque colonne et constitue un "bouchon" naturel, évitant les pertes de terre (fig. 2.4). Ensuite, sur les 22 *cm* de leur partie supérieure, les deux types de colonnes sont remplies avec 2700 *g* de terre des horizons labourés des trois sols (GM, GB et NB) préalablement séchés à l'air et homogénéisés par tamisage à 5 *mm*.

Le dispositif d'incubation des colonnes est constitué de caissons en bois percés à la base de trous circulaires où sont introduits des entonnoirs pour la récupération des percolats des lysimètres (fig. 2.5). Afin d'éviter le colmatage, chaque entonnoir est rempli de cailloutis avant d'être relié à la base de la colonne. Une fois les lysimètres mis en place, l'intérieur des caissons est entièrement rempli d'une terre qui joue le rôle d'isolation thermique.

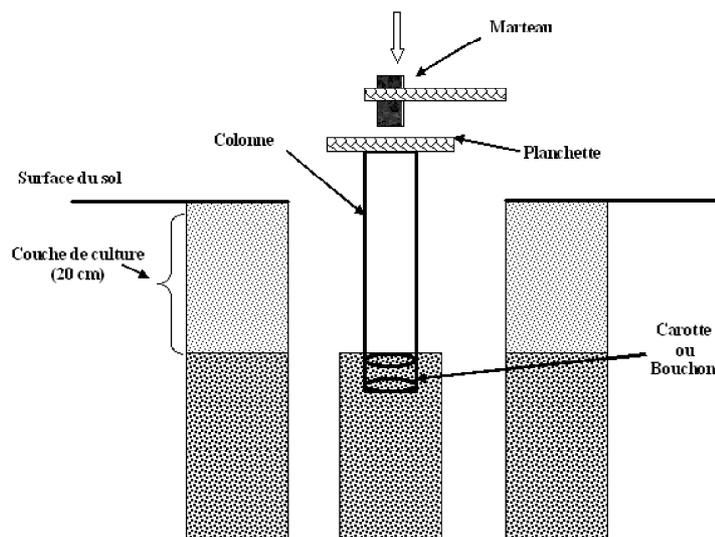


FIG. 2.4 – Préparation des colonnes et prélèvement de la partie inférieure correspondant à la semelle de labour

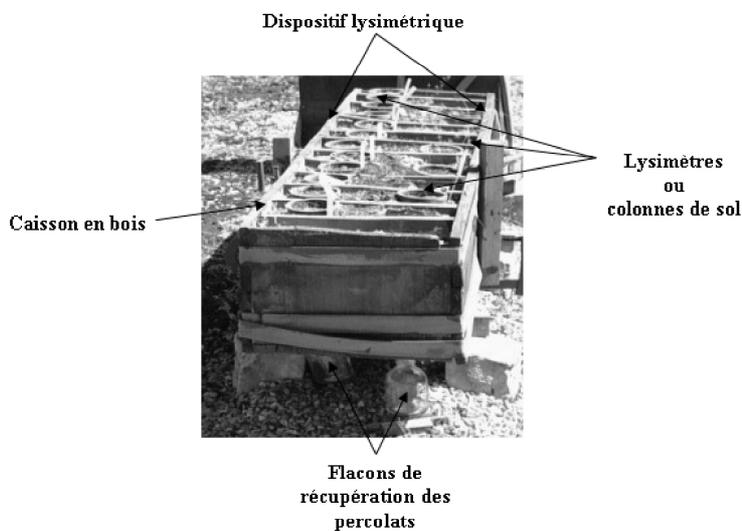


FIG. 2.5 – Caisson contenant l'ensemble des lysimètre pour un même sol. Les caissons sont remplis de terre entre les lysimètres pour les isoler thermiquement et assurer la stabilité de leur position verticale.

Sur une surface de  $78,54 \text{ cm}^2$  équivalent à la surface de base de chaque colonne, on applique une dose de  $10 \mu\text{g.cm}^2$  ( $1 \text{ kg.ha}^{-1}$ ) d'atrazine par lysimètre, représentant  $785,4 \mu\text{g}$  d'une solution d'atrazine uniformément marquée au  $^{14}\text{C}$  sur le noyau triazinique, et une radioactivité de  $2,03.10^6 \text{ Bq/lysimètre}$  issue d'une source mère de  $3,86.10^{-10} \text{ g.Bq}^{-1}$  d'activité spécifique. L'apport de la solution de  $^{14}\text{C}$ -atrazine (pureté 96%) sur chaque lysimètre se fait avec  $5 \text{ ml}$  de méthano-

nol, représentant une concentration de  $157,08 \mu\text{g.ml}^{-1}$  de  $^{14}\text{C}$ -atrazine ou  $40,7.10^3 \text{ Bq.ml}^{-1}$ .

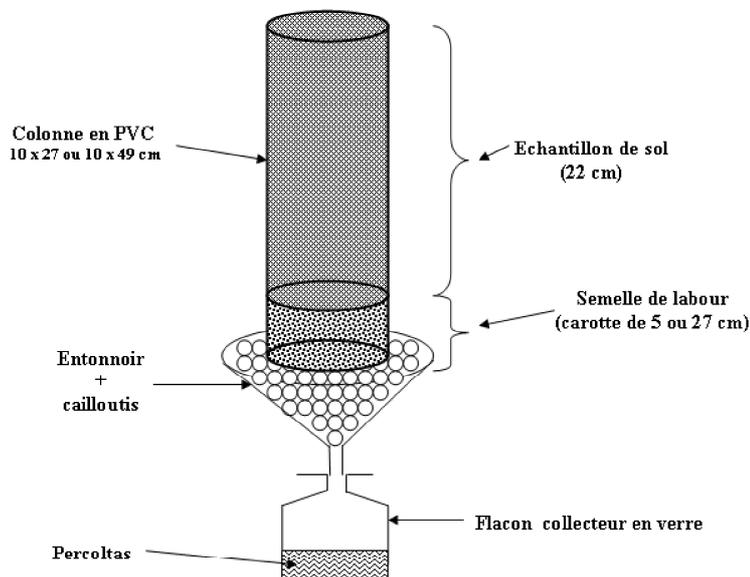


FIG. 2.6 – Incubation de lysimètre en conditions "d'extérieur"

Les lysimètres ont été placés en conditions extérieures et soumis aux aléas climatiques propres à Grignon et à Vandœuvre-lès-Nancy. Ils y ont été mis en conditions naturelles et ont été suivis pendant 14 mois pour s'assurer de l'homogénéité de leur fonctionnement hydrodynamique. L'ensemble des colonnes les plus homogènes, d'un point de vue des volumes percolés, a été retenu pour recevoir les applications de  $^{14}\text{C}$ -atrazine. Les volumes de percolation et les paramètres climatiques (humidité, température et potentiel de l'eau dans les colonnes) ont été régulièrement suivis. Le nombre de colonnes est prévu pour permettre trois applications répétées, tout en sacrifiant périodiquement les colonnes pour analyser les résidus d'atrazine. La disposition des colonnes dans les caissons et les dates d'application de la matière active sont décrites dans le tableau 2.3.

## C2 - Mesures des variations des paramètres climatiques

Deux mini-lysimètres dans leurs caissons respectifs et contenant les échantillons des sols GM et NB sont instrumentalisés pour pouvoir acquérir des informations quantifiées précises sur leur fonctionnement physique. Ces lysimètres sont équipés de trois types de capteurs pour mesurer les variations journalières de trois paramètres physiques à l'intérieur des colonnes (fig. 2.7). Pour

TAB. 2.3 – Résumé du dispositif "colonnes" en conditions naturelles

Échantillon de sol	Origine du sol	Historique culturale	Nombre de colonnes	Date de 1 <sup>re</sup> application
<i>Micro-lysimètres (27 × 10 cm)</i>				
<b>GM</b>	Grignon	Monoculture maïs	24	29/04/02
<b>GB</b>	Grignon	Monoculture blé	24	29/04/02
<i>Mini-lysimètres (49 × 10 cm)</i>				
Échantillon de sol	Origine du sol	Historique culturale	Nombre de colonnes	Date de 1 <sup>re</sup> application
<b>GM</b>	Grignon	Monoculture maïs	4	18/06/02
<b>GB</b>	Grignon	Monoculture blé	4	18/06/02
<b>NB</b>	Nancy-Bouzulle	Jachère	5	18/06/02

les mesures des variations d'humidité trois sondes TDR à 3 électrodes de 8 cm chacune sont enfoncées horizontalement dans les colonnes à 10, 25 et 45 cm de la base de la colonne, les mesures proprement dites se faisant à l'aide d'un appareil ATRAZE. Les températures ont été mesurées tous les jours, à raison d'une mesure par heure pendant 24 h, et enregistrées automatiquement dans la centrale d'acquisition. Trois sondes à température (thermocouples) à une électrode sont enfoncées horizontalement à l'intérieur de la même colonne à 2, 5, 24 et 47, 5 cm. Pour les mesure des variations de potentiel d'eau, 4 cannes tensiométriques souples à céramique de type SMS terminées chacune par une bougie poreuse de 2,5 cm de longueur, reliées à un manomètre à mercure sont enfoncées horizontalement dans la colonne à 5 ; 17, 5 ; 32, 5 et 45, 5 cm. L'ensemble des capteurs est relié à une mini centrale d'acquisition de données. Le suivi régulier des capteurs a permis de caractériser le comportement des sols durant toute la période d'incubation.

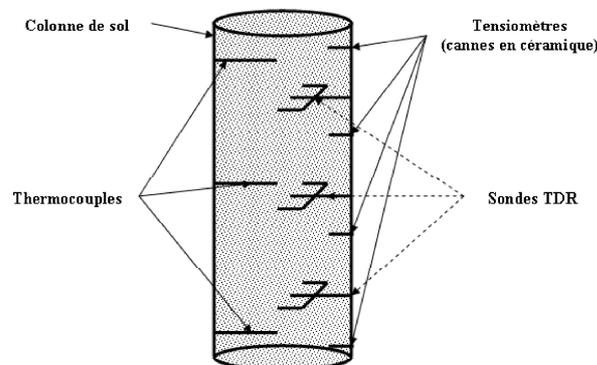


FIG. 2.7 – Schéma de l'équipement des lysimètres avec les capteurs de pression par sondes tensiométriques, de teneur en eau par sondes TDR et de température par thermocouples.

### C3 - Prélèvement et traitement des colonnes

Les lysimètres sont prélevés périodiquement et l'évolution de la radioactivité provenant de l'atrazine dans chaque lysimètre est suivie dans le temps et dans chaque couche de sol : pour les micro-lysimètres, à 0 – 5, 5 – 10, 10 – 15, 15 – 20 *cm* et dans les 5 *cm* du sol tassé à la base de la colonne; et pour les mini-lysimètres, à 0 – 5, 5 – 10, 10 – 15, 15 – 20 *cm* et dans les 27 *cm* du sol tassé à la base des colonnes, avec un découpage en trois sous-couches : 0 – 9, 9 – 18, et 18 – 27 *cm*. Des extractions des résidus d'atrazine sont pratiquées dans chaque couche. Dans le cas des micro-lysimètres, les temps de prélèvement après la première application de  $^{14}\text{C}$ -atrazine sont à 1, 3, 6, 12 (18, 24, 30 et 36 mois, page 41); après la deuxième application, à 3 (15 mois de durée totale, dont 12 mois d'incubation relative à la 1<sup>re</sup> application et 3 mois d'incubation après la 2<sup>e</sup> application), 6 (18 mois ou 12 + 6), 12 (24 mois ou 12 + 12), 18 (30 mois ou 12 + 18), 24 (36 mois ou 12 + 24); et après la troisième application à 27 mois (24 mois après la 1<sup>re</sup> + 3 mois après la 3<sup>e</sup>), 30 (24 + 6 mois) et 36 mois (24 + 12). Dans le cas des mini-lysimètres, l'intervalle de temps d'extraction des résidus est de 12 mois après chaque application de pesticide. Dans chaque colonne, la deuxième et la troisième applications d'atrazine interviennent 12 mois après l'application précédente. Pour chaque couche, trois aliquotes équivalente à 20 *g* de sol sec chacune sont prélevées pour subir le même protocole d'extraction par agitation et d'analyse que celui décrit pour les échantillons incubés en conditions contrôlées de laboratoire (voir D2).

## D Analyses des échantillons

### D1 - Résidus minéralisés

La minéralisation de l'atrazine et de l'isoproturon est suivie dans les seuls dispositifs placés en conditions contrôlées de laboratoire. Dans chaque série des incubations, des piluliers enfermés dans les dispositifs respirométriques et contenant  $\text{NaOH}$  0,5 *M*, pièges à  $^{14}\text{C} - \text{CO}_2$  dégagé (fig. 2.3), sont périodiquement remplacés, à 3 et 7 *j* puis tous les 14 jours après l'application du pesticide. Après y avoir ajouté 10 *ml* de liquide scintillant (Ultima Gold - Packard), la radioactivité dans chaque pilulier est mesurée au compteur à scintillation liquide (TriCarb 2100TR -

Packard).

## D2 - Extractions des résidus de pesticides

Au cours des incubations et du prélèvement des colonnes, les résidus d'atrazine et d'isoproturon non minéralisés, sont extraits successivement à l'eau et au méthanol. Lors des expériences en conditions contrôlées de laboratoire, les extractions des résidus se font à 0, 7, 14, 28, 60, 120, et 180 *j* après l'application de pesticide, pour la série 1. Pour les séries 2 et 3, les extractions des résidus se font à 7, 14, 28, 60, 120 et 180 *j* après la deuxième et la troisième applications des pesticides. Dans les dispositifs lysimétriques, les extractions sont réalisées dans chaque colonne et dans chaque couche précédemment définie (voir C3).

Les extractions se réalisent une première fois par agitation dans l'eau ( $CaCl_2$ ,  $10^{-2}$  M), puis trois fois dans du méthanol. Pour ce faire, dans un tube à centrifuger en verre de 250 ml, on introduit 20 g de sol incubé puis 60 ml de la solution aqueuse ou de méthanol. Le rapport sol/extractant - 1/3 m/v - est gardé constant. L'ensemble est agité par retournement à  $20 \pm 2^\circ C$  pendant 16 h pour l'extraction aqueuse, puis pendant 5 h pour les extractions au méthanol. Après chaque extraction, les extraits sont récupérés par centrifugation à 9000 g pendant 20 min (centrifugeuse Sorvall<sup>®</sup> Evolution RC). La radioactivité extraite est mesurée par scintillation en milieu liquide sur des aliquotes de 0,5 ml à l'aide du compteur TriCarb 2100 TR Packard, utilisant 4 ml de l'Ultima Gold XR (Packard) comme liquide scintillant.

Les percolats issus des colonnes sont recueillis dans les flacons de récupération en verre de 500 ml lorsqu'il y a suffisamment de précipitations. Leur radioactivité est mesurée par scintillation en milieu liquide dans les mêmes conditions que les extraits aqueux ou méthanoliques.

## D3 - Analyses chromatographiques

Les percolats issus des colonnes, les extraits aqueux et méthanoliques sont analysés en chromatographie liquide (CLHP). Avant l'analyse CLHP, les extraits aqueux sont concentrés par extraction liquide/solide à l'aide des cartouches ENV<sup>+</sup> (IST Isolute<sup>®</sup>) de 3 ml, selon la méthode

mise au point par Loiseau (2001). Les extraits méthanoliques, pour leur part, sont concentrés par évaporation sous vide jusqu'à un volume de 3 ml. Une aliquote de 0,5 ml de cette solution est prélevée, puis filtrée à 0,45  $\mu\text{m}$  (filtres seringue en nylon, *MSI Westbow* pour les extraits de  $^{14}\text{C}$  – atrazine, filtres seringue en cellulose, *Alltech* pour le  $^{14}\text{C}$ -isoproturon).

TAB. 2.4 – Gradient d'éluion utilisé lors des analyses CLHP des résidus d'atrazine

Solvant	Temps d'éluion (min)				
	0	1	8	12	30
A : $\text{H}_2\text{O}$ : 100%, SDS $5.10^{-3}$ M	100	62	60	40	0
B : $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$ : 10/90, SDS $5.10^{-3}$ M	0	38	40	60	100

TAB. 2.5 – Gradient d'éluion utilisé lors des analyses HPLC des résidus d'isoproturon

Solvant	Temps d'éluion (min)						
	0	4	7	12	17	20	35
A : $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$ : 50/50	100	80	65	50	40	30	0
D : MeOH : 100%	0	20	35	50	60	70	100

L'analyse chromatographique s'effectue avec une chaîne chromatographique Waters équipée d'un passeur d'échantillons, d'une colonne Nova-Pack  $C_{18}$  (4,6 x 250 mm) et d'une double détection en ligne, barrette de diodes et radioactivité en flux continu (Radiomatic Flo-one A-500 Packard). Pour les résidus d'atrazine, une chromatographie en paire d'ions est réalisée, utilisant des solvants eau-méthanol acidifiés à un pH ajusté à 2,8 à l'aide de HCl, avec du dodécylsulfate de sodium (SDS) comme réactif d'appariement d'ions. La phase mobile utilisée consiste en un gradient d'un solvant A constitué d'une solution aqueuse de SDS  $5.10^{-3}$  M et d'un solvant B constitué d'une solution eau/méthanol 10/90 additionnée de SDS  $5.10^{-3}$  M. Pour les résidus d'isoproturon, la chromatographie est réalisée en utilisant une phase mobile constituée d'un solvant A constitué d'une solution eau/méthanol 50/50, et d'un solvant B constitué de méthanol pur. Les gradients utilisés sont indiqués dans les tableaux 2.4 et 2.5 pour l'atrazine et l'isoproturon, respectivement. Des standards analytiques d'atrazine et d'isoproturon et leurs principaux métabolites sont utilisés pour l'identification chromatographique des extraits analysés. Ainsi, l'ensemble des extraits, de même que tous les percolats issus des colonnes ont été analysés pour rechercher d'une part, l'atrazine (ATRA) et sept de ses métabolites : le dééthyl-déi-sopropylatrazine (DEDIA), le déi-sopropylatrazine (DIA), le dééthylatrazine (DEA), l'hydroxy-

atrazine (HO-ATRA), l'hydroxydééthylatrazine (OH-DEA), l'hydroxydééthyl-déisopropylatrazine (HO-DEDIA) et l'hydroxydéisopropyleatrazine (OH-DIA) ; et d'autre part l'isoproturon (IPU) et ses deux métabolites, le monodiméthyl-isoproturon (IPU-MONODEMETHYL) et dideméthyl-isoproturon (IPU-DIDEMETHYL).

#### **D4 - Quantification des résidus non extractibles**

Les résidus de pesticides non extractibles sont quantifiés par dosage de la radioactivité restant dans les sols après extraction. Les culots d'extraction, contenant les sols avec les résidus des pesticides non extractibles, sont séchés à température ambiante sous une hotte pendant 5 j. Leur teneur en radioactivité est mesurée sur des aliquotes de 200 mg finement broyées dans un mortier en agate, après combustion à l'aide d'un Sample Oxidizer Packard Model 307. Au moins 3 aliquotes sont analysées pour chaque échantillon. Le  $^{14}CO_2$  dégagé est piégé par une solution de Carbosorb (Packard), puis mélangé à du Permafluor (Packard) utilisé comme liquide scintillant.

#### **D5 - Mesure de la radioactivité incorporée dans la biomasse microbienne des sols**

La radioactivité incorporée dans la biomasse microbienne a été mesurée à la fin de chacune des trois séries d'incubations en laboratoire ; l'extraction de la radioactivité incorporée dans la biomasse étant réalisée en même temps que l'extraction des derniers échantillons de chaque série, à 180, 240 et 300 j. Cette extraction est réalisée tous les six mois en ce qui concerne les incubations dans les lysimètres. La radioactivité incorporée dans la biomasse microbienne a été mesurée en adaptant la méthode de fumigation - extraction couramment utilisée pour la mesure du carbone et de l'azote de la biomasse microbienne des sols (Wu *et al.*, 1990 ; Chaussod *et al.*, 1988 ; Vance *et al.*, 1987). La technique de fumigation est basée sur la lyse des cellules microbiennes par fumigation avec des vapeurs de chloroforme. Celle-ci lyse les parois des microorganismes et rend hydrosoluble une partie des constituants cytoplasmiques. L'augmentation de la teneur en  $^{14}C$  des extraits aqueux ( $K_2SO_4$  0,5 M) après fumigation renseigne sur l'importance de l'incorporation du  $^{14}C$  dans la biomasse. Les sols, issus des incubations ou des couches des lysimètres, sont

soumis pendant 16 h à une fumigation dans une enceinte dont l'atmosphère est saturée par du chloroforme. Après fumigation, le chloroforme est éliminé de l'enceinte par aspiration maintenant l'enceinte sous un vide poussé. Les échantillons sont récupérés et extraits avec 100 ml d'une solution aqueuse de  $K_2SO_4$  0,5 M. La mesure du  $^{14}C$  des extraits aqueux  $K_2SO_4$  0,5 M se fait par scintillation en milieu liquide dans les mêmes conditions qu'avec les extraits aqueux et méthanoliques. L'estimation de la radioactivité incorporée dans la biomasse microbienne se fait à partir de la différence de la radioactivité extraite au  $K_2SO_4$  0,5 M dans les échantillons de sol fumigés au chloroforme et non fumigés. Trois répétitions sont réalisées pour chaque échantillon.

## E Traitement des données

Tous les résultats obtenus sur des aliquotes sont exprimés par rapport à la quantité totale de chaque échantillon. Ils sont exprimés, soit en pourcentage de la quantité totale de radioactivité appliquée (en %  $^{14}C$ ), soit en masse-équivalent de pesticide par gramme de sol ( $\mu g eq.g^{-1}$  de sol), en tenant compte de l'activité spécifique de la substance active initialement appliquée. Toutes les mesures sont effectuées avec au moins trois répétitions, les moyennes, écart-types et coefficients de variation sont calculés sous Excel.

## Chapitre 3

# Devenir dans les sols de l'atrazine et de l'isoproturon lors des applications répétées de pesticides en conditions de laboratoire

### A Introduction

De manière générale, la première étape régissant le devenir d'un pesticide dans le sol est l'adsorption qui a pour conséquence le partage du produit entre la solution du sol et la phase solide. Les quantités de produits adsorbées et celles présentes dans la solution de sol sont conditionnées par la solubilité dans l'eau de la molécule et par les caractéristiques de la rétention de la matière active par les constituants du sol (Yaron, 1989 ; Calvet, 1989). La dissipation des polluants est liée à leur disponibilité dans le sol, qui elle-même est liée à la présence de la molécule dans la solution de sol (Calvet, 1989). Le polluant sera alors dit disponible ou biodisponible s'il est présent dans la phase liquide ou potentiellement disponible s'il se retrouve dans la phase solide. Cette disponibilité régit, d'une part l'efficacité phytosanitaire de la molécule ; mais, d'autre part, sa dégradation par les microorganismes du sol, et son transfert vers les eaux de surface et

souterraines. Ainsi, assimiler la disponibilité d'un pesticide à sa présence dans la solution sol, c'est conditionner la disponibilité de ce pesticide par sa rétention dans le sol. Cette rétention est responsable de la diminution de la disponibilité et elle résulte de différents phénomènes plus ou moins réversibles, impliquant des interactions entre le pesticide et les constituants organiques et minéraux du sol (Barriuso, 1994).

La dissipation des pesticides peut être évaluée par des techniques d'extraction. En effet, l'extraction constitue une étape préliminaire pour pouvoir identifier et doser les résidus de pesticides liés avec le sol. Elle peut également renseigner sur l'état des pesticides dans le sol. Par exemple, certaines procédures d'extraction peuvent permettre d'estimer une fraction disponible ou biodisponible, potentiellement disponible ou non disponible. En conséquence, des estimations directes de la disponibilité sont réalisables en reliant l'extractibilité des résidus de pesticides avec leur susceptibilité à passer ou à se trouver dans la solution de sol. C'est ainsi que les résidus de pesticides extractibles par des solutions aqueuses seront considérés comme facilement disponibles et les résidus extractibles par des solvants organiques tels que le méthanol seront considérés comme potentiellement disponibles. Ceux des résidus qui ne font partie, ni de l'une ou l'autre catégorie, sont classés non extractibles ou "résidus liés".

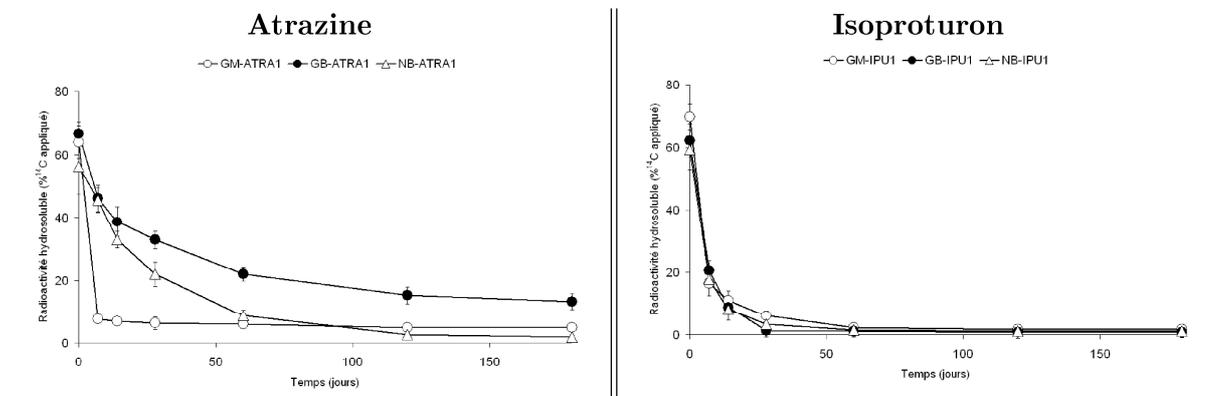
Les objectifs de ce chapitre sont *i* d'estimer directement l'évolution de la disponibilité des pesticides; *ii* de déterminer la nature chimique des résidus extraits par chromatographie, tout en reliant la baisse de leur disponibilité aux cinétiques de dissipation des pesticides ou de dégradation de leurs résidus; et *iii* de modéliser les cinétiques caractérisant l'évolution de la disponibilité afin d'en obtenir les paramètres descriptifs. La démarche expérimentale consiste à effectuer trois applications répétées de deux pesticides, l'atrazine et l'isoproturon, dont les noyaux, triazinique et phényle, respectifs sont marqués au  $^{14}\text{C}$ , sur trois sols incubés en conditions contrôlées de laboratoire. L'extraction des résidus de pesticides à l'eau et au méthanol permet d'estimer les cinétiques d'évolution des résidus extractibles dans les différents sols. Le piégeage et la quantification du  $^{14}\text{CO}_2$  dégagé au cours de la minéralisation des pesticides permettent de suivre l'évolution de la part des pesticides totalement dégradée ou minéralisée; l'analyse de la nature chimique des résidus extraits par chromatographie permet, d'une part de comparer le profil métabolique en fonction de l'extractant, du sol ou du nombre d'applications de pesticide; et d'autre part, d'étudier les modifications éventuellement dues aux applications répétées. Dans le même

temps, la stabilisation des résidus de pesticides sous forme de résidus non extractibles est étudiée, ainsi que la quantité de ces résidus liés éventuellement remobilisables ou libérés.

## B Extractibilité des pesticides et estimation des cinétiques de dégradation en conditions contrôlées de laboratoire

### B1 - Évolution de la disponibilité des résidus de pesticides hydrosolubles au cours des incubations

L'évolution des résidus hydrosolubles lors d'une seule application de  $^{14}\text{C}$ -atrazine et de  $^{14}\text{C}$ -isoproturon est donnée à travers les cinétiques représentées dans la figure 3.1. On observe que dans le sol GM, les taux de résidus hydrosolubles d'atrazine diminuent très rapidement avec le temps après la première application : initialement 64% de la radioactivité appliquée est hydrosoluble, mais elle ne représente plus que 8% après 7 j. Dans les autres sols GB et NB, les taux de résidus hydrosolubles d'atrazine diminuent moins rapidement avec le temps, en particulier dans le sol GB. À la fin des incubations, 13 et 2% de la radioactivité initiale restent hydrosolubles dans les sols GB et NB, respectivement. En ce qui concerne l'isoproturon, le comportement des résidus hydrosolubles dans les trois sols est très proche après la première application, avec une diminution rapide en début d'incubation et un taux similaire autour de 2% de la radioactivité initiale en fin d'incubation.



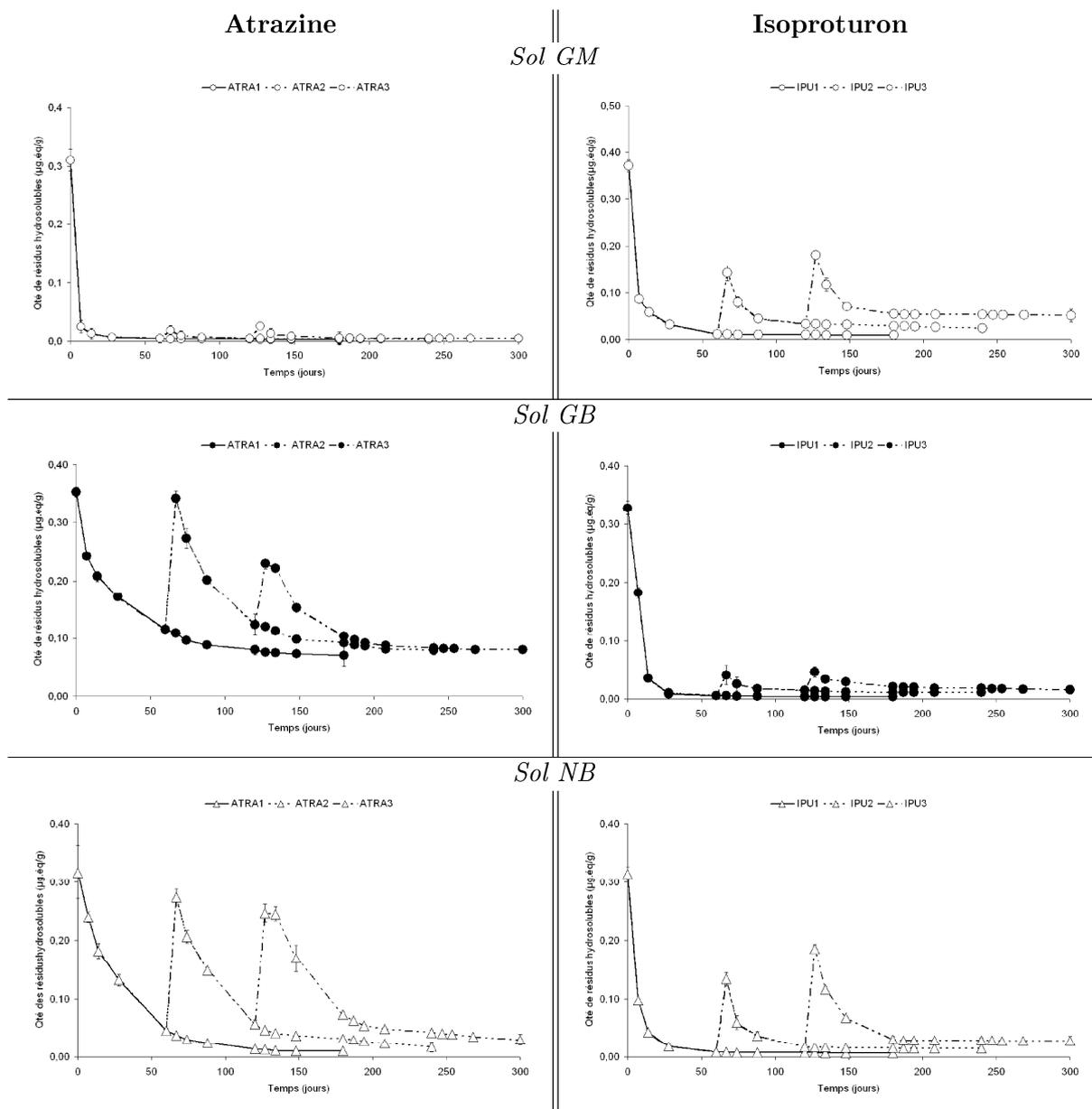


FIG. 3.2 – Évolution des résidus hydrosolubles au cours des trois applications répétées d'atrazine et d'isoproturon dans les sols GM, GB et NB (la radioactivité hydrosoluble est exprimée en masse équivalent de pesticide en fonction de l'activité spécifique du pesticide apporté - les indices 1, 2 et 3 désignent les 1<sup>re</sup>, 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> applications - les barres d'erreurs correspondent à l'écart-type des valeurs mesurées).

Lors des applications répétées d'atrazine, l'évolution des résidus hydrosolubles dépend du sol considéré (fig. 3.2). Dans le sol GM, les résidus hydrosolubles d'atrazine continuent à disparaître rapidement. Dans les sols GB et NB, la disparition des résidus hydrosolubles est moins rapide, les taux étant plus élevés en fin d'incubation dans le sol GB que dans le sol NB, d'une part ; d'autre part, il y a une augmentation relative des taux de résidus hydrosolubles en fin d'incubation avec le nombre d'applications d'atrazine. Mais dans chaque sol et pour chaque application d'atrazine,

les cinétiques d'évolution des résidus hydrosolubles d'atrazine sont semblables. En revanche, dans le cas des applications répétées d'isoproturon, l'évolution des résidus hydrosolubles est relativement affectée par le nombre d'applications dans le cas des sols GM et NB ; par contre pour le sol GB, la plupart des résidus hydrosolubles disparaît au cours des deux premières semaines d'incubation après la deuxième et la troisième applications.

## B2 - Évolution des concentrations des résidus extraits au méthanol au cours des incubations

Après la première application d'atrazine et d'isoproturon dans les trois sols, l'évolution des concentrations des résidus extraits au méthanol (fig. 3.3) rappelle les cinétiques des résidus hydrosolubles. Une diminution rapide des concentrations pendant le premier mois d'incubation est observée. Pour l'atrazine, les taux de résidus méthanoliques les plus élevés sont retrouvés dans le sol GB. Pour l'isoproturon à la fin des incubations, les taux de résidus extraits au méthanol sont très faibles, sans différence significative entre les trois sols (entre 5 et 1% de la radioactivité initiale).

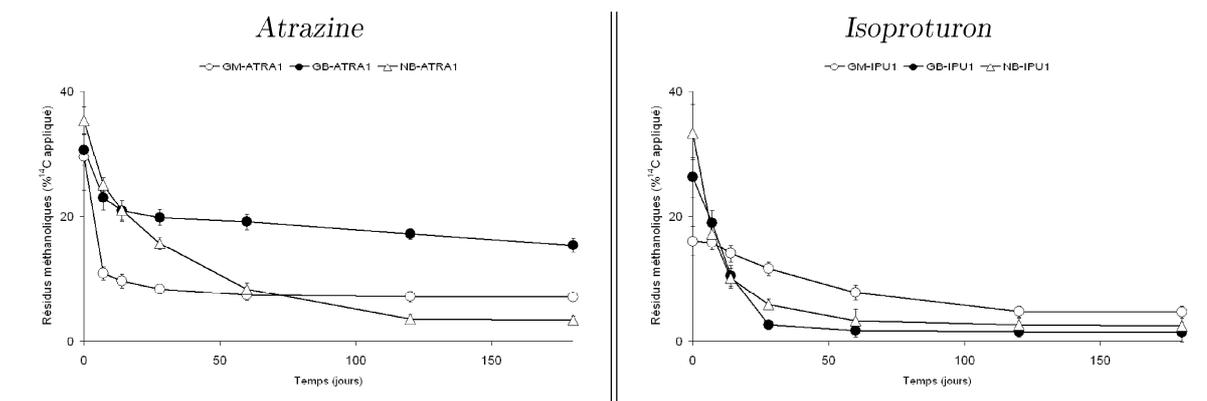


FIG. 3.3 – Évolution des résidus extraits au méthanol après la première application d'atrazine et d'isoproturon dans les sols GM, GB et NB (les résultats sont exprimés en pourcentage de la radioactivité initiale appliquée - les barres d'erreurs correspondent à l'écart-type des valeurs mesurées).

Les applications répétées des deux herbicides tendent à induire la disparition rapide des résidus méthanoliques pendant les phases initiales des incubations (fig. 3.4). Pour l'atrazine, les variations des vitesses de dégradation vont dans le même sens que celles observées pour les

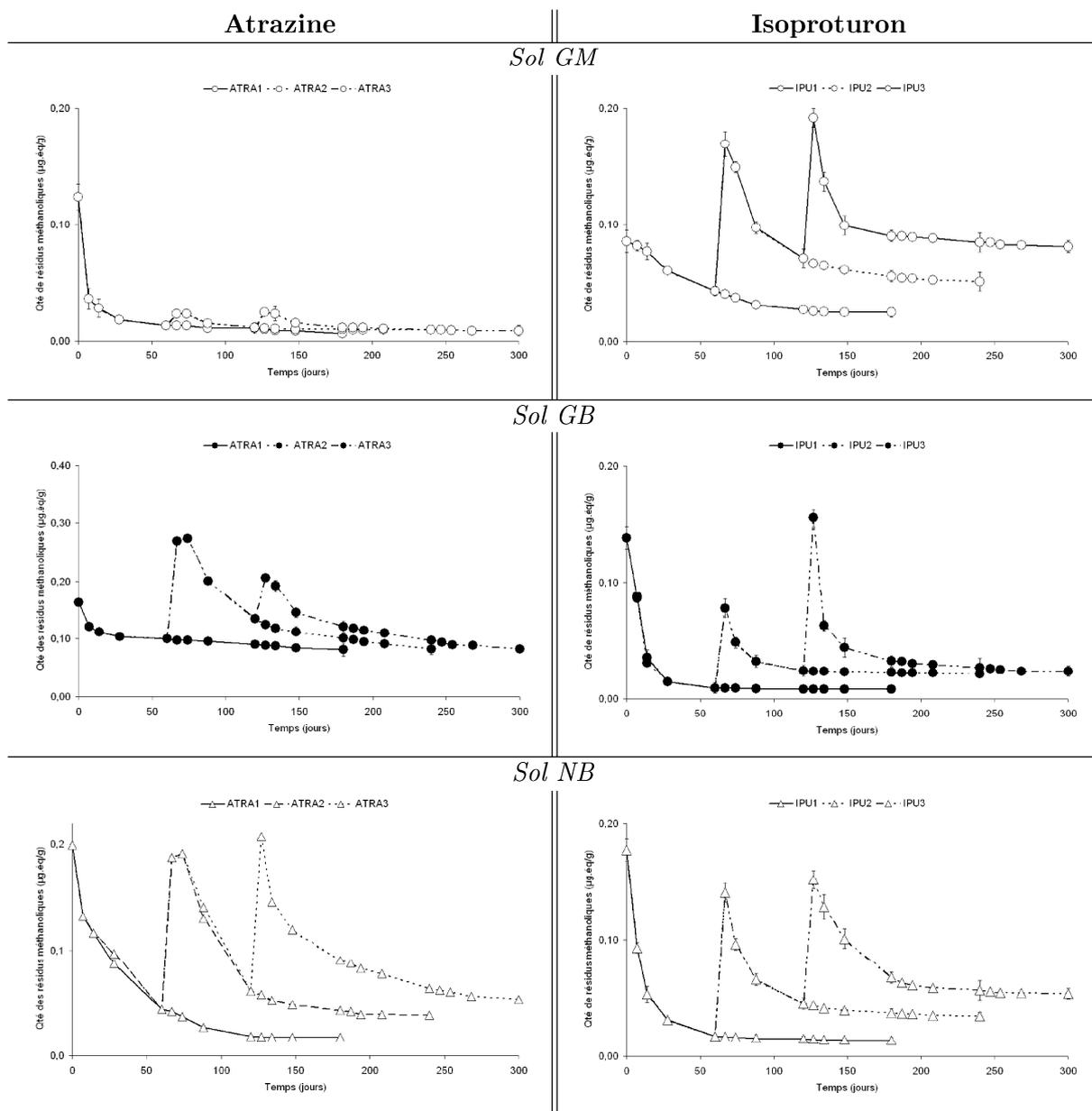


FIG. 3.4 – Évolution des résidus extraits au méthanol au cours des trois applications répétées d'atrazine et d'isoproturon dans les sols GM, GB et NB (la radioactivité hydrosoluble est exprimée en masse équivalent de pesticide en fonction de l'activité spécifique du pesticide apporté - les indices 1, 2 et 3 désignent les 1<sup>re</sup>, 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> applications - les barres d'erreurs correspondent à l'écart-type des valeurs mesurées).

résidus hydrosolubles. Dans les phases initiales des incubations, les résidus méthanologiques représentent des proportions plus faibles que les résidus hydrosolubles. L'amplitude des variations des proportions des résidus méthanologiques au cours des incubations est moins prononcée que celle des résidus hydrosolubles. On observe une préservation plus importante des proportions des résidus extractibles tout le long des incubations dans le sol GB. Pour l'isoproturon, l'évolution des rési-

des extraits au méthanol dépend du nombre d'applications dans les trois sols ; les taux de résidus extraits augmentant avec le nombre d'applications pour des durées d'incubation équivalente.

### **B3 - Nature chimique des résidus extraits**

Les résultats des analyses chromatographiques des extraits hydrosolubles et méthanoliques sont présentés dans les figures 3.5, 3.6 et 3.7 pour l'atrazine et dans les figures 3.8, 3.9 et 3.10 pour l'isoproturon.

#### **1 - Analyse des résidus d'atrazine :**

Dans le sol GM (fig. 3.5), la proportion d'atrazine dans les résidus hydrosolubles diminue entre 0 et 14 *j* d'incubation, temps au-delà duquel on ne retrouve plus de l'atrazine dans les extraits aqueux. La proportion de dérivés déalkylés (DEDIA, DIA et DEA) augmente et devient majoritaire à partir de 14 *j* ; alors que des proportions importantes de résidus non identifiés apparaissent à partir de 28 *j* (50% de la radioactivité hydrosoluble) et deviennent majoritaires jusqu'à la fin des incubations. L'atrazine reste présente dans les extraits au méthanol tout au long des incubations, mais ses quantités diminuent progressivement dans les résidus extraits, pour ne représenter que 5% de la radioactivité méthanolique à la fin des incubations. En revanche, les dérivés déalkylés apparaissent 7 *j* après l'application d'atrazine, leur proportion augmentant durant les incubations pour représenter 40% de la radioactivité extraite au méthanol à la fin des incubations. Les proportions des résidus hydroxylés (les taux de la OH-ATRA étant les plus importants) et des résidus non identifiés se stabilisent entre 60 *j* et la fin des incubations (14 et 29% de la radioactivité des extraits méthanoliques, respectivement).

Après la deuxième application d'atrazine dans le sol GM, dans les extraits méthanoliques, l'atrazine reste le composé majoritaire, ses proportions diminuant du début à la fin des incubations, de 100 à 43% de la radioactivité extraite, à 7 et 180 *j* d'incubation respectivement.

Le profil chromatographique des extraits dans le sol GM après la troisième application d'atrazine est semblable à celui obtenu après la première application.

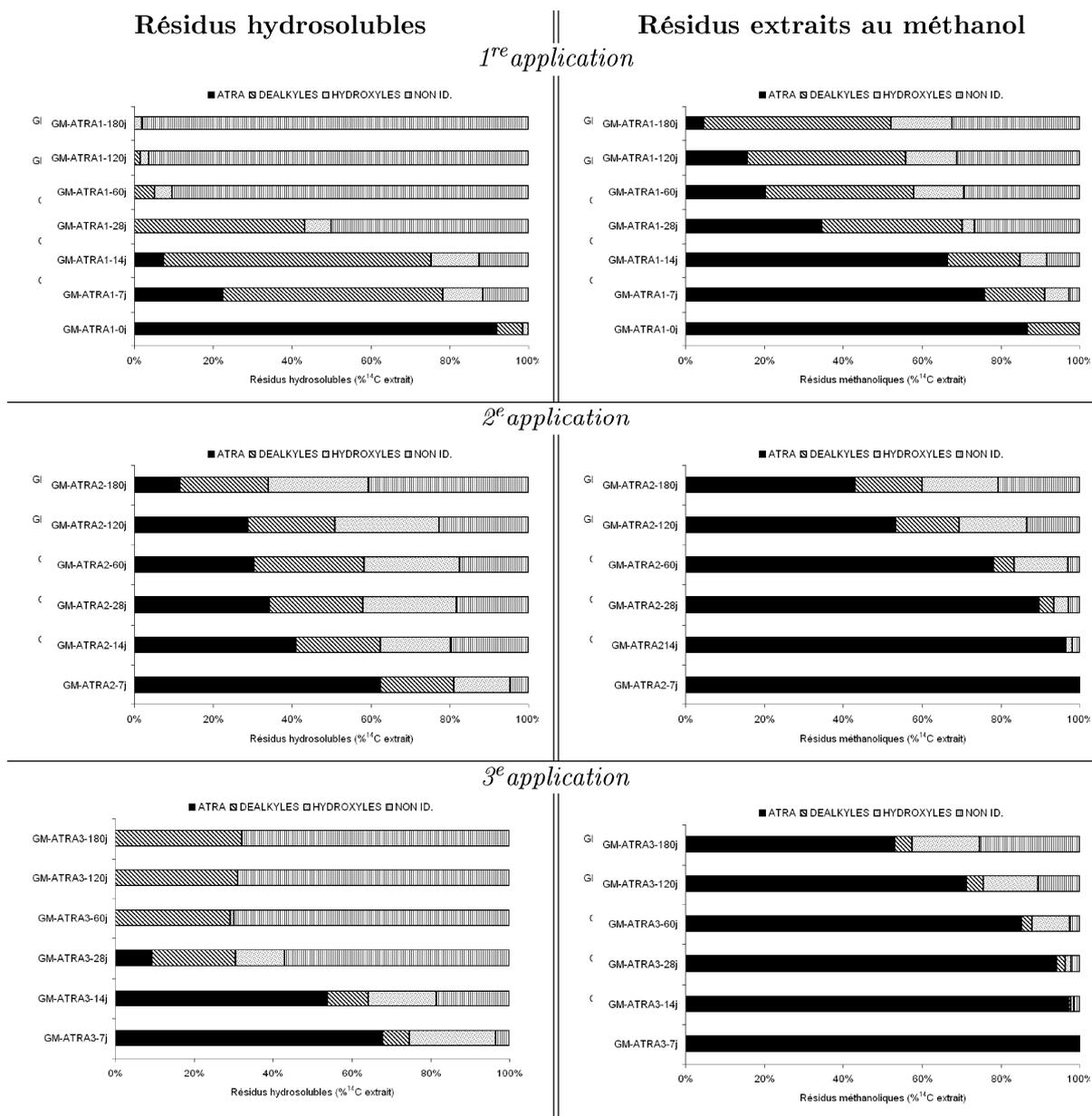


FIG. 3.5 – Caractérisation chromatographique de la nature chimique des résidus <sup>14</sup>C (substance active et métabolites) des extraits aqueux et méthanoliques obtenus au cours des incubations du sol GM après 3 applications d'atrazine (Les résultats sont exprimés en pourcentage de la radioactivité totale des extraits - Les indices 1, 2 et 3 désignent la 1<sup>re</sup>, 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> application d'atrazine (ATRA)).

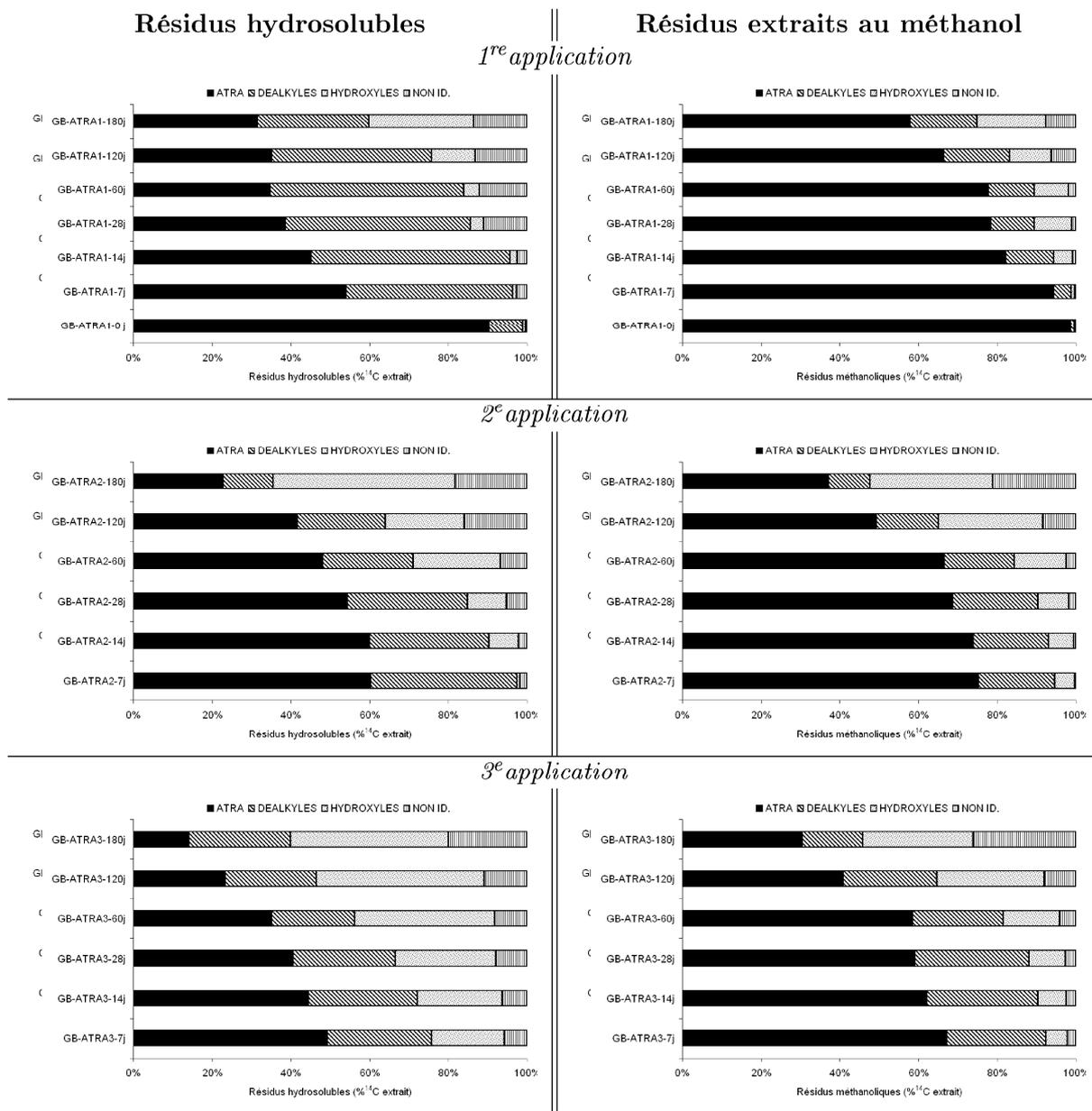


FIG. 3.6 – Caractérisation chromatographique de la nature chimique des résidus <sup>14</sup>C (substance active et métabolites) des extraits aqueux et méthanoliques obtenus au cours des incubations du sol GB après 3 applications d'atrazine (Les résultats sont exprimés en pourcentage de la radioactivité totale des extraits - Les indices 1, 2 et 3 désignent la 1<sup>re</sup>, 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> application d'atrazine (ATRA)).

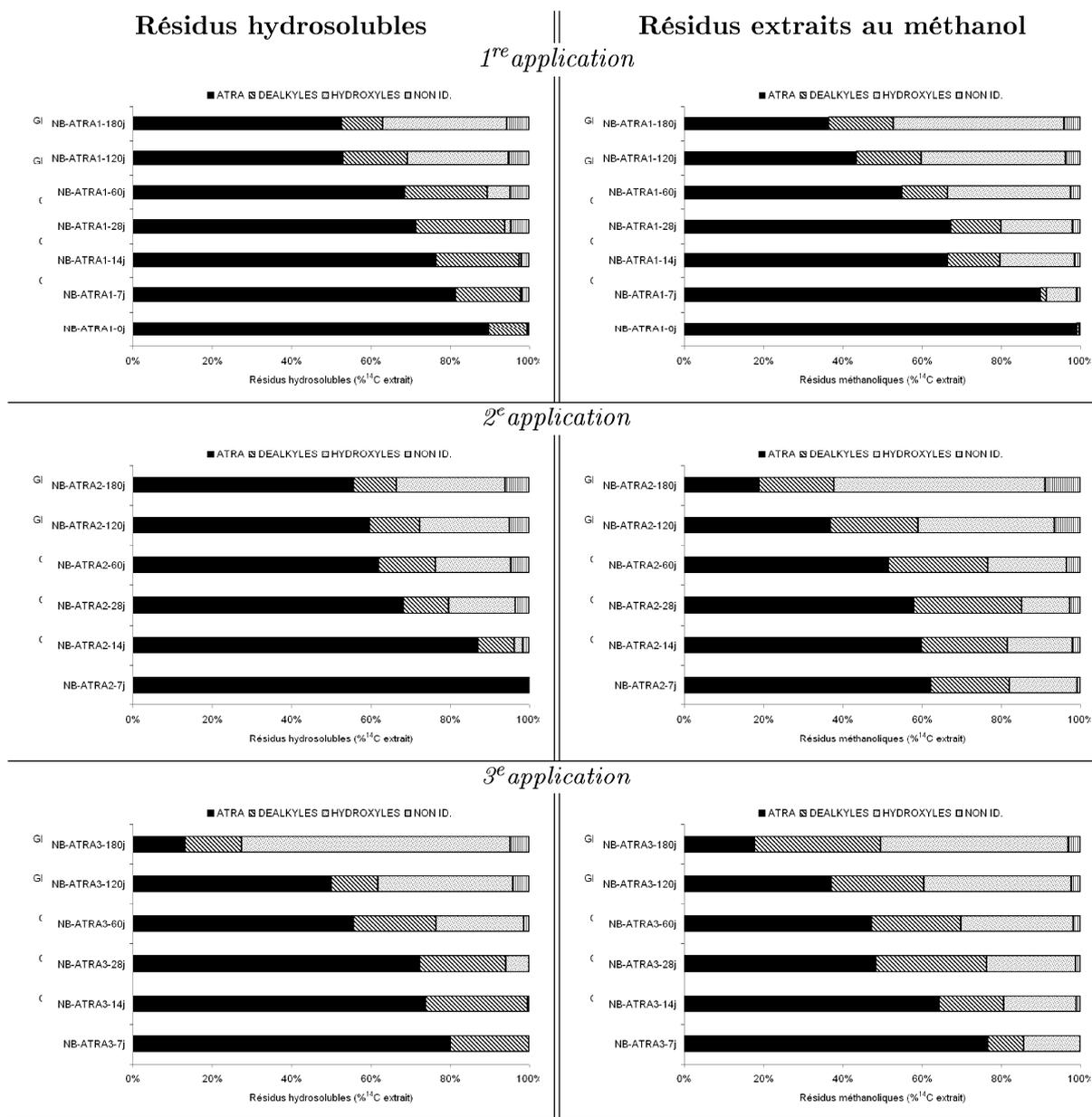


FIG. 3.7 – Caractérisation chromatographique de la nature chimique des résidus  $^{14}\text{C}$  (substance active et métabolites) des extraits aqueux et méthanoliques obtenus au cours des incubations du sol NB après 3 applications d'atrazine (Les résultats sont exprimés en pourcentage de la radioactivité totale des extraits - Les indices 1, 2 et 3 désignent la 1<sup>re</sup>, 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> application d'atrazine (ATRA)).

Dans le sol GB, après la première application (fig. 3.6), la proportion d'atrazine dans les extraits aqueux diminue pendant les quatorze premiers jours, puis elle demeure stable jusqu'à la fin des incubations (32% de la radioactivité hydrosoluble). Les dérivés déalkylés, en particulier la DEA, apparaissent en fortes proportions à partir de 7 *j* d'incubation (28% de la radioactivité extraite à la fin des incubations). Parallèlement, la proportion de dérivés hydroxylés (OH-ATRA en particulier), augmente jusqu'à 27% de la radioactivité hydrosoluble à la fin des incubations. La proportion des dérivés non identifiés reste stable entre 28 *j* et la fin des incubations, représentant 13% de la radioactivité hydrosoluble. Dans les extraits au méthanol, on retrouve les mêmes dérivés à des proportions plus petites, mais l'atrazine est le composé majoritaire à chaque stade d'extraction, sa proportion variant de 99 à 58% de la radioactivité extraite du début à la fin des incubations.

Après la deuxième application d'atrazine dans le sol GB, les proportions d'atrazine extraite à l'eau ou au méthanol sont inférieures à celles extraites après la première application, à période d'incubation équivalente. Néanmoins, les quantités de OHATRA augmentent entre 7 *j* et la fin des incubations de 1 et 57% de la radioactivité hydrosoluble. En revanche, on observe une lente diminution des résidus déalkylés, dont les proportions, dans le même temps, passent de 37 à 16% des extraits aqueux. Néanmoins, le profil des extraits méthanoliques est le même que celui des extraits hydrosolubles.

La troisième application d'atrazine sur le sol GB fait encore diminuer la proportion d'atrazine, tant dans les extraits aqueux que dans les extraits méthanoliques. L'atrazine ne représente que 14% de la radioactivité hydrosoluble à la fin des incubations. Dans les extraits aqueux, les proportions de dérivés hydroxylés augmentent avec le temps, devenant majoritaires et représentant 40% des extraits hydrosolubles à la fin des incubations. Dans les extraits méthanoliques, l'atrazine est le composé majoritaire (49% de la radioactivité méthanolique à la fin des incubations). La proportion des dérivés déalkylés représente respectivement 13 et 26% de la radioactivité des extraits au début et à la fin des incubations; la proportion de dérivés hydroxylés augmente également, passant de 5% des résidus extraits au méthanol au début des incubations à 28% après 180 *j*.

Dans le sol NB (fig. 3.7), après la première application d'atrazine, les dérivés déalkylés apparaissent dans les extraits aqueux à partir de 7 *j* d'incubation et représentent 40% de la radioacti-

tivité hydrosoluble à la fin des incubations. Dans les résidus extraits au méthanol, la proportion de dérivés hydroxylés augmente progressivement pour atteindre 56% de la radioactivité extraite à la fin des incubations. Les dérivés déalkylés ne dépassent pas 20% de la radioactivité méthanolique. Les profils chromatographiques des extraits hydrosolubles et méthanoliques ne sont pas très modifiés au cours des applications répétées. La diversité métabolique est conservée dans tous les extraits tout le long des incubations. Les proportions d'atrazine diminuent plus rapidement en début des incubations. En fin d'incubation, les résidus d'atrazine sont minoritaires, tant dans les extraits aqueux que dans les extraits méthanoliques, laissant la place à une proportion importante de résidus hydroxylés.

## 2 - Analyse des résidus d'isoproturon :

En ce qui concerne l'isoproturon, globalement, les profils métabolites ne sont pas modifiés dans le sol GM aussi bien pour les extraits aqueux que pour les extraits méthanoliques, quelque soit le nombre d'applications (fig. 3.8). Les extraits aqueux ne contiennent de l'isoproturon que durant les 14 ou 28 *j* d'incubation après les première, deuxième ou troisième applications. Les dérivés non identifiés de la première application deviennent majoritaires dans les extraits aqueux entre 14 *j* et la fin des incubations, avec respectivement 70 et 82% de la radioactivité hydrosoluble. Ces résidus non identifiés sont majoritaires après les deuxième et troisième applications entre 7 *j* et la fin des incubations, où leurs proportions sont respectivement de 80 et 91% de la radioactivité hydrosoluble. Les extraits méthanoliques présentent le même profil métabolique que les extraits aqueux, mais on y observe, pour chaque application et pour une même période d'incubation, de plus grandes quantités d'isoproturon. Les dérivés IPU-MONODEMETHYL et IPU-DIDEMETHYL sont significativement présents dans les extraits méthanoliques entre 7 *j* et la fin des incubations des trois applications.

Dans le sol GB, les extraits aqueux présentent des profils métaboliques semblables après chacune des trois applications d'isoproturon (fig.3.9). Seules les proportions des résidus sont différentes dans les deux types d'extraits. Cependant, à des temps d'incubation équivalents, on observe, lorsque le nombre d'applications augmente, une augmentation des proportions d'isoproturon et de résidus non identifiés dans les extraits hydrosolubles. Dans les résidus méthanoliques, les applications répétées provoquent l'augmentation des proportions d'isoproturon et la diminution des dérivés non identifiés. Globalement, dans tous les extraits, il y a une diminution de

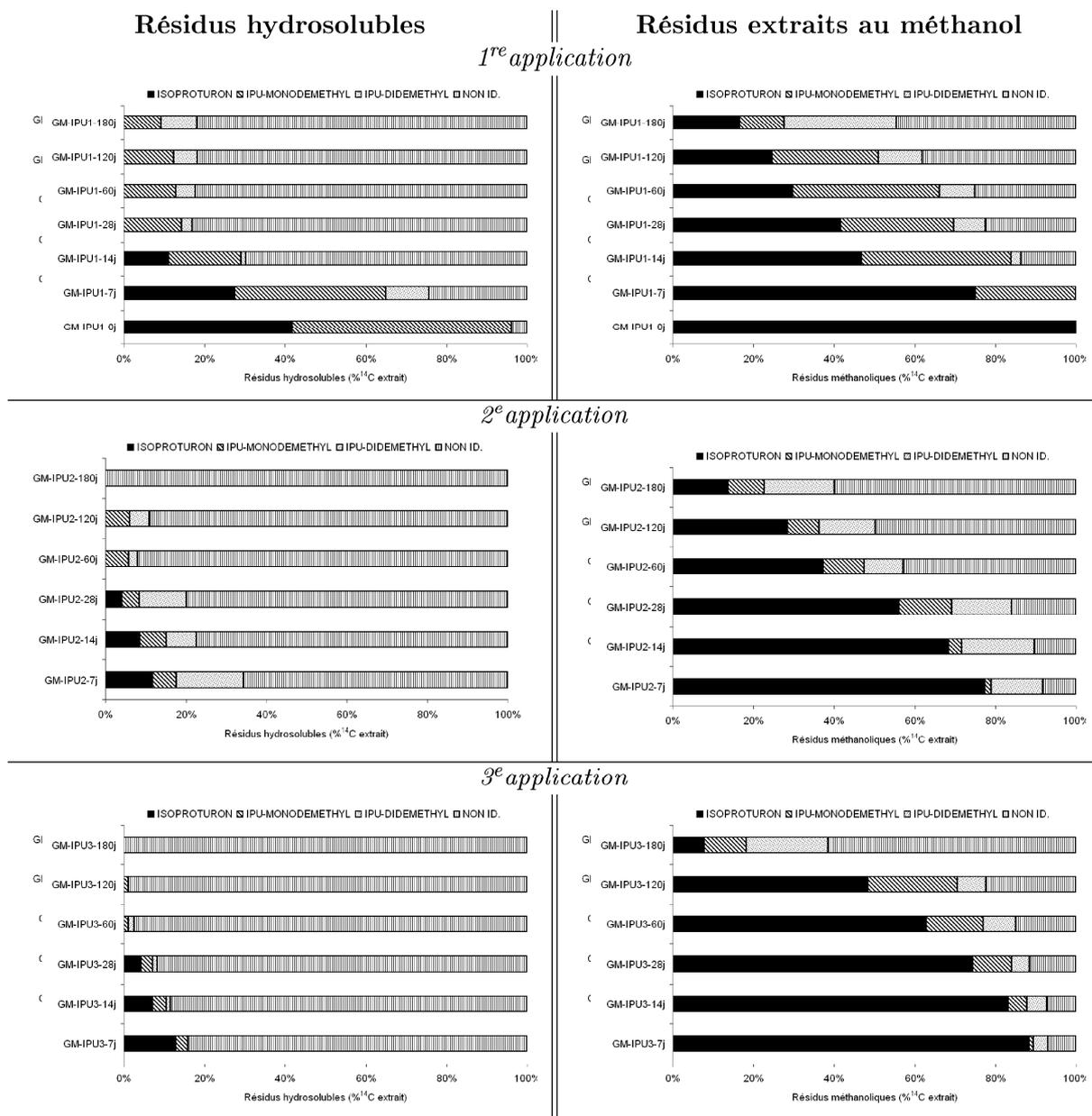


FIG. 3.8 – Caractérisation chromatographique de la nature chimique des résidus <sup>14</sup>C (substance active et métabolites) des extraits aqueux et méthanoliques obtenus au cours des incubations du sol GM après 3 applications d'isoproturon (Les résultats sont exprimés en pourcentage de la radioactivité totale des extraits - Les indices 1, 2 et 3 désignent la 1<sup>re</sup>, 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> application d'isoproturon (IPU)).

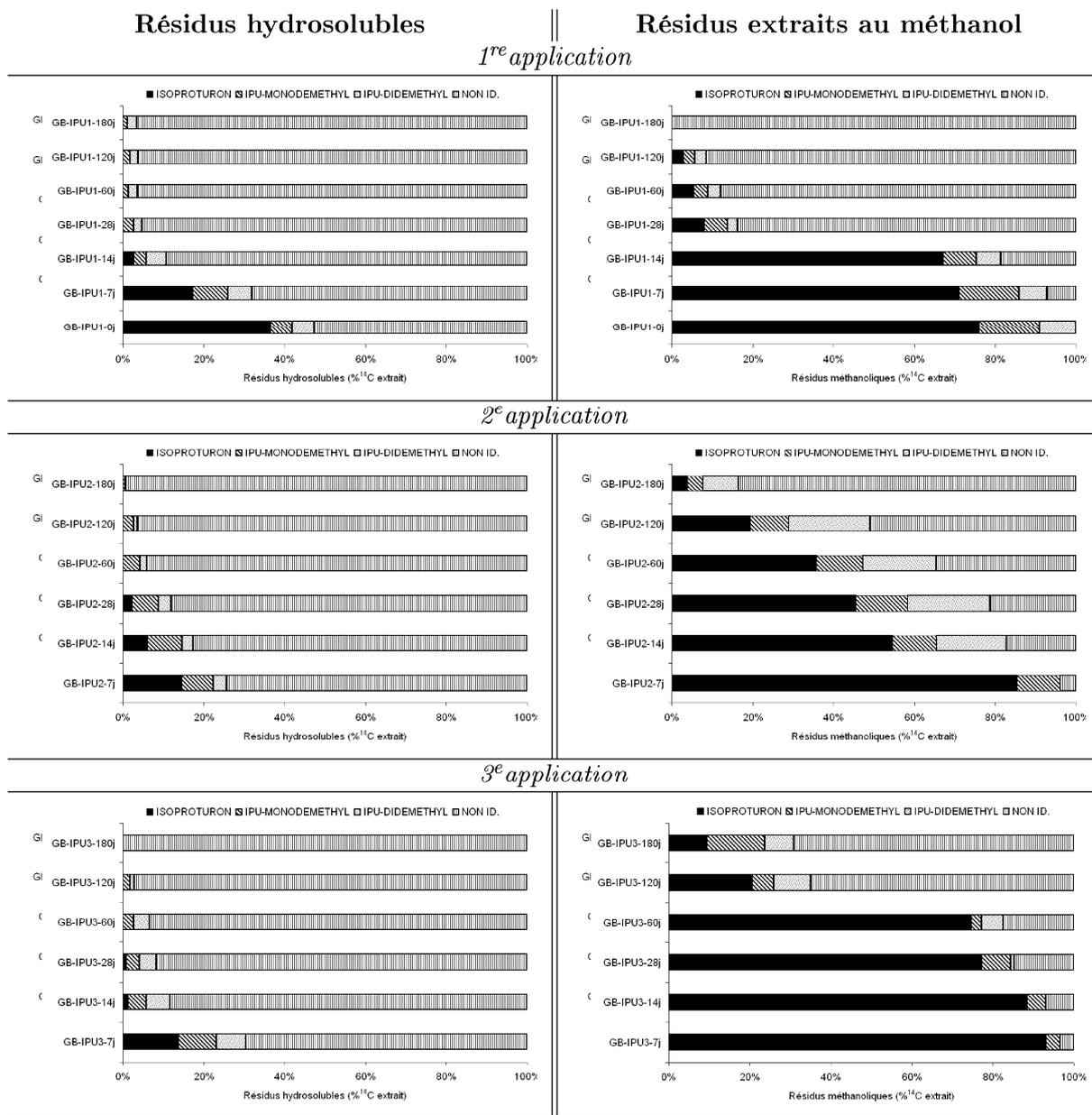


FIG. 3.9 – Caractérisation chromatographique de la nature chimique des résidus  $^{14}\text{C}$  (substance active et métabolites) des extraits aqueux et méthanoliques obtenus au cours des incubations du sol GB après 3 applications d'isoproturon (Les résultats sont exprimés en pourcentage de la radioactivité totale des extraits - Les indices 1, 2 et 3 désignent la 1<sup>re</sup>, 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> application d'isoproturon (IPU)).

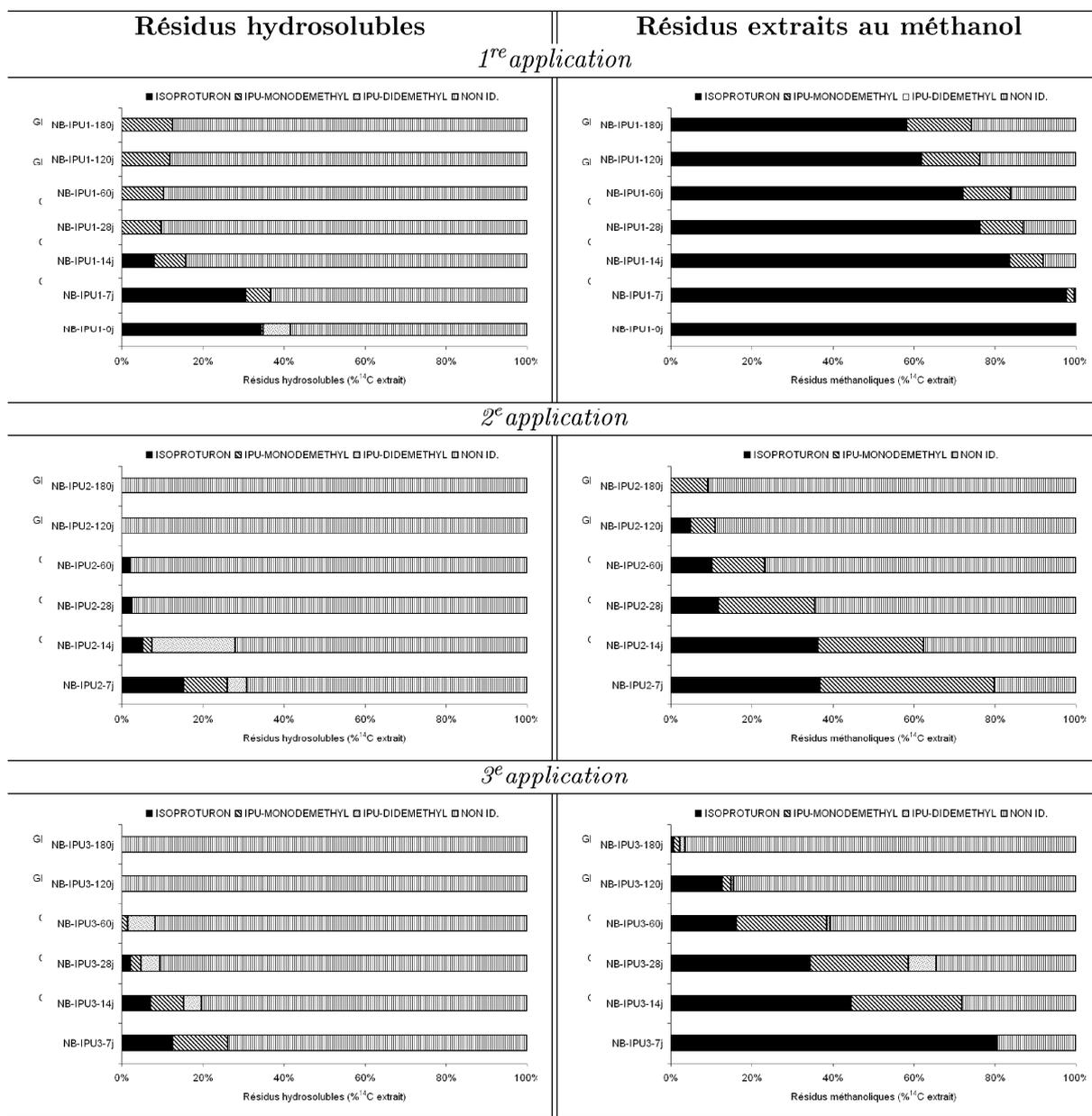


FIG. 3.10 – Caractérisation chromatographique de la nature chimique des résidus <sup>14</sup>C (substance active et métabolites) des extraits aqueux et méthanoliques obtenus au cours des incubations du sol NB après 3 applications d'isoproturon (Les résultats sont exprimés en pourcentage de la radioactivité totale des extraits - Les indices 1, 2 et 3 désignent la 1<sup>re</sup>, 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> application d'isoproturon (IPU)).

l'isoproturon avec le temps. Celui-ci devient absent après 14 ou 28 *j* d'incubation dans les extraits aqueux des trois applications consécutives. Il y a également diminution avec le temps des dérivés non identifiés et des deux dérivés IPU-MONODEMETHYL et IPU-DIDEMETHYL.

Les applications répétées d'isoproturon ne semblent pas induire de modifications du profil métabolique des extraits aqueux et méthanoliques dans le sol NB (fig. 3.10). L'isoproturon diminue dès le début des incubations et n'est plus présent dans les extraits hydrosolubles après 14, 60 ou 28 *j*, lors des incubations des 1<sup>re</sup>, 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> applications, respectivement. À chaque date d'extraction et pour chaque application, les résidus d'isoproturon non identifiés sont majoritaires du début à la fin des incubations, représentant 100% de la radioactivité extraite à l'eau, 180 *j* après les deuxième et troisième applications. De même, dans les extraits méthanoliques, l'isoproturon est présent durant toute la période d'incubation, mais sa proportion diminue avec le temps, passant de 100 à 58% de la radioactivité des extraits au méthanol entre le début et la fin des incubations de la première application ; et de 80 à 1% entre 7 *j* et la fin des incubations de la troisième application. Le dérivé IPU-MONDEMETHYL est présent dans tous les extraits méthanoliques entre 7 *j* et la fin des incubations. La proportion de résidus non identifiés augmente régulièrement avec le temps et devient majoritaire à partir de 60 *j* lors des incubations effectuées après les deuxième et troisième applications.

## C Cinétiques de minéralisation lors des applications répétées des pesticides

Les cinétiques de minéralisation cumulée obtenues au cours des expérimentations en conditions contrôlées de laboratoire renseignent sur la dégradation ultime des pesticides et permettent de mettre en évidence des activités plus ou moins spécifiques impliquées dans leur dégradation.

Dans cette partie, il s'agit d'utiliser les informations cinétiques sur la minéralisation pour analyser les effets des applications répétées sur la dissipation réelle de l'atrazine et de l'isoproturon appliqués sur les trois sols de caractéristiques physico-chimiques et biologiques différentes.

## C1 - Cinétiques de minéralisation après une seule application d'atrazine et d'isoproturon dans les trois sols

La figure 3.11 présente les cinétiques de minéralisation obtenues lors de l'incubation des trois sols après une première application d'atrazine et d'isoproturon. Dans le cas de l'atrazine, le taux et la vitesse de minéralisation les plus élevés se trouvent lors de l'incubation avec le sol GM, les moins élevés se trouvant lors de l'incubation du sol GB. En effet, la minéralisation cumulée dans le sol GM après quatorze jours atteint 62% de la radioactivité initiale et 72% à la fin des incubations. En contraste, c'est dans le sol GB, pédologiquement similaire à GM, que cette minéralisation est la moins élevée, avec un temps de latence de 7 *j*. Après 180 *j* d'incubation, la minéralisation cumulée dans le sol GB représente 25% de la radioactivité initiale. Le même type d'évolution est observé lors de la minéralisation de l'atrazine dans le sol NB, avec un taux final de minéralisation (46% de la radioactivité initiale) supérieur à celui du sol GB.

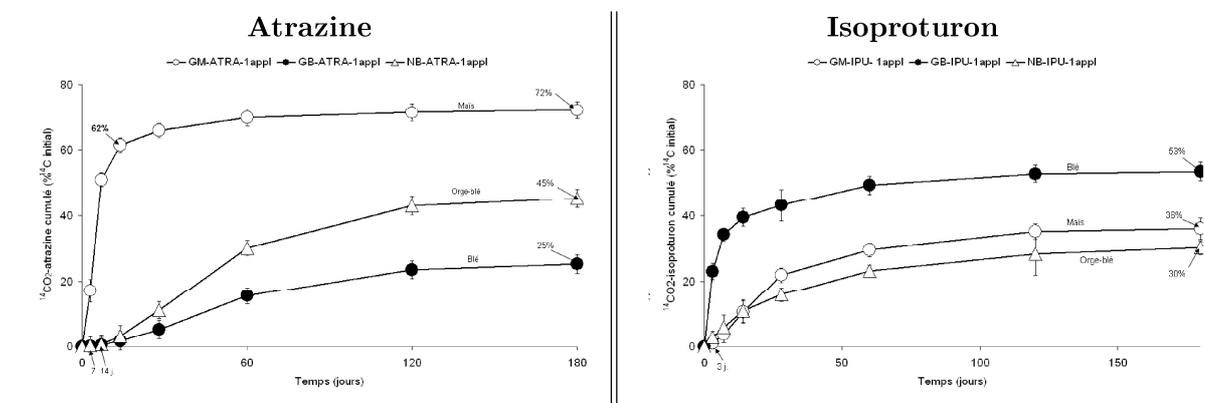


FIG. 3.11 – Minéralisation d'atrazine (ATRA) et d'isoproturon (IPU) dans les sols GM, GB et NB après une application. Les résultats sont exprimés en taux de  $^{14}\text{C} - \text{CO}_2$  minéralisé cumulé en fonction de l'apport initial de  $^{14}\text{C} - \text{atrazine}$  ou de  $^{14}\text{C} - \text{isoproturon}$  (les barres d'erreurs correspondent à l'écart-type des valeurs mesurées).

Dans le cas de l'isoproturon, le sol GB présente une cinétique de minéralisation particulière, avec une vitesse initiale de minéralisation très rapide et le taux minéralisé le plus élevé à la fin des incubations (53% de la radioactivité initiale). En revanche, les cinétiques de minéralisation de l'isoproturon dans les sols GM et NB présentent des vitesses initiales plus lentes, atteignant respectivement 36 et 30% du  $^{14}\text{C}$ -isoproturon appliqué.

## C2 - Cinétiques de minéralisation des pesticides lors des applications répétées

Les figures 3.12 et 3.13 montrent l'ensemble des cinétiques de minéralisation obtenues lors des incubations des trois sols après les trois applications successives d'atrazine et d'isoproturon. Pour un même sol, les cinétiques de minéralisation et leur évolution, en fonction du nombre d'apports, sont différentes pour l'un et l'autre pesticide. Dans les sols supposé adaptés, l'allure des cinétiques n'est pas modifiée par rapport à l'allure des cinétiques relatives à la première application, caractérisées par des vitesses de minéralisation rapide dès le début des incubations, suivi d'un palier de minéralisation. Par contre, dans les sols non adaptés, l'allure des cinétiques des deuxième et troisième applications tend à se rapprocher de celle des sols adaptés à l'atrazine (Sol GM) ou à l'isoproturon (sol GB). C'est dans le sol GM où les taux de minéralisation sont les plus élevés, quelque soit l'application. Ils demeurent relativement plus faibles dans le sol NB.

Dans le sol GM, les cinétiques de minéralisation de l'atrazine conservent la même allure lors des applications répétées (fig. 3.12 et 3.13). Les taux de minéralisation à la fin des incubations (72% de la radioactivité initiale) sont plus importants que ceux des deuxième et troisième applications qui sont sensiblement les mêmes (63 et 60%, respectivement). Contrairement aux sols GM et NB, les applications répétées accélèrent la minéralisation de l'atrazine dans le sol GB, les taux initiaux de minéralisation augmentant avec le nombre d'applications (figure 3.13). En revanche, on observe un effet inverse dans le sol NB, les taux de minéralisation diminuant lorsqu'augmente le nombre d'applications. Dans le cas de l'isoproturon, quelque soit le nombre d'applications, les taux de minéralisation sont les plus élevés dans le sol GB et les moins élevés dans le sol NB (fig. 3.13). On observe une faible diminution de la minéralisation dans le sol GB après la troisième application, le taux de minéralisation atteint à la fin des incubations étant inférieur à ceux des deux premières applications (53, 51 et 42% de la radioactivité apportée lors des trois applications successives, respectivement). En revanche, dans le sol GM, les cinétiques de minéralisation ne dépendent pas du nombre d'applications, les taux de minéralisation à la fin des incubations étant relativement les mêmes pour les trois applications (38% de la radioactivité apportée lors de chaque application). Dans le sol NB les taux de minéralisation diminuent avec le nombre d'applications, passant de respectivement 30 à 17% de la radioactivité apportée de la première à la troisième application.

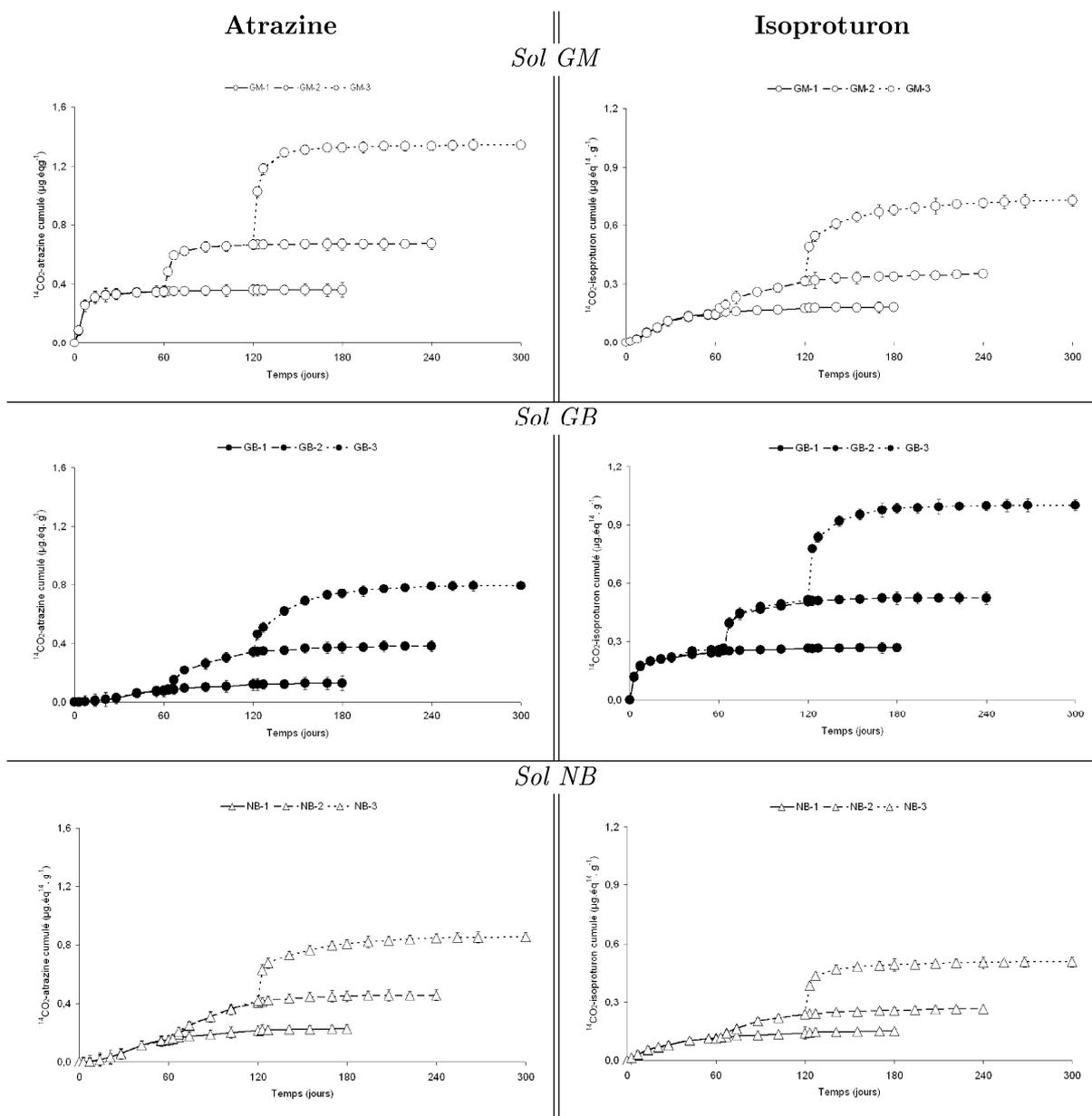


FIG. 3.12 Cinétiques de minéralisation d'atrazine et d'isoproturon après trois applications dans les sols GM, GB et NB (les résultats sont exprimés en quantités équivalent d'atrazine ou d'isoproturon ( $\mu\text{g eq. g}^{-1}$ ) calculées à partir de la radioactivité minéralisée en fonction de la radioactivité spécifique des herbicides appliqués - les indices 1, 2 et 3 représentent les 1<sup>re</sup>, 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> applications de pesticides - les barres d'erreurs correspondent à l'écart-type des valeurs mesurées).

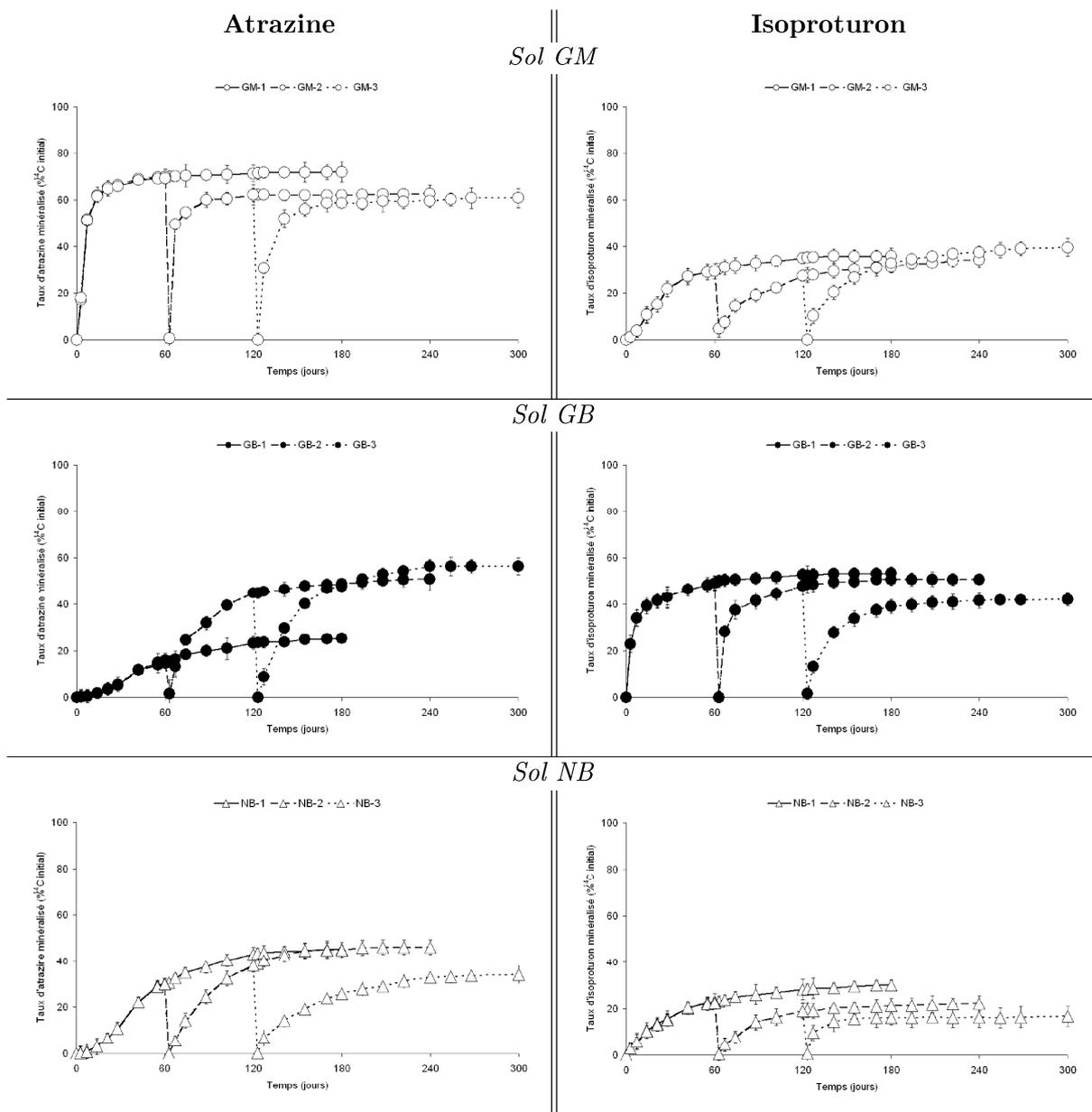


FIG. 3.13 – Cinétiques de minéralisation d'atrazine et d'isoproturon dans les sols GM, GB et NB après chacune des 3 applications successives (les taux de minéralisation d'une application (en % de  $^{14}\text{C}$  appliqué) ont été calculés en soustrayant à la quantité totale de  $^{14}\text{C}$  minéralisée, la part de radioactivité minéralisée lors des applications précédentes - les indices 1, 2 et 3 représentent les 1<sup>re</sup>, 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> applications de pesticides - les barres d'erreurs correspondent à l'écart-type des valeurs mesurées.

### C3 - Évolution des vitesses de minéralisation après trois applications successives

L'évolution des vitesses de minéralisation des pesticides dans les sols adaptés à la dégradation de l'atrazine ou de l'isoproturon ont une allure semblable lors des trois applications successives

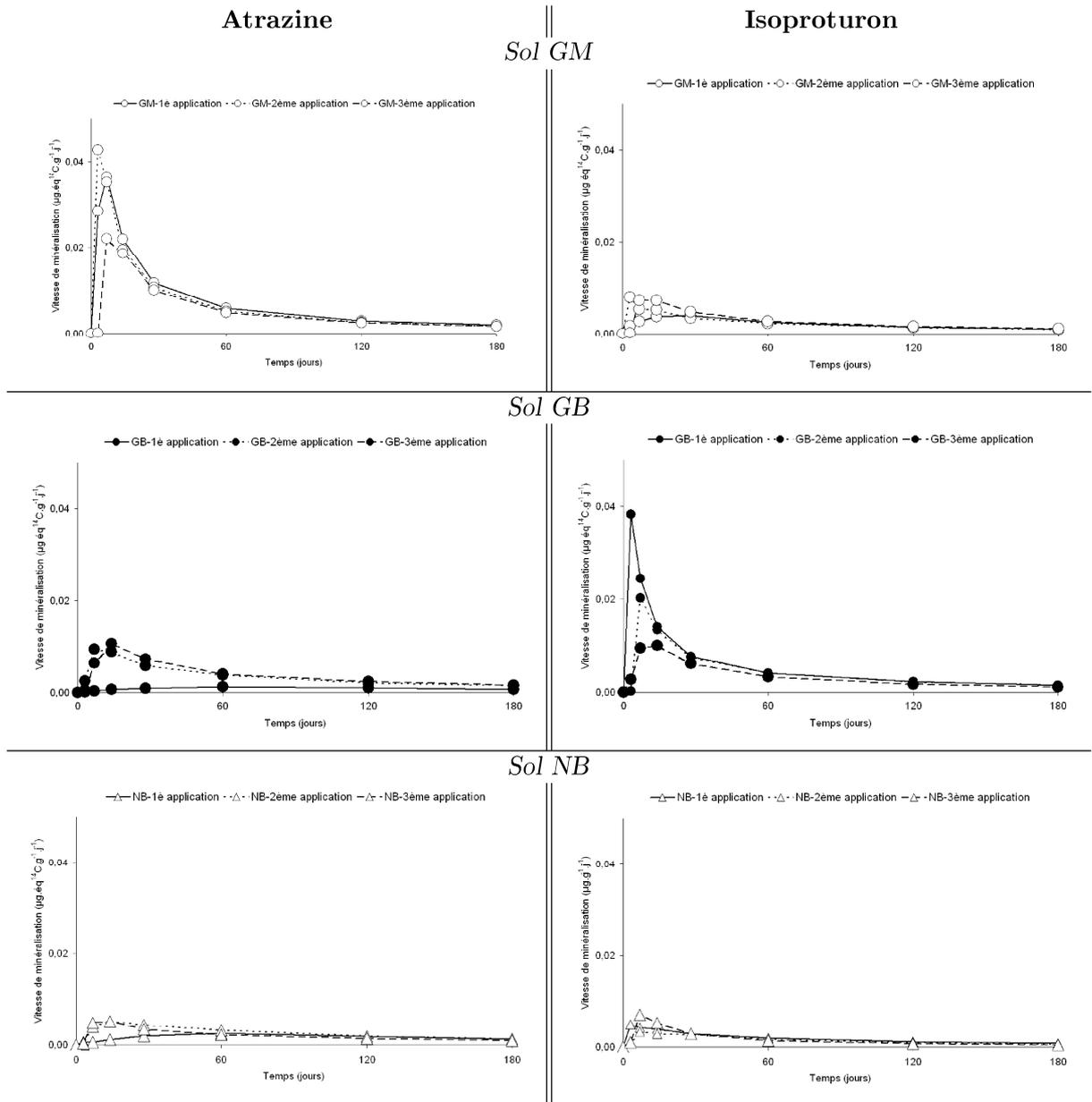


FIG. 3.14 – Évolution des vitesses de minéralisation cumulée d'atrazine (ATRA) et d'isoproturon (IPU) après trois applications successives dans les sols GM, GB et NB. Les résultats sont exprimés en quantités équivalent d'atrazine ou d'isoproturon minéralisé par gramme de sol et par jour ( $\mu\text{g} \cdot \text{eq} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$ ). Les indices 1, 2 et 3 représentent les 1<sup>re</sup>, 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> applications de pesticides - l'échelle de temps est initialisée après chaque application.

(fig. 3.14). En effet, dans les sols GM et GB possédant respectivement des microorganismes spécifiques à la dégradation de l'atrazine et de l'isoproturon, les vitesses initiales de minéralisation sont très élevées, les maxima ( $0,035$  et  $0,038 \mu g.eq.g^{-1}.j^{-1}$ ) étant atteints  $3$  et  $7 j$  après la première application. La deuxième application successive d'atrazine entraîne, dans le sol GM, une augmentation de la vitesse initiale de minéralisation ( $0,043 \mu g.eq.g^{-1}.j^{-1}$ ) en même temps qu'une diminution du temps au bout duquel le maximum de cette vitesse est atteinte ( $3 j$ ), alors que la troisième application provoque un ralentissement de la minéralisation, la vitesse initiale, plus faible ( $0,005 \mu g.eq.g^{-1}.j^{-1}$ ) est à nouveau atteinte après  $7 j$ , et les taux de minéralisation restent semblables à ceux atteints lors de la deuxième application d'atrazine (fig. 3.13 et 3.14). Par contre dans le sol GB, la vitesse initiale de minéralisation de l'isoproturon diminue régulièrement avec les applications répétées. La vitesse maximale ( $0,038 \mu g.eq.g^{-1}.j^{-1}$ ) est atteinte  $3 j$  après la première application ; alors qu'après la troisième application, elle est atteinte après  $14 j$  d'incubation, mais reste moins élevée ( $0,01 \mu g.eq.g^{-1}.j^{-1}$ ).

En comparant les vitesses de minéralisation d'une substance active dans les trois sols après chaque application, on observe qu'à partir d'un temps qui est fonction de la substance active, la vitesse de minéralisation de l'atrazine ou de l'isoproturon est comparable dans les trois sols, les cinétiques des vitesses de minéralisation se superposant à partir d'une durée qui est fonction du sol et évoluant ensemble jusqu' à la fin des incubations.

## D Stabilisation des pesticides sous forme de résidus non extractibles

### D1 - Évolution des résidus non extractibles d'atrazine et d'isoproturon

L'évolution des teneurs des résidus non extractibles dans les sols a été suivie lors des incubations effectuées après chacune des trois applications consécutives d'atrazine et d'isoproturon sur les sols GM, GB et NB. Les cinétiques correspondantes sont présentées dans les figures 3.15 et 3.16. Après un apport d'atrazine et d'isoproturon dans les trois sols, les taux de résidus non extractibles les plus élevés se retrouvent dans le sol NB pour les deux pesticides ; les taux les plus faibles se retrouvent dans le sol GM, pour ce qui concerne l'atrazine, et dans le sol GB,

pour ce qui concerne l'isoproturon (fig. 3.15). Dans le sol GM ayant une forte capacité à minéraliser l'atrazine, 40% de la radioactivité appliquée devient rapidement non extractible durant les sept premiers jours ; par la suite la proportion de résidus non extractibles diminue jusqu'à 60 j d'incubation puis ne change plus significativement jusqu'à la fin des incubations. En revanche, dans les sols GB et NB, la formation des résidus non extractibles d'atrazine est plus progressive jusqu'à un palier au-delà de 100 j d'incubation. Dans le cas de l'isoproturon, on ne retrouve pas ce caractère progressif de formation des résidus non extractibles observé avec l'atrazine. Les résidus non extractibles d'isoproturon se forment rapidement pour atteindre un palier après 28 j d'incubation.

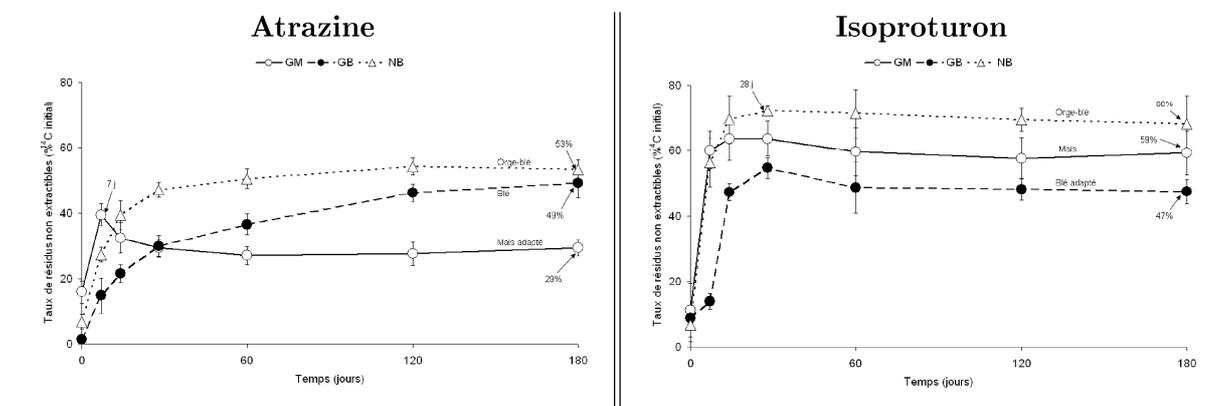


FIG. 3.15 – Évolution des résidus non extractibles dans les sols GM, GB et NB après une application d'atrazine et d'isoproturon (les taux de résidus non extractibles sont exprimés en pourcentage par rapport à la radioactivité appliquée - les barres d'erreurs correspondent à l'écart-type des valeurs mesurées).

L'évolution de la concentration des résidus non extractibles dans les trois sols lors des applications répétées est représentée par les cinétiques de la figure 3.16. On constate que les applications répétées d'atrazine et d'isoproturon induisent des effets différents en fonction des sols et du pesticide appliqué. D'une manière générale, il y a une augmentation progressive des concentrations de résidus non extractibles avec le nombre d'applications. Lors des applications répétées d'atrazine dans le sol GM, il n'y a pas de modification des cinétiques d'évolution des résidus non extractibles ; mais on observe une diminution relative des quantités des résidus non extractibles formés à la fin des incubations, de la première à la troisième application, passant respectivement de 0,16 à 0,08  $\mu\text{g} \cdot \text{eq} \cdot \text{g}^{-1}$ . Dans le sol GB, l'allure des cinétiques d'évolution des résidus non extractibles change lors des applications répétées. Dans la cinétique relative à la troisième application d'atra-

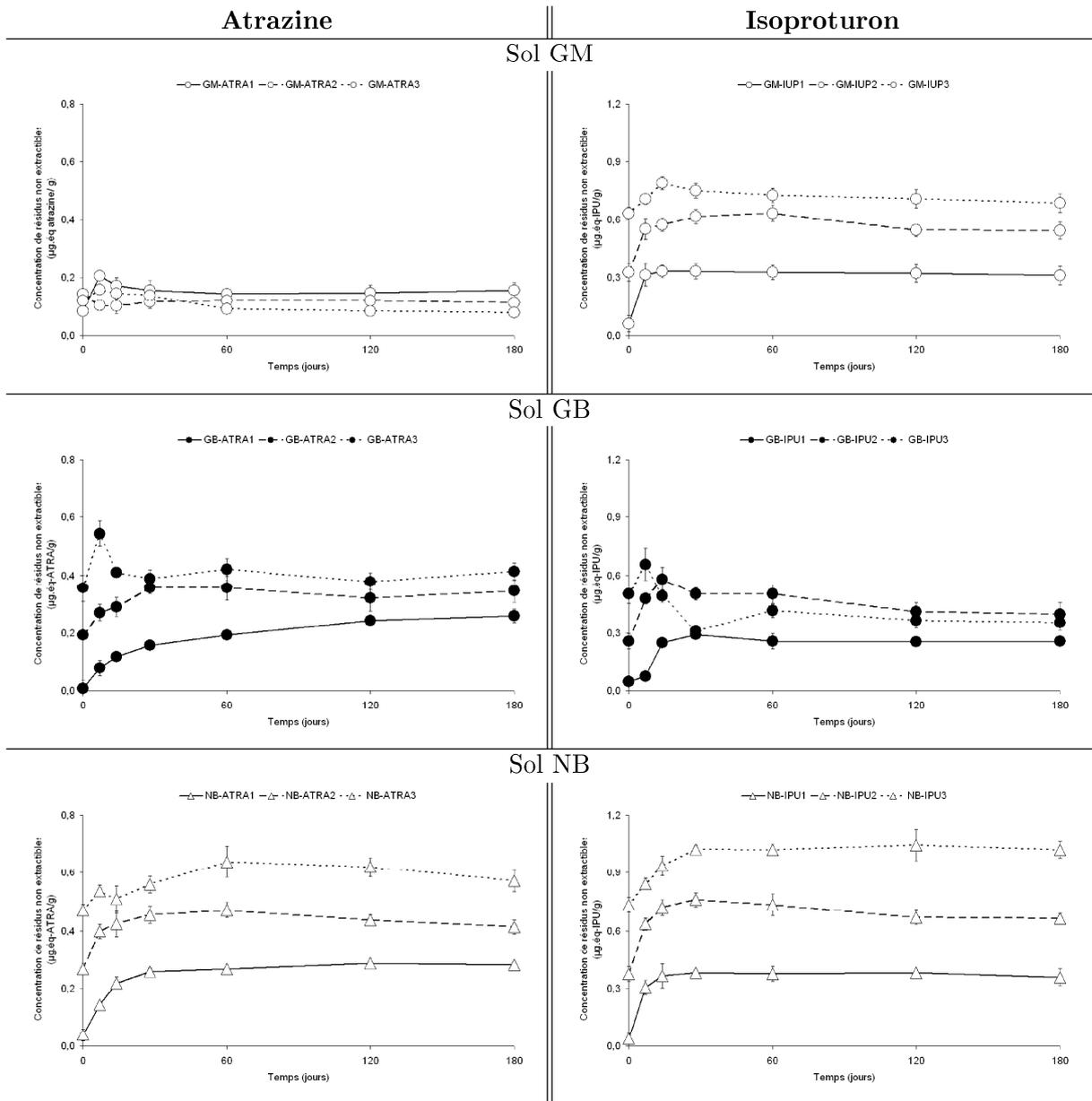


FIG. 3.16 – Évolution des résidus non extractibles dans chaque sol au cours des applications répétées d'atrazine et d'isoproturon dans les sols GM, GB et NB (les concentrations de résidus non extractibles sont exprimées en quantités équivalent d'atrazine ou d'isoproturon par gramme de sol - Les indices 1, 2 et 3 représentent les 1<sup>re</sup>, 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> applications - les barres d'erreurs correspondent à l'écart-type des valeurs mesurées - l'échelle de temps est initialisée après chaque application.)

zine, on observe une formation rapide des résidus non extractibles après l'application, qui est suivie d'une baisse et d'une stabilisation des quantités de résidus non extractibles formés jusqu'à la fin des incubations. Mais la concentration des résidus non extractibles augmente avec les applications successives, passant à la fin des incubations de 0,26 à 0,41  $\mu\text{g. eq. g}^{-1}$  de la première à la troisième application. Le comportement de l'atrazine dans le sol NB est semblable à celui

dans le sol GB, les cinétiques d'évolution des résidus non extractibles conservent relativement la même allure, et les concentrations des résidus non extractibles augmentent avec les applications successives, passant à la fin des incubations de 0,28 à 0,47  $\mu\text{g. eq.g}^{-1}$  de la première à la troisième application.

Dans le cas de l'isoproturon appliqué dans les trois sols (fig. 3.16), globalement les concentrations des résidus non extractibles augmentent avec le nombre d'applications; à l'exception du sol GB supposé adapté à la dégradation de cet herbicide. Dans les trois sols, les cinétiques d'évolution des résidus non extractibles sont semblables. Après chaque apport de pesticide, on observe une formation rapide des taux de résidus non extractibles, suivie d'une évolution plus ou moins constante des concentrations jusqu'à la fin des incubations. Cette diminution des concentrations des résidus non extractibles semble traduire une libération des résidus non extractibles d'isoproturon avec le temps après chacune des trois applications. La diminution la plus marquée est retrouvée pour le sol GB, dont la concentration de résidus non extractibles après l'incubation de la troisième application représente 13% de résidus non extractibles en moins par rapport à la deuxième application.

La contribution de chaque application d'atrazine et d'isoproturon dans la formation et l'évolution des résidus non extractibles est illustrée dans la figure 3.17. Dans tous les sols, les plus grandes proportions de résidus non extractibles sont obtenues après la première application de pesticide. Ainsi, à des temps d'incubation équivalents, les taux de résidus non extractibles diminuent de la première à la troisième application, devenant nuls à la fin des incubations des applications successives supplémentaires d'atrazine ou d'isoproturon dans les sols GM ou GB, respectivement adaptés à la dégradation de l'atrazine et de l'isoproturon. Dans les cas de non adaptation des sols à la dégradation d'un pesticide, on observe globalement pour des durées d'incubation équivalentes, une baisse des taux de résidus non extractibles lorsque le nombre d'applications augmente.

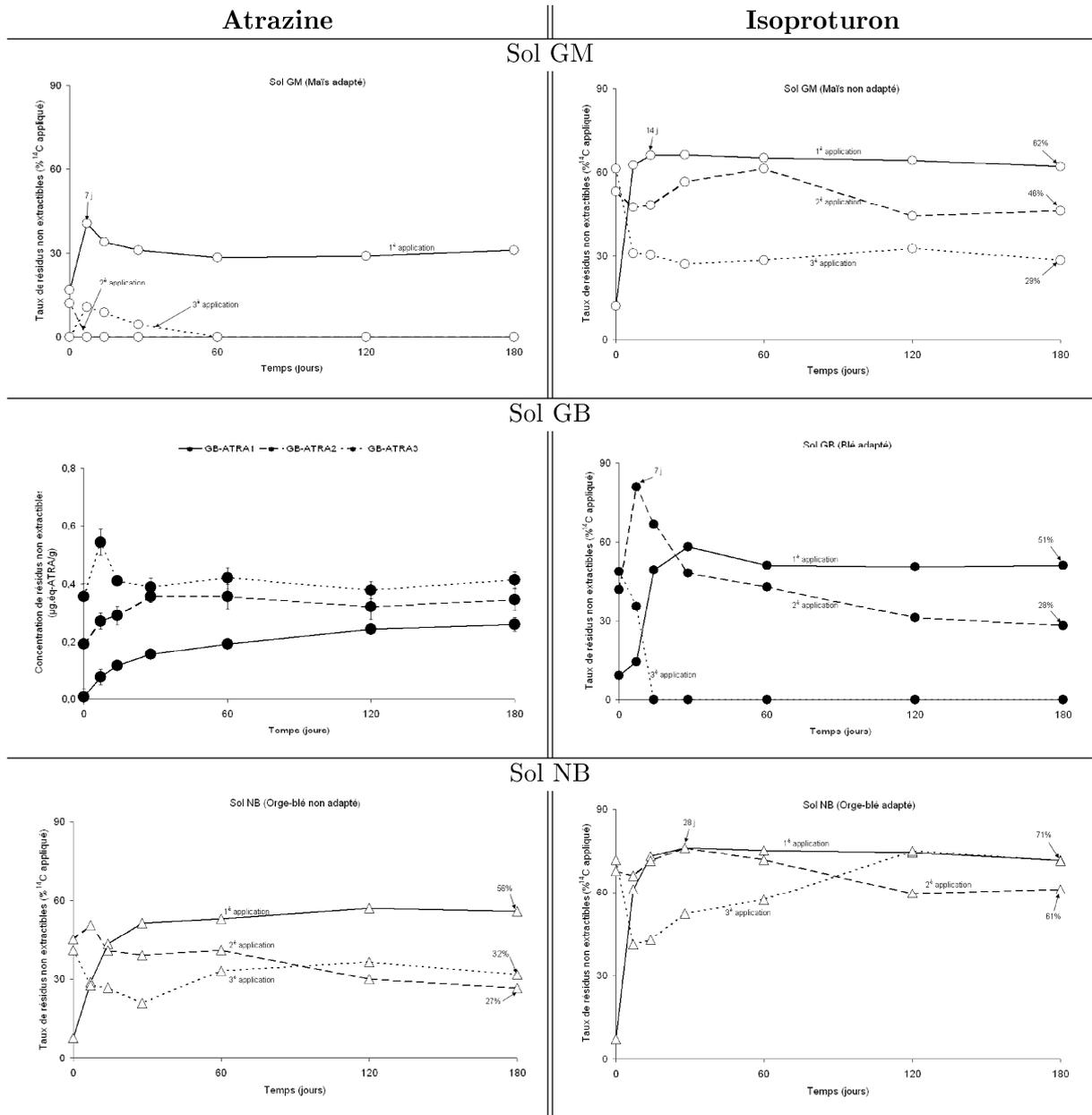


FIG. 3.17 – Évolution des taux de résidus non extractibles dans chaque sol en fonction de chaque application d'atrazine et d'isoproturon dans les sols GM, GB et NB (les taux de résidus non extractibles d'une application (en % de  $^{14}\text{C}$  appliqué) ont été calculés en soustrayant à la quantité totale de  $^{14}\text{C}$  non extractible, la part de radioactivité non extractible des applications précédentes - Les indices 1, 2 et 3 représentent les 1<sup>re</sup>, 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> applications - les barres d'erreurs correspondent à l'écart-type des valeurs mesurées - l'échelle de temps est initialisée après chaque application.)

## E Paramètres cinétiques de l'évolution des pesticides et de leurs résidus dans les sols

L'estimation des paramètres décrivant les cinétiques de l'évolution après chaque application d'atrazine ou d'isoproturon dans les sols BM, GB et NB a été faite selon une méthode progressive, par laquelle la description du système sol-pesticide se fait en fonction du nombre d'applications de pesticide (fig. 3.18).

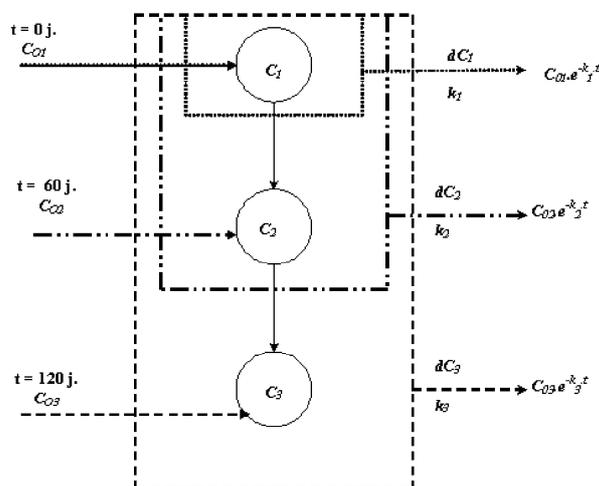


FIG. 3.18 – Schéma de la compartimentation des applications de pesticide pour modélisation.  $C_1$ ,  $C_2$  et  $C_3$  représentent les concentrations du pesticide au cours des 1<sup>re</sup>, 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> application

La détermination des paramètres cinétiques de l'évolution des résidus d'atrazine et d'isoproturon a été réalisée à l'aide des modèles mathématiques permettant de décrire les données expérimentales obtenues précédemment en conditions contrôlées de laboratoire. Cette modélisation s'applique, d'une part, sur l'évolution de l'atrazine et de l'isoproturon et de leurs résidus extractibles dans les trois sols, et d'autre part, sur l'évolution de la minéralisation. Les modèles élaborés sont ajustés aux données expérimentales et permettent l'estimation des paramètres cinétiques décrivant les phénomènes étudiés. L'objectif de cette démarche est de savoir si les applications répétées modifient les paramètres cinétiques de la dissipation des pesticides et de leurs résidus, en particulier les constantes de vitesse de dégradation des résidus extractibles, de dissipation des substances actives ou de minéralisation ; ces cinétiques étant décrites à l'aide des modèles de type exponentiel supposant des cinétiques d'ordre 1. Ainsi, chaque application ( $i$ ) ( $i = 1, 2$  ou  $3$ ) de

pesticide dans le sol est considérée comme un compartiment dynamique ou sous système, dont le contenu  $C_i$  ou concentration évolue avec le temps selon l'équation différentielle suivante :

$$\frac{dC_i}{dt} = -k_i \times C_i \quad (3.1)$$

Ici,  $C_i$  ( $C_0$  à l'instant initial) représente, à un instant  $t$  après la  $i^e$  application ( $i = 1, 2$  ou  $3$ ) du pesticide :

- soit la concentration d'atrazine ou d'isoproturon dans le sol. La concentration des deux herbicides est évaluée selon la méthode élaborée par Charnay *et al.* (2005, voir E1).
- soit la concentration des résidus extractibles ; cette concentration ayant été obtenue en additionnant à chaque instant et pour chaque sol, les concentrations des résidus extractibles à l'eau et au méthanol.
- soit le taux d'atrazine ou d'isoproturon minéralisé. Ce taux a été obtenu par des mesures des quantités de  $^{14}CO_2$  cumulé.

$k_i$  (en  $j^{-1}$ ) est la constante de vitesse de disparition du  $^{14}C$  lors de l'application  $i$  du pesticide.

## E1 - Matériel et méthodes de modélisation de l'évolution des pesticides dans les sols

### 1 - Détermination des paramètres d'évolution des substances actives et des résidus extractibles totaux

L'évolution des concentrations des substances actives (fig. 3.19) et des résidus extractibles totaux (fig. 3.20) est modélisée par le modèle exponentiel, primitive de l'équation 3.1. Ainsi, après la première application, on a :

$$C_1 = C_{01} \times e^{-k_1.t_1}$$

avec,  $C_{01}$  : concentration (en %  $^{14}C$  initial).

Pour  $t_1 = t$ , on obtient l'équation 3.2 qui modélise la dissipation des substances actives ou la dégradation des résidus extractibles totaux de pesticides.

$$C_1 = C_{01} \times e^{-k_1.t} \quad (3.2)$$

- Après la deuxième application à  $t_{02} = t_0 + 60$  j, l'évolution de la concentration des résidus est donnée par  $C_2$  au cours du temps selon une cinétique décrite par l'équation :

$$C_2 = C_{02} \times e^{-k_2 \cdot t_2}$$

$C_{02}$  (en %  $^{14}C$  initial) représente la quantité de  $^{14}C$ -pesticide apportée lors de la deuxième application. En développant cette équation après normalisation des durées d'incubations ( $t_2 = t-60$ ), on obtient l'équation 3.3 modélisant la cinétique de dissipation des résidus de  $^{14}C$ -pesticide dans le temps.

$$C_2 = C_{02} \times e^{-k_2 \cdot [t-60]} \quad (3.3)$$

- De la même manière, après la troisième application, la cinétique de dissipation des résidus de  $^{14}C$  - pesticide est décrite par l'équation 3.4 obtenue à partir de :

$$C_3 = C_{03} \times e^{-k_3 \cdot t_3}$$

$$C_3 = C_{03} \times e^{-k_3 \cdot [t-120]} \quad (3.4)$$

## 2 - Détermination des paramètres d'évolution de la minéralisation

Les cinétiques de minéralisation cumulée des pesticides, également d'ordre 1, décrivent des fonctions exponentielles croissantes (fig. 3.21) également obtenues par intégration de l'équation 3.1 :

$$C_i = C_{Ti} \times (1 - e^{-k_i \cdot t_i})$$

Ici,  $C_i$  (en %  $^{14}C$  initial) représentant le taux de pesticide minéralisé à l'instant  $i$  après l'application  $i$  ( $i=1, 2$  ou  $3$ ) considérée individuellement dans le sol (fig. 3.21) ;

et  $C_{Ti}$  représente le taux maximum minéralisable de pesticide (à  $t = \infty$ ) après l'application  $i$ .

- Après la première application ( $t_1 = t$ ), le modèle mathématique décrivant les cinétiques de minéralisation est donné par l'équation 3.5 :

$$C_1 = C_{T1} \times (1 - e^{-k_1 \cdot t}) \quad (3.5)$$

- La deuxième application est effectuée à  $t_{02} = 60 j$ , ses cinétiques de minéralisation étant modélisées par le modèle mathématique exponentiel dont l'équation est 3.6 ci-après :

$$C_2 = C_{T2} \times [1 - e^{-k_2 \cdot t_2}]$$

. Après normalisation des temps d'incubation, on a  $t_2 = t - 60 j$  et cette équation devient :

$$C_2 = C_{T2} \times [1 - e^{-k_2 \cdot (t-60)}] \quad (3.6)$$

- De même pour la troisième application de pesticide qui se fait à  $t_{03} = 120 j$  ( $t_3 = t - 120 j$ ), les cinétiques de minéralisation sont décrites l'équation 3.7 ci-dessous :

$$C_3 = C_{T3} \times [1 - e^{-k_3 \cdot (t-120)}] \quad (3.7)$$

### 3 - Estimation des paramètres cinétiques

Pour chaque application  $i$  ( $i = 1, 2$  ou  $3$ ) dans chaque sol  $S$ , les paramètres cinétiques déterminés sont les suivants :

1 - pour la dissipation des pesticides :

L'estimation de la dissipation réelle des substances actives n'ayant pas été possible par chromatographie, en raison de l'impossibilité de connaître leurs taux d'extraction à tout instant et à cause du problème lié à la limite de détection de l'analyse chromatographique, les paramètres liés à la dissipation de l'atrazine et de l'isoproturon ont été déterminés en utilisant les résultats des extractions, permettant ainsi l'estimation des constantes de dissipation selon l'équation 3.8 (Charnay *et al.*, 2005) :

$$k_{1/2dis} = \frac{Ln(\frac{C_0}{C})}{t} \quad (3.8)$$

$C_0$  représentant le taux de pesticide appliqué (donné ici en % de  $^{14}C$  appliqué).

En supposant que la dissipation des substances actives suit une cinétique de premier ordre, la demi-vie de dissipation est :

$$t_{1/2dis} = \frac{Ln2}{k_{1/2dis}} = t \cdot Ln(\frac{C_0}{C})$$

Dans cette équation,  $C = C_0 - [\%^{14}C_{minralis} + \%^{14}C]/100$ .

et  $C_{o-S ATRA-i}$  et  $C_{o-S IPU-i}$  : concentration d'atrazine et d'isoproturon à l'instant initial dans le sol lors de l'application  $i$ . - Les constantes de dissipation de l'atrazine ( $k_{1/2S-Atra-i}$ ) et de l'isoproturon ( $k_{1/2S IPU-i}$ );

-  $t_{1/2dis-S Atra-i}$  et  $t_{1/2dis-S IPU-i}$  : les demi-vies de l'atrazine et de l'isoproturon, décrivant la disparition du pesticide et correspondant à la dissipation de 50% du produit apporté au sol  $S$ . La demi-vie a été déterminée graphiquement. Elle a aussi été calculée à partir de l'équation 3.1, lorsque  $C_i = \frac{C_0}{2}$  :

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k_i} \quad (3.9)$$

2 - pour la dégradation des résidus extractibles totaux :

L'estimation des paramètres d'évolution des résidus extractibles totaux a été réalisée grâce aux résultats des extractions obtenus précédemment en conditions contrôlées de laboratoire. Pour un pesticide, l'addition des taux de résidus extraits à l'eau et au méthanol pour un temps d'incubation déterminé a permis d'obtenir le taux de résidus extractibles totaux pour ce temps. Ainsi, on estime :

- $k_{deg-S ATRA-i}$  et  $k_{deg-S IPU-i}$  : les constantes de dégradation des résidus extractibles totaux;
- $t_{1/2deg-S ATRA-i}$  et  $t_{1/2deg-S IPU-i}$ , les demi-vies de dégradation des résidus extractibles totaux correspondant à la dégradation de 50% de ces résidus;
- $C_{o-S ATRA-i}$  et  $C_{o-S IPU-i}$  ou concentration des résidus extractibles totaux à l'instant initial.

3 - pour la minéralisation :

- $k_{min-S ATRA-i}$  et  $k_{min-S IPU-i}$  : les constantes de minéralisation de l'atrazine et de l'isoproturon;
- $t_{1/2min-S ATRA-i}$  et  $t_{1/2min-S IPU-i}$ , les demi-vies de minéralisation de l'atrazine et de l'isoproturon;
- et  $C_{T-S ATRA-i}$  et  $C_{T-S IPU-i}$  taux maxima d'atrazine et d'isoproturon minéralisables.

Ces paramètres sont estimés par ajustements non linéaires, à l'aide du logiciel Sigma Plot (SPW5), des données des extractions et de minéralisation calculées pour chaque apport de

pesticides, en soustrayant à la contribution totale, la part correspondant à l'apport des applications précédentes.

## E2 Résultats de la modélisation

### 1 - Modélisation de l'évolution de l'atrazine et de l'isoproturon dans les trois sols

La figure 3.19 présente l'évolution de l'atrazine et de l'isoproturon dans les trois sols GM, GB et NB après les applications répétées et les courbes de régression correspondantes. Les valeurs des paramètres sont données dans le tableau 3.1. Ces résultats ont été correctement évalués, car obtenus avec un coefficient de régression tel que  $97 \leq r^2 \leq 99,9$ .

Après la première application dans chaque sol, la vitesse de dissipation de l'atrazine est plus élevée dans le sol GM adapté à sa dégradation que ne l'est celle de l'isoproturon dans le sol GB dont les microorganismes sont adaptés à la dégradation de ce pesticide. Ainsi, ( $k_{dis-GM\ ATRA1} = 0,317\ j^{-1}$  et  $k_{dis-GM\ IPU1} = 0,131\ j^{-1}$ ). En revanche, l'isoproturon se dissipe plus rapidement que l'atrazine dans le sol GB ( $k_{dis-GB\ IPU1} = 0,083\ j^{-1}$  et  $k_{dis-GB\ ATRA1} = 0,022\ j^{-1}$ ). C'est également dans le sol GM où l'atrazine est la moins persistante, avec une demi-vie  $t_{1/2dis-ATRA1} = 2\ j$ . Ceci est normal, compte tenu de la nature spécifique des microorganismes de ce sol. Dans les sols GM et GB, physico-chimiquement semblables, les applications répétées induisent une augmentation de la persistance de l'atrazine, les demi-vie augmentant respectivement de la première à la troisième application. Ceci est la conséquence de la diminution de la vitesse de dissipation de l'atrazine dans ces deux sols lors que le nombre d'applications augmente. En revanche, dans le sol NB, la vitesse de dissipation et la persistance de l'atrazine semble ne pas dépendre du nombre d'applications, les constantes de vitesse  $k_{dis-NB_i}$  et les demi-vie étant comparables lors des trois applications (tab. 3.1).

En ce qui concerne l'isoproturon, la vitesse de dissipation de la substance active est plus élevée dans les sols NB ( $k_{dis-NB\ IPU1} = 0,144\ j^{-1}$ ) et GM ( $k_{dis-GM\ IPU1} = 0,131\ j^{-1}$ ), que dans le sol GB, adapté ( $k_{dis-GB\ IPU1} = 0,083\ j^{-1}$ ); ceci serait dû à la rapidité de la minéralisation de l'isoproturon et de la formation des résidus non extractibles. Les applications répétées induisent globalement une augmentation de la dissipation de l'isoproturon dans les sols GM et GB, pédo-

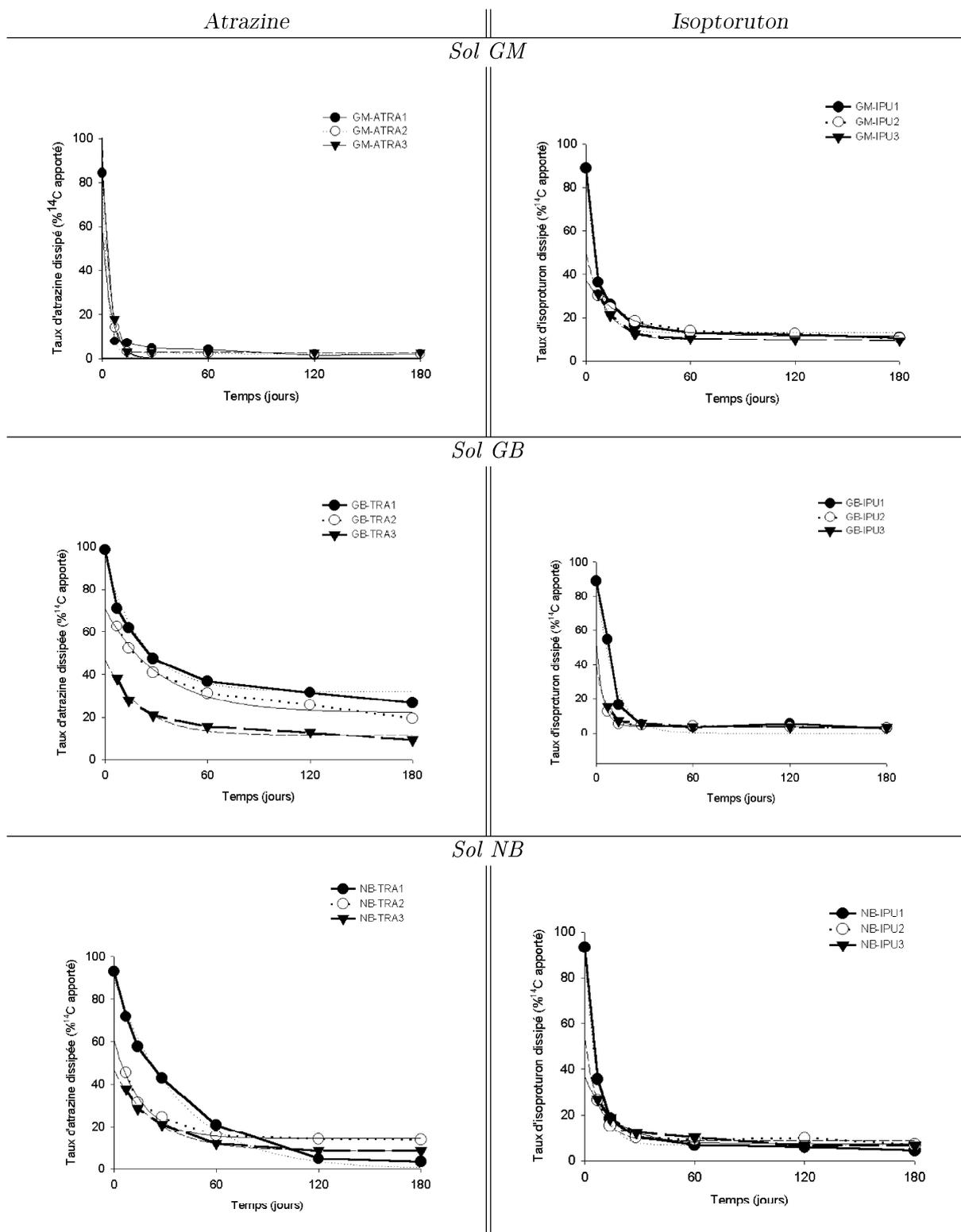


FIG. 3.19 – Ajustement des cinétiques d'ordre 1 des résultats de la dissipation des substances actives lors des applications répétées d'atrazine (ATRA) et d'isoproturon (IPU) dans les sols GM, GB et NB (pour chaque application, les taux de substance active ont été calculés en soustrayant la contribution des applications précédentes - l'échelle de temps est initialisée après chaque application).

TAB. 3.1 – Constantes de dissipation de l'atrazine et de l'isoproturon après 3 applications dans les sols GM, GB et NB (les constantes de vitesse de dissipation  $k_{dis-S ATRAi}$  et  $k_{dis-S IPUi}$  sont en  $j^{-1}$ ; les demi-vie de dissipation,  $t_{1/2dis-mod S ATRAi}$  et  $t_{1/2dis-grap S IPUi}$  déterminées par les cinétiques ajustées par le modèle et  $t_{1/2cal S ATRAi}$  et  $t_{1/2cal S IPUi}$  calculées sont en jours, les taux ou concentrations initiales  $C_{o-S ATRAi}$  et  $C_{o-S IPUi}$  en  $\%^{14}C$  initial; les indices 1, 2 et 3 représentent les 1<sup>re</sup>, 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> applications).

<i>Sol GM</i>					
Échantillon	$k_{dis GM}$	$t_{1/2dis-grap GM}$	$t_{1/2dis-cal GM}$	$C_o GM$	$r^2$
ATRA-1	$0,317 \pm 0,062$	2	2	$84,1 \pm 2,8$	99,9
ATRA-2	$0,044 \pm 0,004$	5	3	$58,9 \pm 3,7$	85,7
ATRA-3	$0,113 \pm 0,044$	3	3	$97,9 \pm 2,4$	85,6
IPU-1	$0,131 \pm 0,018$	6	5	$95,5 \pm 3,7$	98,6
IPU-2	$0,060 \pm 0,012$	20	12	$40,0 \pm 2,1$	98,3
IPU-3	$0,165 \pm 0,028$	5	4	$75,6 \pm 7,1$	98,8
<i>Sol GB</i>					
Échantillon	$k_{dis GB}$	$t_{1/2dis-grap GB}$	$t_{1/2dis-cal GB}$	$C_o GB$	$r^2$
ATRA-1	$0,022 \pm 0,002$	56	31	$96,3 \pm 2,2$	99,6
ATRA-2	$0,030 \pm 0,006$	37	23	$72,0 \pm 3,0$	98,6
ATRA-3	$0,016 \pm 0,005$	72	43	$31,4 \pm 1,2$	98,2
IPU-1	$0,083 \pm 0,008$	9	8	$90,3 \pm 2,7$	99,4
IPU-2	$0,248 \pm 0,066$	3	3	$53,0 \pm 11,5$	98,0
IPU-3	$0,164 \pm 0,045$	2	4	$39,5 \pm 6,2$	97,0
<i>Sol NB</i>					
Échantillon	$k_{dis NB}$	$t_{1/2dis-grap NB}$	$t_{1/2dis-cal NB}$	$C_o NB$	$r^2$
ATRA-1	$0,027 \pm 0,003$	28	26	$95,9 \pm 3,0$	99,5
ATRA-2	$0,037 \pm 0,005$	28	19	$56,2 \pm 1,9$	99,3
ATRA-3	$0,031 \pm 0,003$	32	22	$38,4 \pm 0,9$	99,6
IPU-1	$0,144 \pm 0,010$	5	5	$92,8 \pm 1,8$	99,7
IPU-2	$0,133 \pm 0,027$	7	5	$53,6 \pm 5,0$	98,3
IPU-3	$0,063 \pm 0,015$	15	11	$36,7 \pm 2,6$	97,7

logiquement semblables, les constantes de vitesse  $k_{dis}$  augmentant avec le nombre d'applications dans ces sols. En même temps, la persistance de la molécule d'isoproturon diminue, passant respectivement de 6 (en passant par  $20j$ ) à 5  $j$  et 9 à 2 *jours* dans les deux sols, respectivement. Mais dans le sol NB, les applications répétées provoquent une diminution régulière des vitesses de dissipation de l'isoproturon, les constantes  $k_{dis-NB\ IPU_i}$  passant de 0,144  $j^{-1}$  lors de la première application, à 0,133 et 0,063  $j^{-1}$  lors des deuxième et troisième applications (tab. 3.1).

## 2 - Modélisation de l'évolution des résidus totaux extractibles

Dans l'ensemble des cas, les paramètres ont été obtenus avec un coefficient de régression  $r^2$  supérieur à 94%. Les modèles mathématiques exponentiels utilisés s'accordent correctement aux données expérimentales (fig. 3.20). Les résultats sur les paramètres estimés sont regroupés dans le tableau 3.2.

Après la première application d'atrazine sur les trois sols, c'est dans le sol GM, adapté à la dégradation de cet herbicide, où la dégradation des résidus extractibles est la plus rapide ( $k_{deg-GM\ ATRA1} = 0,260\ j^{-1}$ ); il est suivi des sols GB ( $k_{deg-GB\ ATRA1} = 0,052\ j^{-1}$ ) et NB ( $k_{deg-NB\ ATRA1} = 0,029\ j^{-1}$ ). Les applications répétées d'atrazine induisent une diminution de la vitesse de dégradation des résidus extractibles totaux dans les sols GM et NB, les constantes de dégradation  $k_{deg-GM\ ATRAi}$  et  $k_{deg-NB\ ATRAi}$  diminuant avec le nombre d'applications, respectivement de 0,26 à 0,143  $j^{-1}$  et de 0,029 à 0,007  $j^{-1}$ . En revanche, dans le sol GB, les applications répétées d'atrazine semblent avoir peu d'effets sur la dégradation des résidus extractibles, leur vitesse de dégradation variant peu avec les applications successives. La persistance des résidus extractibles, estimée à partir des demi-vie ( $t_{1/2-Xi}$ ), augmente avec le nombre d'applications dans les sols GM et NB, passant respectivement de 3 à 26  $j$  et de 25 à 91  $j$ . Dans le sol GB la persistance des résidus totaux extractibles baisse avec les applications répétées d'atrazine, diminuant et restant stable de la première application aux applications suivantes de 30 à 15  $j$  (tab. 3.2).

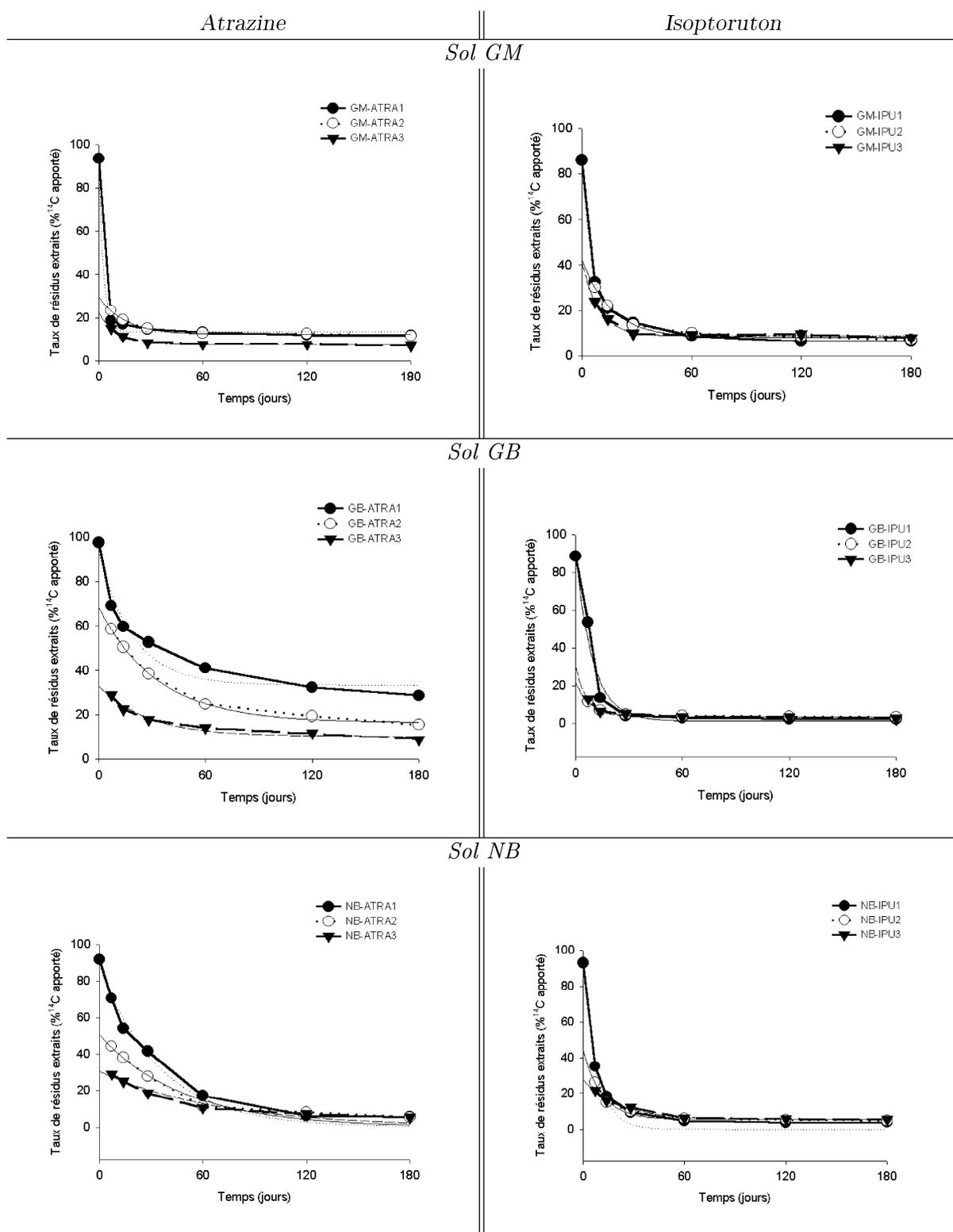


FIG. 3.20 – Ajustement des cinétiques d'ordre 1 aux résultats de la dégradation des résidus totaux extractibles lors des applications répétées d'atrazine (ATRA) et d'isoproturon (IPU) dans les sols GM, GB et NB (pour chaque application, les taux de résidus extraits ont été calculés en soustrayant la contribution des applications précédentes - l'échelle de temps est initialisée après chaque application).

TAB. 3.2 – Constantes de dégradation des résidus totaux extractibles d'atrazine et d'isoproturon après 3 applications dans les sols GM, GB et NB (les constantes de vitesse de dégradation  $k_{deg-S ATRA-i}$  et  $k_{deg-S IPU-i}$  sont en  $j^{-1}$ , les demi-vies de dégradation,  $t_{1/2deg-grap S ATRA-i}$  et  $t_{1/2deg-grap S IPU-i}$  déterminées graphiquement à partir des cinétiques ajustées par le modèle et  $t_{1/2deg-cal S ATRA-i}$  et  $t_{1/2deg-cal S IPU-i}$  calculées sont en jours, les concentrations initiales  $C_{o-S ATRA-i}$  et  $C_{o-S IPU-i}$  en %  $^{14}C$  initial; les indices 1, 2 et 3 représentent les 1<sup>re</sup>, 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> applications).

<i>Sol GM</i>					
Échantillon	$k_{deg GM}$	$t_{1/2deg-grap GM}$	$t_{1/2deg-cal GM}$	$C_o GM$	$r^2$
ATRA-1	0,260 ± 0,039	3	3	93,4 ± 2,8	98,6
ATRA-2	0,032 ± 0,006	22	22	42,8 ± 3,5	97,1
ATRA-3	0,143 ± 0,003	26	26	33,7 ± 2,7	98,5
IPU-1	0,143 ± 0,028	6	5	86,0 ± 3,5	97,3
IPU-2	0,101 ± 0,026	10	7	44,3 ± 3,3	97,1
IPU-3	0,070 ± 0,016	17	10	33,7 ± 2,7	98,1
<i>Sol GB</i>					
Échantillon	$k_{deg GB}$	$t_{1/2deg-grap GB}$	$t_{1/2deg-cal GB}$	$C_o NB$	$r^2$
ATRA-1	0,052 ± 0,013	30	14	97,7 ± 2,5	96,0
ATRA-2	0,052 ± 0,010	15	14	71,3 ± 3,2	98,7
ATRA-3	0,061 ± 0,010	15	12	37,7 ± 1,4	99,0
IPU-1	0,104 ± 0,019	6	7	88,5 ± 2,7	97,5
IPU-2	0,060 ± 0,010	24	12	21,0 ± 2,1	98,8
IPU-3	0,044 ± 0,014	29	16	9,4 ± 3,7	96,3
<i>Sol NB</i>					
Échantillon	$k_{deg NB}$	$t_{1/2deg-grap NB}$	$t_{deg-1/2cal NB}$	$C_o NB$	$r^2$
ATRA-1	0,029 ± 0,003	25	24	91,7 ± 1,8	98,8
ATRA-2	0,007 ± 0,001	94	99	64,7 ± 4,1	97,1
ATRA-3	0,007 ± 0,003	91	99	41,5 ± 6,3	96,6
IPU-1	0,145 ± 0,010	5	5	92,8 ± 1,9	99,7
IPU-2	0,048 ± 0,015	27	15	42,3 ± 5,2	96,2
IPU-3	0,038 ± 0,007	30	18	36,6 ± 2,8	98,9

Dans le cas de l'isoproturon, les applications répétées induisent une diminution des vitesses de dégradation des résidus extractibles totaux dans les trois sols, la constante de dégradation étant plus élevée après la première application dans les sol NB ( $k_{deg-NB\ IPU1} = 0,145\ j^{-1}$ ) et GM ( $k_{deg-GM\ IPU1} = 0,143\ j^{-1}$ ) que dans le sol GB ( $k_{deg-GB\ IPU1} = 0,104\ j^{-1}$ ), adapté à la dégradation de cet herbicide. La persistance des résidus totaux extractibles est comparable dans les trois sols après la première application. Elle augmente régulièrement avec les applications consécutives dans l'ensemble des sols GM, GB et NB, la demi-vie  $t_{1/2}$  (déterminée graphiquement) passant respectivement de 6 à 17 et 29  $j$ , et de 5 à 30  $j$  de la première à la troisième application (tab. 3.2).

### 3 - Modélisation de la minéralisation de l'atrazine et de l'isoproturon

La modélisation de la minéralisation de l'atrazine et d'isoproturon s'est faite à partir des cinétiques expérimentales représentées dans la figure 3.13 (page 70) ajustées aux modèles exponentiels (figure 3.21). Les hypothèses avancées pour déterminer les paramètres de la minéralisation sont celles considérées dans la partie E1. Les valeurs des paramètres  $k_{min-S\ X-i}$ ,  $t_{t/2min-S\ X-i}$  et  $C_{T-S\ X-i}$  définis précédemment sont regroupées dans le tableau 3.3. On remarquera qu'il y a une bonne adéquation entre les données expérimentales et celles des modèles ( $94 \leq r^2 \leq 99$ ).

Après la première application, la minéralisation de l'atrazine se fait rapidement dans le sol GM ( $k_{mine\ GM1} = 0,144\ j^{-1}$ ), la moitié de l'atrazine apportée étant dissipée après 6  $j$  d'incubation ; le taux maximum d'atrazine minéralisable représentant  $C_{T\ GM1} = 71\ \%$  de la radioactivité initiale. C'est dans le sol GB où la vitesse de minéralisation est la plus faible, avec une constante de minéralisation  $k_{min\ GB1} = 8,9 \cdot 10^{-3}\ j^{-1}$  et un taux maximum d'atrazine minéralisable de  $C_{T\ GB1} = 33\%$ . Les applications répétées d'atrazine induisent une stimulation de la minéralisation de l'atrazine dans les sols GB et NB. D'une part, les vitesses de minéralisation et les taux maxima de pesticide minéralisable augmentent après la première application, mais ces paramètres restent comparables lors des deux applications suivantes dans le sol GB, alors que lors de la troisième application, on observe une augmentation de  $k_{min\ NB3}$  et une diminution de  $C_{T\ NB3}$ . D'autre part, il y a diminution des demi-vie calculées  $t_{1/2cal-Xi}$  lorsque le nombre d'applications augmente dans les sols GB et NB. En revanche dans le sol GM, adapté à la dégradation de l'atrazine, les applications répétées ont un faible effet inhibiteur sur la minéralisation de l'atrazine, la vitesse de minéralisation et le taux maximum d'atrazine minéralisable diminuant sensiblement lorsque

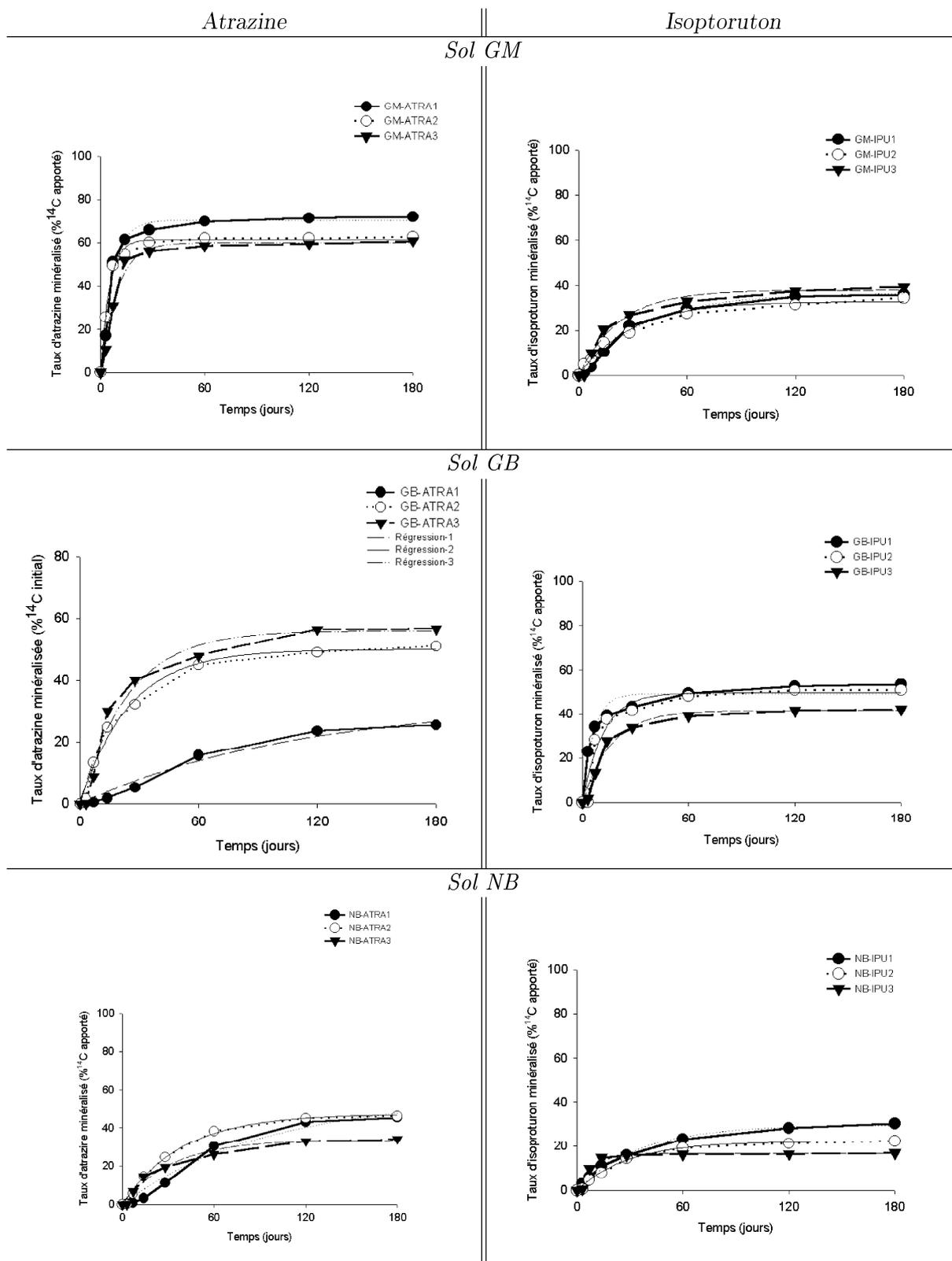


FIG. 3.21 – Ajustement des cinétiques d'ordre 1 de minéralisation lors des 3 applications consécutives d'atrazine et d'isoproturon dans les sols GM, GB et NB (pour chaque application, les taux minéralisés ont été calculés en soustrayant la contribution des applications précédentes - l'échelle de temps est initialisée après chaque application).

TAB. 3.3 – Paramètres de minéralisation après 3 applications d'atrazine (ATRA) et d'isoproturon dans les sols GM, GB et NB (les constantes de vitesse de minéralisation  $k_{min-ATRA-i}$  et  $k_{min-IPU-i}$  sont en  $j^{-1}$ ; les demi-vie de minéralisation,  $t_{1/2_{grap-S\ ATRA-i}}$  et  $t_{1/2_{grap-S\ IPU-i}}$  déterminées graphiquement à partir des cinétiques ajustées par le modèle et  $t_{1/2_{cal-S\ ATRAi}}$  et  $t_{1/2_{cal-S\ IPU-i}}$  calculées, sont en jours et les taux maxima minéralisables  $C_{T-S\ ATRA-i}$  et  $C_{T-S\ IPU-i}$  en %  $^{14}C$  initial; les indices 1, 2 et 3 représentent les 1<sup>re</sup>, 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> applications).

Sol GM					
Application	$k_{min\ GMi}$	$t_{1/2_{grap-GMi}}$	$t_{1/2_{cal-GMi}}$	$C_{T-Si}$	$r^2$
ATRA-1	$0,144 \pm 0,019$	6	5	$70,6 \pm 2,2$	97,9
ATRA-2	$0,197 \pm 0,016$	5	4	$61,5 \pm 1,0$	99,0
ATRA-3	$1,07 \pm 0,012$	17	11	$58,9 \pm 1,0$	98,4
IPU-1	$0,027 \pm 0,003$	n.d.	25	$36,5 \pm 1,4$	96,7
IPU-2	$0,034 \pm 0,003$	n.d.	20	$32,8 \pm 1,1$	98,9
IPU-3	$0,044 \pm 0,006$	n.d.	16	$37,9 \pm 1,7$	97,9
Sol GB					
Application	$k_{min\ GBi}$	$t_{1/2_{grap-GBi}}$	$t_{1/2_{cal-GBi}}$	$C_{T-GBi}$	$r^2$
ATRA-1	$8,9 \cdot 10^{-3} \pm 0,003$	n.d.	78	$33,2 \pm 5,8$	97,7
ATRA-2	$0,040 \pm 0,004$	n.d.	18	$49,9 \pm 1,6$	98,9
ATRA-3	$0,041 \pm 0,007$	55	17	$56,0 \pm 3,0$	97,3
IPU-1	$0,164 \pm 0,030$	8	4	$49,2 \pm 2,0$	95,6
IPU-2	$0,086 \pm 0,020$	17	8	$49,6 \pm 3,1$	94,1
IPU-3	$0,062 \pm 0,009$	17	11	$41,5 \pm 1,7$	97,7
Sol NB					
Application	$k_{min\ NBi}$	$t_{1/2_{grap-NBi}}$	$t_{1/2_{cal-NBi}}$	$C_{T-NBi}$	$r^2$
ATRA-1	$0,011 \pm 0,003$	n.d.	63	$55,7 \pm 8,2$	97,4
ATRA-2	$0,026 \pm 0,002$	n.d.	27	$47,2 \pm 1,5$	99,3
TRA-3	$0,030 \pm 0,004$	n.d.	23	$33,6 \pm 1,4$	98,6
IPU-1	$0,028 \pm 0,002$	n.d.	25	$29,6 \pm 0,7$	99,6
IPU-2	$0,034 \pm 0,003$	n.d.	21	$22,1 \pm 0,6$	99,4
IPU-3	$0,106 \pm 0,024$	n.d.	7	$16,7 \pm 1,0$	94,4

le nombre d'applications augmente et la persistance augmentant 6 à 17  $j$  de la première à la troisième application.

Dans le cas de l'isoproturon, après la première application, la vitesse de minéralisation et le taux maximum minéralisable sont les plus élevés dans le sol GB, avec  $k_{min\ GB1} = 0,164\ j^{-1}$  et  $C_{T\ GM1} = 49\%$  de la radioactivité initiale, la moitié de l'isoproturon apporté lors de la première application étant minéralisée après 4  $j$  d'incubation. Dans les sols GM et NB, les constantes de minéralisation sont comparables, mais le taux maximum de pesticide minéralisable est plus élevé dans le sol GM n'ayant pas reçu d'isoproturon depuis plus de trente années. Les applications consécutives d'isoproturon induisent la stimulation de la minéralisation dans les sols GM et NB. On observe avec les applications successives, une augmentation régulière des vitesses de minéralisation et une diminution des temps de demi-vie calculés  $t_{1/2_{cal-X-i}}$ , les taux maxima minéralisables  $C_{T\ X_i}$  restant comparables dans le sol GM, mais diminuant dans le sol NB. Dans le sol GM,  $k_{min\ GM}$  augmente de 0,027 à 0,044  $j^{-1}$ , tandis que  $t_{1/2_{cal\ GM}}$  diminue de 25 à 16  $j$ . Dans le sol NB,  $k_{min\ NB}$  augmente de 0,028 à 0,106  $j^{-1}$ , tandis que  $t_{1/2_{cal\ NB}}$  diminue de 25 à 7  $j$ . Par contre dans le sol GB, les applications répétées inhibent la minéralisation de l'isoproturon, le nombre d'applications provoquant une diminution des constantes de vitesse de minéralisation  $k_{mine-GB}$  et une augmentation des demi-vie de minéralisation  $t_{1/2_{cal\ GB}}$  de 4 à 11  $j$ ; les taux maxima minéralisables étant comparables lors des deux premières applications.

## F Discussion

### F1 - Résidus extractibles

Les profils métaboliques sont différents en fonction des sols. Dans le sol GM, adapté à la dégradation de l'atrazine, le profil métabolique des extraits hydrosolubles présente une proportion élevée de dérivés d'atrazine non identifiés (fig. 3.5). Dans les sols GB et NB dont les populations microbiennes ne sont pas adaptées à la dégradation de l'atrazine, les profils métaboliques sont semblables (fig. 3.6 et 3.7); les proportions importantes d'atrazine diminuant du début à la fin des incubations, et les dérivés déalkylés et les dérivés hydroxylés étant présents à toutes les

dates d'extraction. La même évolution a été observée avec le profil métabolique des extraits méthanoliques. Dans les trois sols, les proportions d'atrazine sont plus élevées dans les extraits méthanoliques.

Malgré l'augmentation de la vitesse de dégradation lors des applications répétées d'atrazine, les profils métaboliques des extraits aqueux et méthanoliques dans le sol GB ne sont pas sensiblement modifiés. Il en est de même pour le sol NB. Pour chacun de ces sols, les extraits aqueux et méthanoliques contiennent les mêmes dérivés, mais en des proportions variables lorsque le nombre applications augmente. La dégradation de l'atrazine dans le sol GM s'explique par la présence des microorganismes spécifiques (Kaufman et Blake, 1979). D'où la diminution rapide de l'atrazine et l'apparition de grandes proportions de métabolites non identifiés. Ce type de dégradation accélérée a été observée sur d'autres substances actives chloro-substituées de la famille des s-triazines (Barriuso et Houot, 1996 ; Barriuso *et al.*, 1997 ; Abdelhafid, 1998) ; les microorganismes spécifiques utilisant l'azote du cycle triazinique pour fabriquer leur biomasse tout en dégageant le  $^{14}CO_2$  par respiration. Il a été montré que dans le cas de l'existence des bactéries dégradant l'atrazine d'une manière accélérée, la voie de dégradation se fait par déhalogénéation du cycle triazinique, entraînant l'hydroxylation de la molécule, avec formation de l'hydroxy-atrazine (OH-ATRA).

Dans les sols non adaptés (sans activité spécifique), la voie de dégradation biologique se fait par déalkylation (Kaufman et Blake, 1970 ; Dao *et al.*, 1979) successive des chaînes, au travers des intermédiaires : dééthyl-atrazine (DEA), déisopropyl-atrazine (DIA). En effet, les premiers travaux de Kaufman et Blake (1970), puis ceux de Wolf et Martin (1975) attribuent la dégradation biologique de l'atrazine à une activité fongique. D'autres travaux montrent une dégradation microbienne réalisée par des bactéries comme des souches de *Nocardia* (Wolf et Martin, 1975 ; Giardina *et al.*, 1982) ou de *pseudomonas* (Behki et Khan, 1986). De même, Couch *et al.* (1965) ont mis en évidence l'intervention de souches de champignons *Fusarium roseum* dans l'hydroxylation de l'atrazine par substitution de l'atome de *Cl*, montrant ainsi l'intervention de l'activité microbienne dans ce phénomène. Mandelbaum *et al.* (1993) montrent l'apparition de OH-ATRA après 24 h d'incubation à 30°C, en présence de souches bactériennes LFB6 ; Mougin *et al.* (1994) montrent quant à eux qu'avec une souche fongique de *Phanerochaete chrysosporium*, le milieu de croissance contenait des métabolites hydroxylés, ceci étant néanmoins expliqué par

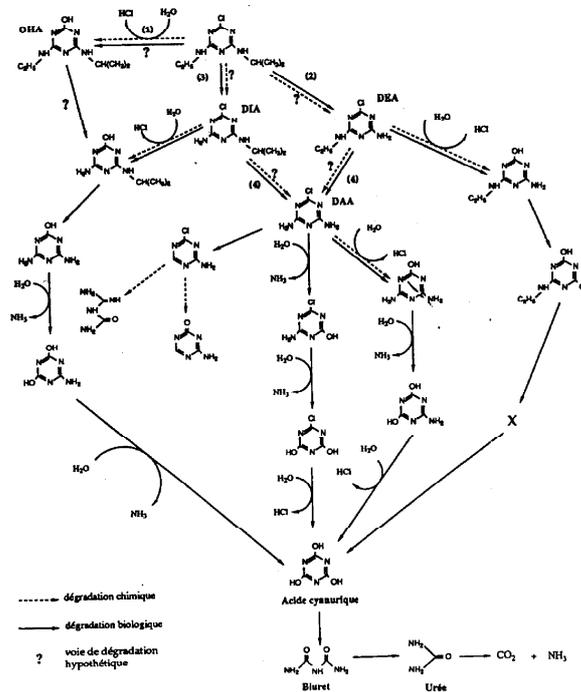


FIG. 3.22 – Voies de dégradation de la molécule d'atrazine (d'après Kruger et al., 1993)

un effet secondaire des champignons sur l'hydrolyse chimique primaire.

Ainsi, dans le sol GB, les applications répétées d'atrazine accélèrent la dégradation des résidus extractibles, la vitesse de dégradation des résidus d'atrazine augmentant avec le nombre d'applications. L'atrazine et les dérivés déalkylés sont présents à toutes les dates d'extraction, avec une augmentation des proportions de OH-ATRA avec le temps. Ceci laisse supposer l'adaptation de la microflore de ce sol à la dégradation accélérée de la molécule d'atrazine. Cette adaptation des microorganismes serait favorisée par le pH alcalin de ce sol. Elle se manifeste, lors des applications successives, par l'augmentation de la vitesse de minéralisation de l'atrazine, en même temps que les cinétiques de minéralisation et les taux minéralisés se rapprochent de ceux obtenus dans le sol GM. En revanche, la mise en place d'une activité spécifique est plus progressive dans le sol NB à pH acide, avec présence de l'atrazine à tous les stades des incubations et l'apparition de OH-ATRA. Cependant, les cinétiques de dégradation et de minéralisation semblent traduire deux modes de dégradation des résidus d'atrazine dans le sol NB (Pätzold et Brümmer, 2003). Du début des incubations jusqu'à 120 j, les vitesses de dégradation et de minéralisation augmentent avec le nombre d'applications de l'atrazine ; par la suite, la dégradation des résidus extractibles

devient indépendante du nombre d'applications, les cinétiques n'atteignant pas de palier de minéralisation et les taux d'atrazine minéralisée restant inférieurs à ceux obtenus dans le sol GB. Ainsi les conditions semblent plus favorables au développement d'une microflore capable d'induire la dégradation accélérée des résidus d'atrazine due aux applications répétées dans le sol GB, à pH alcalin que dans le sol NB, à pH acide. Ce type d'observation a été également faite par Houot *et al.* (2000) lors de l'étude de la minéralisation de l'atrazine après des apports successifs dans plusieurs sols. Ces auteurs ont montré que de toutes les propriétés testées des sols, le pH était celle qui influait le plus sur la dégradation accélérée de l'atrazine, 25% de l'atrazine appliquée étant minéralisés lorsque  $\text{pH} < 6,5$  après des applications répétées ; alors que 80% sont dégradés dans les sols adaptés ou lorsqu'il y a développement d'une activité spécifique.

Avec l'isoproturon dont les voies de dégradation sont représentées dans la figure 3.23, les cinétiques de dégradation des résidus extractibles ont la même allure dans chacun des trois sols, les vitesses et les taux de dégradation des résidus extractibles ne dépendant pas du nombre d'applications, mais restant élevés dans le sol GB, dont la microflore est spécifique ; ces types de résultats ont également été obtenus par Bending *et al.* (2001) dans l'étude de la dynamique et de la dégradation biologique de l'isoproturon. Ces auteurs ont par ailleurs montré que l'hétérogénéité spatiale de l'isoproturon dans un sol adapté à sa dégradation affectait sa dégradation par les microorganismes. Dans les trois sols il y a d'importantes quantités de résidus non identifiés parmi les extraits hydrosolubles, leurs proportions augmentant avec le temps au cours des incubations. Le caractère disponible des résidus extraits à l'eau suggère que la dégradation rapide de ces résidus est dominée par les microorganismes. Le rôle des microorganismes dans la dégradation de l'isoproturon avait déjà été mis en évidence par Fournier et Cartroux (1975). Ces auteurs avaient assuré que la biodégradation de cette molécule était de nature co-métabolique, l'activité microbienne vis-à-vis de l'isoproturon étant contrôlée par la disponibilité des nutriments et par des paramètres édaphiques (température, humidité et pH) plutôt que par la substance active elle-même (Madhum et Freed, 1987). Pour Fournier et Cartroux (1975), une telle dégradation comporte des risques d'accumulation de métabolites.

Selon Fournier et Cartroux (1980), des champignons du genre *Aspergillus*, *Rhizoctonia* et *Talaromyces* dégradent plus de 50% de l'isoproturon présent dans une source carbonée en 7 j. La dégradation avec les bactéries *Pseudomonas* est faible, alors qu'elle est très élevée avec des

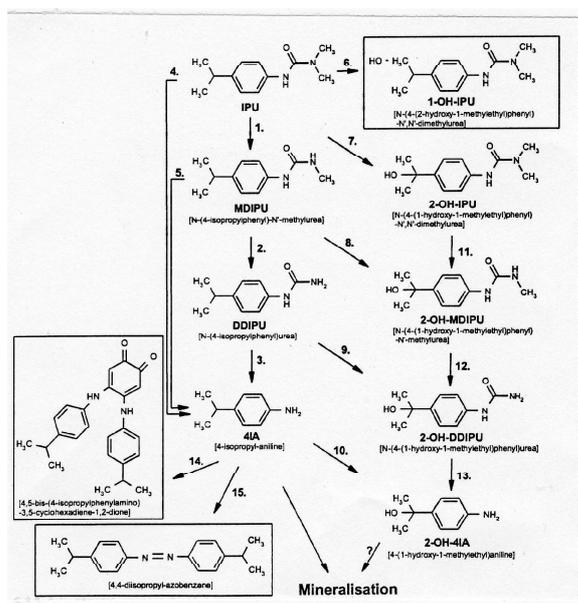


FIG. 3.23 – Voies de dégradation de la molécule d'isoproturon (d'après Sorensen et al., 2003)

souches de *Micromycètes*. Ainsi, Steiman *et al.* (1994) ont montré qu'avec 8% de *Rhizoctonia*, *Cunninghamella* ou *Phoma*, 70% d'isoproturon étaient dégradés en 7 j. Mais selon Cullington et Walter (1999), la dégradation biologique de l'isoproturon et de ses résidus est souvent lente et suit une cinétique de premier ordre. C'est ce qui explique que les constantes de dégradation de l'isoproturon soient plus faibles que celles de l'atrazine. Ce type de dégradation a été observée, d'une part par Sorensen *et al.* (2003b) sur des herbicides de la famille des phényl-urées en conditions de plein champ, et d'autre part par Walker et Austin (2003) sur l'isoproturon appliqué sur plusieurs sols en conditions de laboratoire. En revanche, les quantités de molécule mère sont importantes dans les extraits méthanoliques, leurs proportions diminuant avec le temps. Ceci explique la persistance de l'isoproturon et de ses métabolites dans les sols et leur propension à se retrouver dans les eaux de surface et souterraines.

Par ailleurs, les résidus d'isoproturon extractibles au méthanol sont susceptibles de subir une dégradation chimique au travers de laquelle les dérivés anilines se lient au sol par des liaisons covalentes pour donner des résidus non totalement dégradables pouvant à leur tour subir une dégradation biologique (Scheunert et Reuter, 2000). En effet, l'action d'agents physiques ou chimiques peut conduire à une transformation de la molécule d'isoproturon. Les rayonnements ultraviolets conduisent à une décomposition rapide de l'isoproturon. Kulshrestha et Mukerjee (1986) ont observé la disparition de la moitié de l'isoproturon présent dans une solution aqueuse

en 1,5 h. Lors de la même étude, une exposition de sol traité avec la même molécule a également donné lieu à une dégradation photochimique. La dégradation de l'isoproturon par hydrolyse a été également observée par Kulshrestha (1982). Dans cette étude, 54 à 70% d'isoproturon sont dégradés en 10 semaines dans l'eau et en l'absence de microorganismes. Pour Parlar (1984), l'adsorption de l'isoproturon sur les surfaces des constituants du sol peut conduire à des réactions de dégradation photo-induites ou catalysées par des argiles (Fusi, 1991).

Néanmoins, les applications répétées induisent l'adaptation des microorganismes à la dégradation de l'isoproturon dans le GM, supposé non adapté. La période de latence de 7 j observée après la première application, suivie d'une période de dégradation rapide disparaît lors des applications successives suivantes, mais les vitesses de minéralisation et les taux de résidus minéralisés restent comparables. Selon Bending et al. (2001), l'adaptation à la dégradation de l'isoproturon est due à l'acclimatation des microorganismes, la dégradation du pesticide par cométabolisme étant associée à la prolifération des organismes spécifiques qui utilisent l'isoproturon comme source d'énergie, et entraînant la déalkylation des deux chaînes latérales de la molécule, puis l'utilisation des atomes de C du cycle phényle.

## F2 - Minéralisation de l'atrazine et de l'isoproturon

Les cinétiques de minéralisation cumulées obtenues au cours des expérimentations en conditions contrôlées de laboratoire renseignent sur la dégradation ultime des pesticides et permettent de mettre en évidence des activités plus ou moins spécifiques impliquées dans la dégradation de ces pesticides. La minéralisation d'une substance active est différente en fonction du sol considéré. Ceci se traduit pour l'atrazine ou l'isoproturon par des taux et des cinétiques de minéralisation différents dans les sols GM, GB et NB. Les cinétiques de minéralisation, telles que présentées dans les figures 3.12 et 3.13, permettent d'apprécier l'adaptation des microorganismes d'un sol à la dégradation d'une substance active, en fonction du nombre d'applications successives. Dans les sols adaptés à la dégradation d'une substance active, les cinétiques sont caractéristiques, la minéralisation étant très rapide durant les premiers jours qui suivent l'apport de pesticide dans le sol. Ainsi, la minéralisation de l'atrazine dans le sol GM est toujours très rapide et les applications répétées ne provoquent pas des modifications de l'allure générale des cinétiques de

minéralisation, avec conservation de l'activité, bien que l'on observe une diminution des taux de minéralisation et des vitesses initiales de minéralisation, avec un décalage des vitesses maximales. Cette diminution des taux de minéralisation qui serait due ici aux applications répétées avait déjà été observée par Radosevich *et al.* (1997). Ces auteurs ont montré que le taux de minéralisation de l'atrazine diminuait lorsque son temps de résidence dans le sol augmentait. Ils ont suggéré que la diffusion de cette molécule dans les micropores du sol était à l'origine de la diminution de sa biodisponibilité pour les microorganismes. De même, Lehmann *et al.* (1990) ont montré que l'augmentation du coefficient de partage de désorption du fluroxypyr au cours du temps n'était pas due à une diminution de la concentration de la molécule en solution, mais à une forte rétention des molécules quand le temps d'incubation augmente, suggérant que ces molécules, restant adsorbées après incubation sont plus difficilement désorbables qu'en absence d'incubation. Ce qui pourrait être le cas de la diffusion des molécules d'atrazine, initialement adsorbées sur des sites facilement accessibles, vers des sites moins accessibles (Loiseau, 2001). Cette adsorption, responsable de la protection physique des molécules d'atrazine serait à l'origine de la compétition entre les processus de minéralisation et de formation des résidus de pesticide plus ou moins extractibles. D'autre part, le temps d'incubation des microcosmes pourrait ralentir le développement et l'activité des populations dégradantes dans le sol GM et ainsi provoquer une diminution des taux de minéralisation. Ce qui pose le problème de la compatibilité de ce type de dispositif simplifié de laboratoire pour réaliser des expérimentations de longue durée.

Dans les sols GB et NB, les applications répétées d'atrazine induisent une activité d'adaptation des microorganismes de ces sols à la dégradation de l'atrazine. D'une part, il y a disparition de la période de latence observée lors des incubations effectuées après la première application. D'autre part, les cinétiques de minéralisation ont une allure qui se rapprochent de celle du sol GM, avec une augmentation des taux de minéralisation à la fin de chaque application et des vitesses initiales de minéralisation.

Le comportement des sols GM et GB face à l'atrazine est en relation avec leur historique culturale. En effet, le GM est annuellement traité avec de l'atrazine depuis 1973, ce qui a provoqué le développement d'une activité dégradante spécifique, les microorganismes étant capables de minéraliser très rapidement l'atrazine dès le début des incubations, ce qui est semblable aux résultats de Barriuso et Houot (1996). Ces auteurs ont montré qu'une minéralisation rapide

de l'atrazine était liée, non seulement à l'historique cultural du sol considéré, mais aussi à la présence d'une population microbienne spécifique. Ainsi, la minéralisation très importante de l'atrazine dans le sol GM suppose l'existence de microorganismes avec un système enzymatique qui utilise l'atrazine comme source d'azote (Kaufman et Kearney, 1970; Cook et Hutter, 1981). C'est ce que Behki et Khan (1986, 1994) ont également observé en étudiant le rôle des microorganismes dans la minéralisation de l'atrazine sur un sol en culture de maïs et traité avec de l'atrazine pendant 15 ans. D'autre part, selon les travaux entrepris par Wagner et Chahal (1966), Dao *et al.* (1979) ou Levanon (1993) pour étudier le rôle des microorganismes dans la minéralisation du cycle triazinique, il apparaît que la minéralisation de l'atrazine est très faible voire nulle après apport de substance biocide dans les sols.

On observe le même comportement lors de la minéralisation de l'isoproturon dans le sol GB. L'allure des cinétiques de minéralisation laisse penser à l'existence de phénomènes d'adaptation de la microflore à la minéralisation de cet herbicide dans ce sol, sous monoculture de blé et ayant souvent été traité avec l'isoproturon. Le comportement des sols vis-à-vis de l'isoproturon a été moins étudié que pour l'atrazine, néanmoins, lors des applications répétées, les cinétiques iraient dans le sens de l'apparition des phénomènes d'adaptation des populations microbiennes du sol GM à la dégradation de l'isoproturon. Mais quelque soit le nombre d'applications, les taux d'isoproturon minéralisé et les vitesses de minéralisation restent toujours les plus élevés dans le sol GB, ce qui semble indiquer l'existence d'une population microbienne spécifique. La dégradation microbienne de l'isoproturon et d'autres phénylurées avait également été mise en évidence par Lehr *et al.* (1996) et Benoit *et al.* (1999b). Elle semble même être le principal processus responsable de la dégradation des phénylurées lorsque ces substances restent longtemps dans le sol (Tixier *et al.*, 2002; Sorensen *et al.*, 2003; Bending *et al.*, 2003). Cependant, certains auteurs ont affirmé que la dégradation chimique de l'isoproturon aurait une importance mineure dans les sols agricoles par rapport à la dégradation biologique. D'autres études ont montré que 40 à 50% du pesticide pouvaient être minéralisés en  $^{14}C - CO_2$  après un mois d'incubation à 15-20°C, suggérant ainsi une adaptation de la population microbienne due à une application de ce pesticide dans le même sol (Sorensen *et al.*, 2001a et b et 2003; Bending *et al.*, 2001). Ainsi donc, la molécule d'isoproturon semble présenter une certaine résistance à la dégradation après une seule application, lorsqu'elle est incubée en conditions contrôlées de laboratoire; ce

qui n'est pas nécessairement le cas au champ où cette molécule peut subir une dégradation photochimique complémentaire, créant ainsi des produits de dégradation qui peuvent s'accumuler dans l'environnement (Tixier *et al.*, 2000 et 2002; Fournier et Cartroux, 1975). En revanche, lorsqu'il n'y a pas d'adaptation, les cinétiques sont caractérisées par un temps de latence, variable en fonction du sol, c'est le cas de l'atrazine appliquée aux sols GB et NB, ou de l'isoproturon appliqué au sol GM.

Les taux de minéralisation d'un pesticide dans un sol dépendent de la nature du sol considéré et de ses propriétés biophysicochimiques. De même, les taux de minéralisation sont différents pour des pesticides différents appliqués dans un même sol. Ainsi, après chaque application, les taux de minéralisation de l'atrazine sont plus importants dans le sol GM que ne le sont ceux de l'isoproturon dans le sol GB.

L'évolution de la minéralisation des deux herbicides dans les sols possédant une population microbienne adaptée à leur dégradation est similaire, les taux de minéralisation à la fin des incubations de chaque application diminuant avec le nombre d'applications. Ceci traduit une diminution de la dégradation des pesticides par les microorganismes due, soit à la diminution de l'activité microbienne, la croissance des populations microbiennes ne se faisant plus ou dépend de l'atrazine (cas du sol GM) ou de l'isoproturon (cas du sol GB), soit à une diminution des populations microbiennes due à la modification du milieu d'incubation (Pätzold et Brümmer, 2003), soit à la conjugaison des deux phénomènes.

Plusieurs auteurs ont déterminé les demi-vie (tab. 3.4) de dissipation  $t_{1/2\ dis}$  et de minéralisation  $t_{1/2\ mine}$  de l'atrazine et de l'isoproturon (Kulshrestha, 1982; Mudd *et al.*, 1983; Blair *et al.*, 1990; Berger et Heitefuss, 1990; Dabène *et al.*, 1995; Perrin-Ganier, 1995; Hornsby *et al.*, 1996; Abdelhafid, 1998; Gong *et al.*, 2001; Charnay *et al.*, 2005). Certains résultats sont regroupés dans le tableau 3.4. Il apparaît, en comparant ces résultats, qui concernent des sols placés dans différents milieux, avec ceux que nous avons obtenus, qu'il existe des écarts dus aux caractéristiques bio-physicochimiques des sols et aux conditions climatiques du milieu.

TAB. 3.4 – Temps de demi-vie (en jours) de l'atrazine et de l'isoproturon estimés dans les sols GM, GB et NB comparés aux valeurs proposées par différents auteurs à la suite d'expérimentations dans les conditions contrôlée de laboratoire et au champ.

$t_{1/2}$ dis	$t_{1/2}$ mine	Conditions	humidité (%)	pH	Origines
<b>Atrazine</b>					
32	323	Laboratoire	90	8,1	Charnay <i>et al.</i> (2005)
5	-	- " -	85	8,4 - 8,2	Abdelhafid (1998)
70 - 77	-	- " -	-	-	Dabène <i>et al.</i> (1995)
60	-	Champ	-	-	Hornsby <i>et al.</i> (1996)
8-394	-	Photodécomposition	0 - 50	3,34 - 10,10	Gong <i>et al.</i> (2001)
-	22 - 127	Laboratoire	90	8,1	Charnay <i>et al.</i> (2005)
-	128 - 198	- " -	90	8,1	- " -
-	198 - 248	- " -	90	8,1	- " -
-	249 - 347	- " -	90	8,1	- " -
-	347 - 433	- " -	90	8,1	- " -
<b>Isoproturon</b>					
14	-	Dosage par HPLC	100	6,6	Perrin-Ganier (1995)
510	-	Champ	-	6,6	- " -
13	86	Laboratoire	90	8,1	Charnay <i>et al.</i> (2005)
38 - 46	-	- " -	40-80	5,8	Berger et Heitefuss (1990)
11 - 13	-	- " -	40-80	8,1	- " -
45 - 52	-	- " -	40-80	7,2	- " -
15-61	-	- " -	-	7,4	Blair <i>et al.</i> (1990)
19-85	-	- " -	-	8,3	- " -
15-16	-	- " -	42-90	7,6	Mudd <i>et al.</i> (1983)
40	-	Champ	-	7,6	- " -
12-15	-	- " -	-	8,3	Kulshrestha (1982)

### F3 - Évolution des résidus non extractibles

L'ensemble des cinétiques d'évolution des résidus non extractibles montrent que la formation et les quantités des résidus non extractibles d'un pesticide dépendent du sol. Pour un pesticide donné, il y a augmentation des concentrations des résidus non extractibles, non seulement avec le temps de résidence du pesticide dans le sol, mais aussi avec le nombre d'applications, sauf dans les sols adaptés à la dégradation d'un pesticide. Ainsi, dans les études de l'évolution des résidus extractibles avec les applications répétées, il a été démontré que la disponibilité des résidus de pesticides diminuait avec le temps quelque soit le sol ou le pesticide, tandis que les applications répétées affectaient peu les vitesses de dégradation des résidus extractibles. Par ailleurs, les applications répétées induisent une diminution relative des vitesses et taux de pesticides minéralisés dans les sols dont les populations microbiennes sont adaptées à la dégradation du

pesticide considéré. En reliant l'ensemble de ces résultats, on déduit que la formation des résidus non extractibles se fait au détriment des fractions minéralisées et extractibles. Ceci n'est pas en contradiction avec les études faites par d'autres auteurs qui ont aussi observé que la disponibilité et l'extractibilité des résidus de pesticides dans les sols diminue avec le temps de résidence du pesticide dans les sols (Barriuso *et al.*, 1991 ; Baluch *et al.*, 1993 ; Pignatello et Xing, 1996).

La formation des résidus non extractibles peut être d'origine abiotique (Wais, 1998) par une réaction directe entre le pesticide et les constituants organo-minéraux du sol ; ou d'origine biotique par incorporation du pesticide et/ou ses métabolites dans la biomasse microbienne des sols (Pons, 1994 ; Farrugia, 2002). La plupart des hypothèses avancées pour expliquer la formation des résidus non extractibles fait intervenir directement les constituants organiques des sols. Pour certains auteurs, une corrélation existe entre le taux de formation des résidus non extractibles d'un pesticide et la teneur totale en matière organique des sols (Calderbank, 1989 ; Benoit *et al.*, 1999a). L'incorporation du pesticide dans cette matière organique se fait par piégeage physique dans les microporosités des colloïdes organiques et/ou par l'établissement de liaisons covalentes entre le pesticide et/ou ses métabolites et les constituants organiques des sols (Mathur et Morley, 1978 ; Khan, 1982a ; Bertin, 1989 ; Bollag *et al.*, 1992 ; Burgos *et al.*, 1996 ; Scheunert et Schröder, 1998). L'importance relative de l'un ou l'autre mécanisme dépend de la réactivité chimique du pesticide ou de ses métabolites et de la nature des constituants organiques des sols (Benoit, 1994). Dans le cas de l'atrazine dont la molécule est peu réactive, la matière organique peu ou pas humifiée présente la plus grande capacité de formation et/ou de stockage de résidus non extractibles (Loiseau, 2001). Au contraire, dans le cas de l'isoproturon dont les premiers intermédiaires de dégradation sont chimiquement très actifs, les résidus non extractibles se formeraient principalement par association avec des matières organiques plus humifiées (Gaillardon *al.*, 1980). En ce qui concerne la stabilisation biologique des pesticides, certains auteurs ont montré que l'atrazine était utilisée comme source d'azote par les populations microbiennes dégradantes (Kaufman et Kearney, 1970 ; Cook et Hutter, 1981), ce qui aurait pour conséquence, d'une part la rupture du cycle triazinique et l'incorporation des résidus d'atrazine dans biomasse microbienne, la microorganismes devenant ainsi un compartiment d'activation et/ou de stockage des résidus non extractible ; et d'autre part le  $^{14}C - CO_2$  est respiré car son état d'oxydation est très élevé. D'autre part, l'adsorption du pesticide dans les microporosités des matières organiques du sol ou

dans les micro-particules des matières organo-minérales sont également les causes possibles de la formation des résidus non extractibles. Les processus de distribution entre les phases du sol d'hydrophobicité différente pourraient conduire à la formation des résidus non extractibles dans les sols (Pignatello et Xing, 1996 ; Marschner, 1999). La formation des résidus non extractibles semble dépendre des processus différents suivant le pesticide et les conditions du milieu (Wais *et al.*, 1996 ; Guth, 1996 ; Kopinke *et al.*, 1996 ; Reuter et Scheunert, 1996 ; Thiele et Brümmer, 1996).

La libération des résidus non extractibles constitue une préoccupation tant du point de vue agronomique (arrière effet sur des cultures sensibles) qu'environnemental (lessivage et pollution des eaux souterraines). L'évolution des résidus non extractibles se décompose en deux étapes : une première phase de stockage après le traitement, suivie, dans certains cas, par l'élimination progressive avec des vitesses très lentes (Bertin et Schiavon, 1989). Ainsi, une proportion variable de résidus non extractibles est susceptible d'être libérée. Après chaque application de pesticides, l'accumulation ou le stockage des résidus non extractibles sont observés dans les trois sols. Quant à la réversibilité du stockage des résidus non extractibles, elle semble, entre autres, dépendre des applications répétées, de la remobilisation des résidus non extractibles et du temps de contact entre le sol et les résidus non extractibles. Les résidus non extractibles d'atrazine sont plus persistants dans les sols non adaptés que ceux de l'isoproturon. La diminution des concentrations des résidus non extractibles avec le temps et avec le nombre d'applications est observée pour l'atrazine, dans le sol GM, et pour l'isoproturon dans le sol GB, tous deux respectivement adaptés à la dégradation des deux pesticides. Cette diminution pourrait être le résultat d'une diminution de la formation de ce type de résidus après l'application d'atrazine ou d'isoproturon, mais aussi d'une remobilisation suivie d'une libération des résidus non extractibles issus des applications précédentes. En revanche, après chacune des trois applications d'isoproturon, la formation plus ou moins rapide des résidus extractibles est suivie d'une lente diminution des concentrations des résidus non extractibles, traduisant une faible remobilisation et une libération lente des résidus non extractibles.

Par ailleurs, il a été observé que les taux de résidus non extractibles diminuaient de la première à la troisième application pour de durées d'incubation équivalentes, ce phénomène étant plus évident pour les sols GM et GB dont les populations microbiennes sont adaptées à la dégra-

dation respectivement de l'atrazine et de l'isoproturon. Ce comportement traduirait le fait que la formation des résidus non extractibles ne serait pas favorisée par des apports supplémentaires de pesticides, les applications répétées semblant plutôt induire l'augmentation, soit de la vitesse de minéralisation et des taux minéralisés (isoproturon dans le sol GB), soit des taux de résidus extractibles (atrazine dans le sol NB ou isoproturon dans les sol GM, GB et NB).

La remobilisation des résidus non extractibles est souvent due à leur faible minéralisation. Dans le cas d'une simple application d'atrazine sur le compost ou la paille, Pons (1994) avait observé que le taux de reminéralisation des résidus non extractibles diminuait quand la concentration de ces résidus non extractibles augmentait. C'est ce même phénomène qui semble à l'origine de ce qui est obtenu avec les applications répétées, la remobilisation des résidus non extractibles s'opérant suivant la nature des sols et des pesticides, et leur mode de stabilisation sous formes de résidus non extractibles. Ces résultats peuvent être reliés à l'activité des microorganismes. En effet, selon des études menées par plusieurs auteurs, les microorganismes peuvent intervenir dans la libération des résidus non extractibles par rupture des liaisons établies entre le pesticide et les constituants du sol responsables de leur formation (Liebich *et al.*, 1999). Khan et Ivarson (1982) constatent que la nature de la population microbienne n'influe pas significativement sur la quantité des résidus libérés, en sélectionnant et en incubant quatre souches différentes de microorganismes spécifiques de la dégradation de la cellulose, des protides, des lipides et de la lignine. D'autres études ont démontré des possibilités de dégradation des liaisons sol-pesticide, suivie de la libération des résidus non extractibles de pesticides. Khan et Bekhi (1990), en incubant en présence d'une biomasse spécifique (*Pseudomonas*) certains résidus de l'atrazine, obtiennent la libération de 35% des résidus non extractibles en 80 *j*. Pour plusieurs auteurs, la stabilité biologique a été mise en évidence en étudiant la minéralisation des résidus non extractibles (Capriel *et al.*, 1985; Calderbank, 1989; Pons, 1994). Pour les résidus non extractibles d'atrazine, la minéralisation serait assurée par les microorganismes (Pons, 1994). Pour un sol, elle diminue lorsque la concentration en résidus non extractibles augmente; d'autre part, la remobilisation s'opère suivant la nature des résidus non extractibles et leur mode de stabilisation. Ainsi Dec *et al.* (1990) parlent de deux types de résidus non extractibles de 2,4-D; les résidus non extractibles résistants à l'activité microbienne seraient formés avec la part des pesticides liés aux constituants organiques du sol pendant leur humification, et la part de ces résidus retenue sur les surfaces des

colloïdes humiques serait plus accessibles aux microorganismes, restant ainsi disponibles pour la minéralisation.

## G Conclusion

Le protocole d'extraction appliqué aux échantillons a permis l'acquisition des informations cinétiques sur l'évolution de l'extractatibilité entre les résidus "disponibles" ou extractibles à l'eau et les résidus "potentiellement disponibles" ou extractibles au méthanol. Les notions de disponibilité des résidus de pesticide permettent d'apprécier les quantités de résidus d'atrazine et d'isoproturon disponibles à partir des échantillons des sols pour passer dans la solution de sol et y être dégradés. Les résultats obtenus montrent que la disponibilité des résidus de pesticides dans les sols diminue avec le temps, en relation directe avec les cinétiques de minéralisation. Dans le cas de l'atrazine, il y a une diminution très rapide des résidus aqueux dans le sol GM adapté à la dégradation de cet herbicide. Cette diminution est plus progressive dans les autres sols. Pour l'isoproturon, l'adaptation à la dégradation dans le sol GB se traduit par une diminution très rapide des résidus hydrosolubles qui deviennent négligeables après 10 *j* d'incubation. Dans les autres sols, il faut attendre 60 *j* pour que les résidus hydrosolubles soient au même niveau que dans le sol GB.

Pour un même sol, les applications répétées ne modifient pas l'allure des cinétiques d'extraction des résidus hydrosolubles d'atrazine. Dans le cas de l'isoproturon, les taux de résidus extraits semblent relativement indépendants du nombre d'applications dans les trois sols étudiés. En revanche, les applications répétées d'atrazine tendent à provoquer une diminution des quantités de résidus hydrosolubles dans les trois sols. Les extractions méthanoliques, après les extractions aqueuses, permettent la récupération d'une quantité additionnelle de résidus. Pour les deux herbicides étudiés, les quantités extractibles à l'eau et au méthanol restent comparables, car il s'agit d'herbicides avec une solubilité dans l'eau relativement élevée. La part extraite avec le méthanol, par rapport à celle qui est extraite avec l'eau, augmente avec le temps d'incubation. L'ensemble des résultats d'extraction obtenus lors des incubations effectuées après les applications répétées des deux pesticides dans les trois sols montre que, dans le cas de l'atrazine, l'induction

d'une activité biologique de dégradation dans le sol GB provoque des modifications des cinétiques d'extraction.

Les cinétiques de minéralisation renseignent sur la dégradation complète des pesticides et permettent de mettre en évidence des activités microbiennes plus ou moins spécifiques impliquées dans la dégradation des pesticides. Le développement des activités spécifiques impliquées dans la dégradation des pesticides a fait partie des critères utilisés pour le choix des situations agropédologiques.

À travers les cinétiques de minéralisation obtenues lors des incubations des trois sols en conditions contrôlées, on constate que, pour un même pesticide, les cinétiques dépendent du sol. Les cinétiques de minéralisation permettent de donner une indication sur la conservation ou la modification des phénomènes de dégradation lors des applications répétées. On constate, par exemple, que dans les sols où une probable activité microbienne de dégradation accélérée existe, les cinétiques de minéralisation conservent la même allure lors des applications répétées de pesticides. C'est le cas du sol GM, à pH alcalin, pour l'atrazine et du sol GB, également à pH alcalin, pour l'isoproturon. En revanche, les applications répétées d'atrazine dans le sol GB induisent une modification des cinétiques de minéralisation, de telle manière qu'après trois applications successives, la minéralisation de l'atrazine se fait selon des cinétiques proches de celles observées dans le sol GM, mais sans atteindre le même taux de minéralisation. Il en est de même pour le sol NB, à pH acide; mais après trois applications, la vitesse de minéralisation reste inférieure aux vitesses observées dans les sols GM et GB à pH alcalin provenant de Grignon. Dans le cas de l'isoproturon, on retrouve le même type de comportement avec induction d'une adaptation à la minéralisation dans le sol GM après trois applications, et l'obtention de cinétiques proches de celles qui sont obtenues dans le sol GB. Dans le sol NB, les cinétiques de minéralisation cumulée de l'isoproturon semblent relativement indépendantes du nombre d'applications (fig. 3.12 et 3.13). Enfin, les taux minéralisés diminuent ou restent comparables lorsque le nombre d'applications consécutives augmente, sauf dans les cas des sols GB traité avec de l'atrazine ou GM avec de l'isoproturon. Ces résultats sont semblables à ceux obtenus par Houot *et al.* sur l'atrazine. Ces auteurs ont montré, d'une part, que les applications répétées d'atrazine dans un sol n'ayant jamais reçu cet herbicide provoquait sa minéralisation rapide; et d'autre part, que la minéralisation de l'atrazine est plus favorable dans les sols à pH alcalin que dans les sols à pH

acide.

La formation des résidus non extractibles d'isoproturon est plus rapide dans les trois sols que ne l'est celle de l'atrazine. Les applications répétées provoquent une augmentation significative des résidus non extractibles dans tous les sols, en dehors du sol GM appliqué avec de l'atrazine dans lequel les taux de résidus non extractibles restent stables et semblent ne pas dépendre du nombre d'applications. Mais pour tous les sols, les quantités de résidus non extractibles formés, propres à une apport supplémentaire de pesticides dans le sol, sont inférieures à celles formés lors de l'application précédente. Il en résulte que les taux de résidus non extractibles formés lors des apports supplémentaires d'atrazine ou d'isoproturon sont moins élevés ou deviennent nuls (cas des sols adaptés GM appliqué avec de l'atrazine ou GB appliqué avec de l'isoproturon) que ceux obtenus lors des applications précédentes.

Dans le sol GM adapté à la dégradation de l'atrazine, les applications répétées semblent relativement inhiber les vitesses de dégradation de la molécule mère et de dissipation des résidus extractibles, mais la troisième application semble induire l'augmentation de la vitesse de minéralisation. Dans les sols non adaptés à la dégradation de l'atrazine, les applications répétées, d'une part dans le sol GB, inhibent la vitesse de dissipation de la molécule mère, et induisent l'augmentation des vitesses de dégradation des résidus extractibles et de minéralisation ; d'autre part dans le sol NB, elles n'ont pas d'effet significatif dans la dissipation de la molécule et dans la dégradation des résidus extractibles, mais elles provoquent une augmentation relative de la vitesse de minéralisation. Dans tous les sols, les applications répétées d'isoproturon ont peu d'effet sur la dissipation de la molécule mère et sur la dégradation des résidus extractibles. En revanche, elles semblent inhiber les vitesses de minéralisation dans les sols GB et NB adaptés, mais n'ont aucun effet significatif sur la vitesse de minéralisation dans le sol GM non adapté. non extractibles. Pour les deux pesticides, on observe, lors des applications répétées, que les concentrations de résidus non extractibles diminuent dans tous les sols avec le temps ; ce qui semble traduire une remobilisation suivie d'une lente libération des résidus non extractibles.

## Chapitre 4

# Devenir de l'atrazine lors des applications répétées dans les dispositifs lysimétriques en conditions de plein champ

### A Introduction

Les problèmes de contamination des eaux par les pesticides sont souvent associés à leur dispersion dans l'environnement. De telle sorte que l'évaluation des risques de contamination est basée sur les résultats des recherches pour comprendre les mécanismes responsables de la dispersion, évaluer les quantités de produits transportées, identifier la nature chimique des molécules entraînées, et apprécier le comportement et les conséquences écologiques des pesticides dans les milieux naturels (Jamet, 1983).

Nous avons vu dans les chapitres précédents que les transformations subies par un pesticide dans le sol peuvent être influencées par de nombreux paramètres, les principaux étant les caractéristiques physico-chimiques et biologiques du sol, les conditions climatiques, les propriétés du

pesticide (Schiavon et *al.*, 1977 ; Schiavon, 1980 ; Schiavon et *al.*, 1990, 1992 ; Perrin-Ganier, 1995 ; Perrin-Ganier et *al.*, 1995). En revanche les mouvements des pesticides dans le sol dépendent des phénomènes de diffusion, de flux de masse et de transport à l'état adsorbé. Ces mouvements conditionnent la lixiviation et le lessivage du produit et sa distribution dans le sol en fonction de la profondeur et du temps.

Pour étudier le transfert d'un pesticide, il est possible d'estimer la mobilité potentielle à partir des propriétés d'adsorption. Une autre démarche, effectuée par Jamet (1991), est d'utiliser les temps de rétention obtenus par chromatographie sur couche mince de sol, pour évaluer la résistance des pesticides à l'entraînement par lessivage ; cependant Kördel et *al.*, (1991) estiment que le comportement de migration sous conditions naturelles ne correspond pas à un comportement chromatographique idéal. Ces auteurs préfèrent les études en colonnes de sol qui prennent en compte la structure du sol. Ainsi, deux approches sont utilisées pour l'étude du transfert des pesticides :

- une estimation de la mobilité potentielle, faite à partir des calculs ou simulations tenant compte des caractéristiques physico-chimiques de la molécule et du milieu d'étude ;
- une évaluation du transfert, faite à partir de données quantitatives obtenues en parcelle ou plus généralement en colonnes de sol.

Selon Leake (1991), les lysimètres ou colonnes de sol seraient un intermédiaire entre une situation de laboratoire, qui détermine des potentialités, et une situation au champ, qui compte des incertitudes. Cette approximation de l'écosystème agricole serait un modèle suffisamment fidèle pour estimer les prélèvements par les plantes, le déplacement de la molécule mère et de ses métabolites dans la couche de labour et le lessivage, en fonction des précipitations (Führ, 1985 ; Kubiak et *al.*, 1988). De l'avis de Leake (1991), les principaux avantages des colonnes de sol seraient :

- le maintien possible de la structure du sol,
- la facilité de récolte des percolats,
- l'utilisation éventuelle de molécules marquées qui améliore la sensibilité de la détection et permet une quantification des résidus,
- la possibilité de profiter d'une pluviométrie naturelle,
- la faculté de réaliser tous les événements cultureux classiques (labour, amendements, rota-

tion.)

Les difficultés des expérimentations en lysimètres sont rencontrées lors de l'échantillonnage des sols sans perturbation de la structure. Un autre problème concerne le choix du diamètre des colonnes. Celui-ci doit être approprié au type de sol afin de limiter les effets de bord ; les sols les plus argileux représentent les cas les plus délicats (Leake, 1991).

Dans le but d'évaluer l'influence des facteurs climatiques, des caractéristiques physico-chimiques des sols et des propriétés des pesticides sur le devenir des pesticides en conditions naturelles, des études sont entreprises, dans notre travail, sur des lysimètres de sols de petites taille pour simuler les processus impliqués dans la dissipation des pesticides dans les sols lors des applications répétées. Dans ce cadre, il s'agit d'étudier sur deux sites différents par leurs conditions climatiques, la dynamique de formation et d'exportation des résidus d'un pesticide, l'atrazine, ainsi que son état de disponibilité et de dégradation dans les couches de trois sols, différents par leur provenance et/ou leur historique cultural. Le suivi de la percolation et l'utilisation de la technique d'extraction en cascade déjà utilisée précédemment permettent de quantifier la persistance et d'accéder aux résidus extractibles. Les résidus ainsi extraits sont analysés par chromatographie pour connaître leur nature chimique. L'évolution des résidus non extractibles a été suivie en utilisant la combustion par oxidizer sur les échantillons de sols après les extractions. Dans ce travail, l'atrazine est le pesticide utilisé. Cet herbicide est appliqué sur des dispositifs lysimétriques permettant de simuler son devenir dans trois sols placés dans des conditions climatiques propres à Grignon et à Nancy, en mesurant des proportions successives de pesticide extractible ou non.

## **B Fonctionnement des lysimètres : Variations des paramètres climatiques dans les couches des lysimètres**

### **B1 - Température**

On observe un gradient de température inversé par rapport à la température ambiante : une diminution de la température avec la profondeur en été ; alors qu'en hiver, la température augmente avec la profondeur. À l'échelle de la journée ou de la semaine, dans les deux sols, les

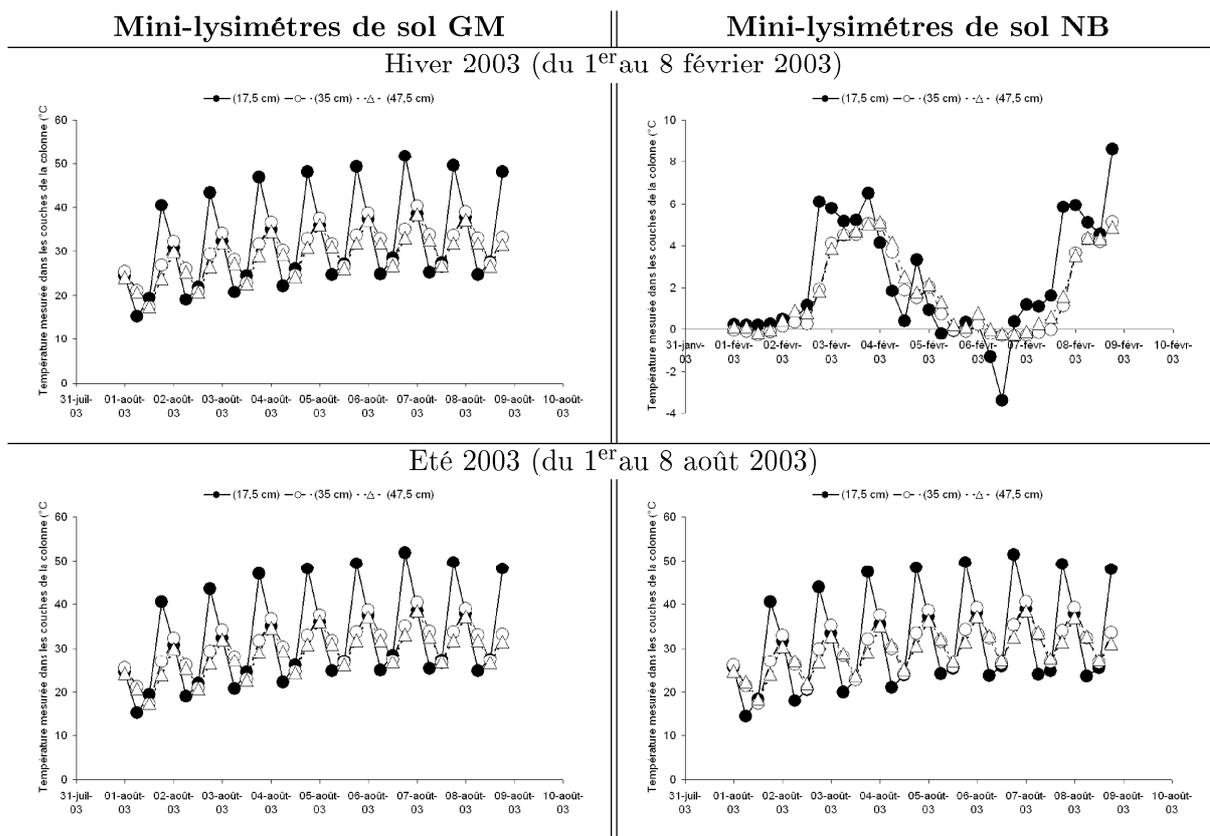


FIG. 4.1 – Exemple de fluctuations hebdomadaire de la température pendant l'hiver et pendant l'été dans les trois couches des mini-lysimètres de sols GM et NB installés à Grignon.

amplitudes thermiques sont plus importantes dans la couche de surface (0 – 17,5 cm) que dans les couches plus profondes (fig. 4.1 et 4.2). Les variations moyennes au cours de la période étudiée sont semblables dans les trois couches des sols. Les maxima de température sont atteints aux mois de juin 2002 et août 2003. Ainsi, dans les couches 17,5 ; 35 et 47,5 cm des mini-lysimètres, on a mesuré 21 ; 21,2 et 20,6 °C dans le sol GM et 21,6 ; 23 et 21,9 °C dans le sol NB au mois de juin 2002 et 27,2 ; 26,6 et 25,7 °C dans le sol GM et 27,0 ; 26,6 et 26,1 °C dans le sol NB au mois d'août 2005. Les températures minimales ont été enregistrées en janvier et février 2003, avec respectivement 1,7 ; 1,8 et 1,8 et 1,9 ; 2,2 et 2,1 °C dans les couches du sol GM et 2,4 ; 2,6 et 2,4 et 2,6 ; 2,2 et 2,5 °C dans les couches du sol NB.

La température moyenne au moment du premier apport d'atrazine dans les microlysimètres a été de 12,6 °C à Grignon au mois de d'avril 2002 (12,7 °C durant le même mois de l'année 2003). Par contre au moment de l'apport du pesticide sur les mini-lysimètres, la température moyenne a été de 21,4 °C au mois de juin 2002 (21,5 °C en juin 2003).

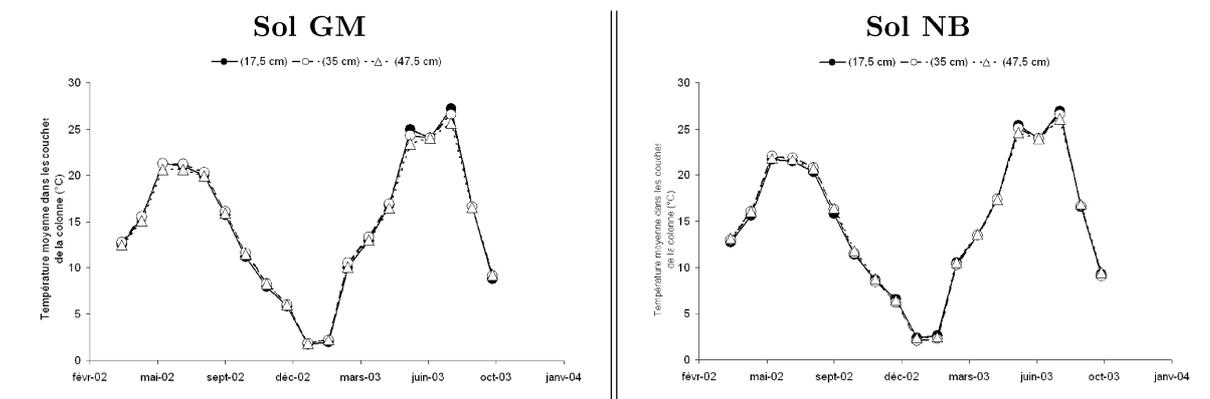


FIG. 4.2 – Variations de la température moyenne dans les trois couches des mini-lysismètres de sols GM et NB installés à Grignon pendant une période de 18 mois. La température moyenne mensuelle a été obtenue par le calcul des moyennes de températures journalières.

## B2 - Teneur et potentiel de l'eau

La figure 4.3 présente les variations du potentiel de l'eau dans les différentes couches des mini-lysismètres. Il y a une homogénéité des variations des teneurs en eau à différentes profondeurs dans les lysismètres de sol GM (fig. 4.4), ainsi qu'à 10 et 25 cm dans le lysimètre de sol NB.

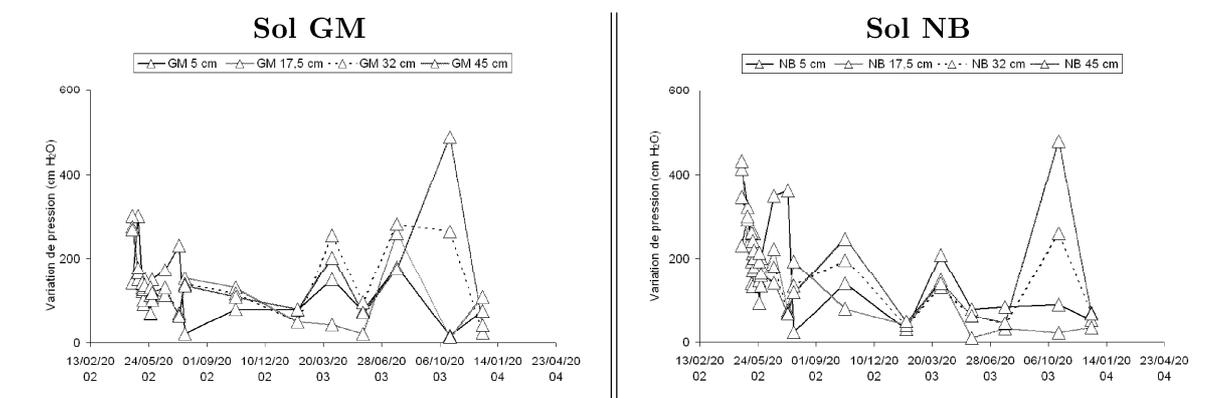


FIG. 4.3 – Potentiel de l'eau dans quatre couches des lysismètres des sols GM et NB.

## B3 - Fonctionnement hydrique des colonnes

Les lysismètres ont été mis en condition d'extérieur pendant 300 j avant l'apport du pesticide, pour vérifier le bon fonctionnement hydrique. Mis en place en juin 2001, après 5 mois de fonctionnement une humidification homogène et des volumes de percolation similaires pour l'ensemble des lysismètres ont été obtenus. L'atrazine a été appliquée au mois d'avril 2002 dans les micro-lysismètres, et en juin 2002 dans les mini-lysismètres. Dans la figure 4.5, les événements pluvieux

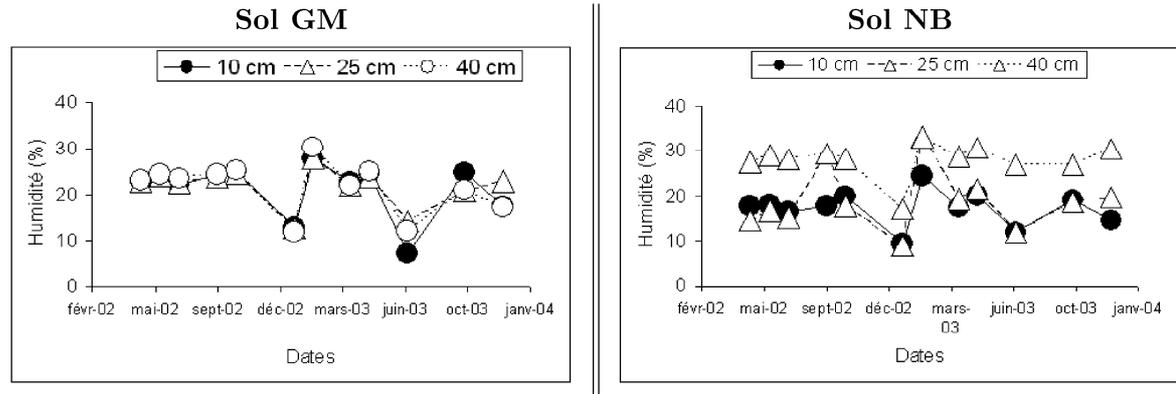


FIG. 4.4 – Variations de l'humidité dans les mini-lysismètres des sols GM et NB

et les valeurs de percolats sont représentés en fonction du temps de mise en fonctionnement des lysimètres.

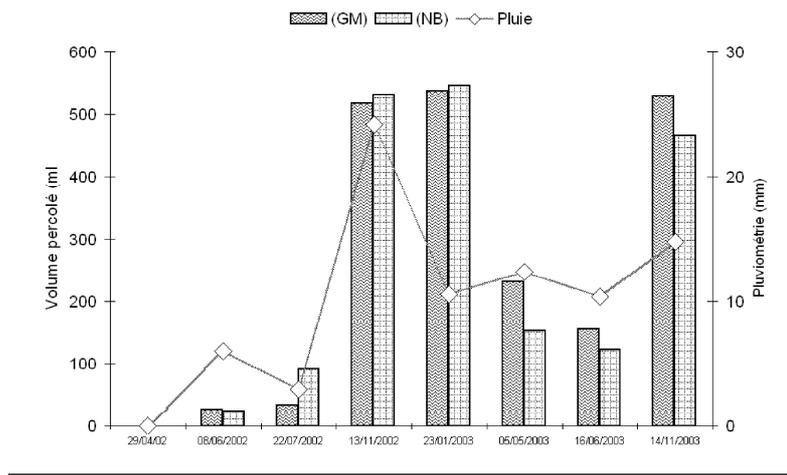


FIG. 4.5 – Pluviométrie sur le site d'expérimentation de Grignon et volumes des percolats dans les mini-lysismètres des sols GM et NB (GM et NB représentent les lysimètres de sols GM et NB, "pluie" représente la pluviométrie au cours de la période d'expérimentation).

## C Percolation des résidus de $^{14}\text{C}$ -atrazine dans les lysimètres

La radioactivité des percolats recueillis au cours de la période d'expérimentation renseigne sur la mobilité et sur la dissipation du pesticide dans le sol. La figure 4.6 montre les teneurs de résidus de  $^{14}\text{C}$ -atrazine percolés dans les micro-lysismètres des sols GM et GB. Les quantités percolées sont inférieures à 1% de l'atrazine appliquée, et cela quelque soit le sol ou le type de lysimètre. C'est dans le sol GB où le taux de résidus de  $^{14}\text{C}$ -atrazine percolé est le plus important : 0,44%

de la dose appliquée, 15 mois après la première application du pesticide dans les micro-lysismètres et 0,38% de la radioactivité appliquée 12 mois après l'application dans les mini-lysismètres. La figure 4.7 montre les teneurs de résidus de la  $^{14}\text{C}$ -atrazine percolés au cours des expérimentations effectuées à Nancy dans les deux micro-lysismètres des sols GB et NB après une seule application de la  $^{14}\text{C}$ -atrazine.

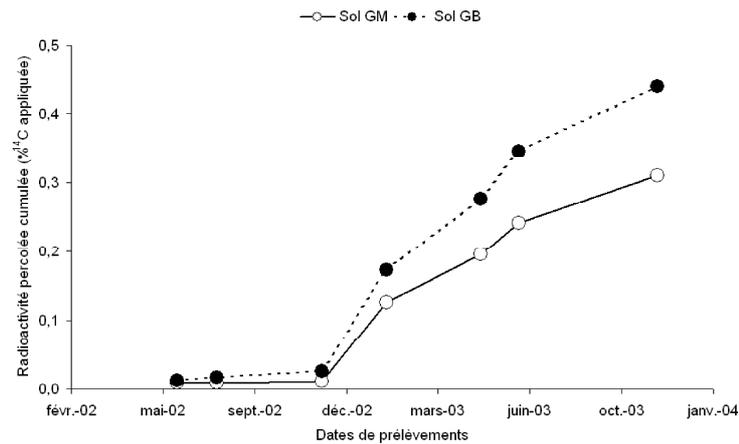


FIG. 4.6 – Radioactivité cumulée récupérée dans les percolats des micro-lysismètres des sols GM et GB installés à Grignon. Les résultats sont exprimés en %  $^{14}\text{C}$  appliqué.

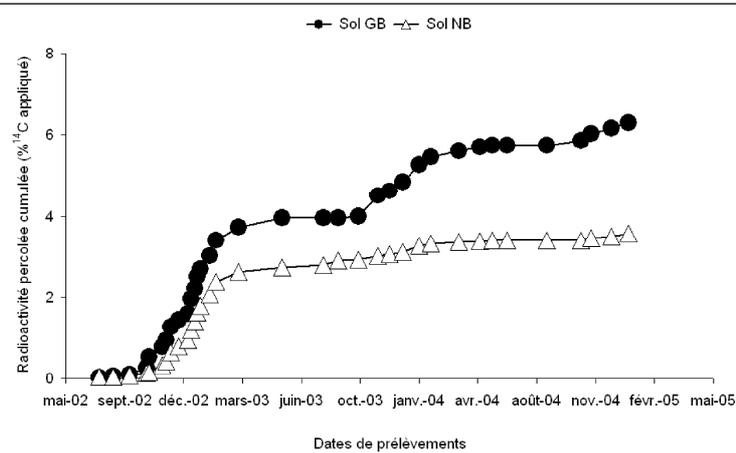


FIG. 4.7 – Radioactivité cumulée récupérée dans les percolats des microlysismètres des sols GB et NB installés à Nancy. Les résultats sont exprimés en %  $^{14}\text{C}$  appliqué.

La période de percolation la plus intense se situe entre décembre et juin. Par ailleurs, les effets dus au "traitement d'été", au mois de juin, simulés par l'application d'atrazine sur les mini-lysismètres des sols GM et GB installés à Grignon, se manifestent au travers des différences de radioactivité mesurée dans les percolats recueillis dans les micro et mini-lysismètres.

La comparaison des quantités de résidus percolés dans les micro-lysimètres du sol GB installés à Grignon et Nancy permet de mettre en évidence l'effet déterminant du climat et du régime des précipitations dans la dynamique des pertes d'atrazine par lixiviation. Le climat de Nancy est plus humide que celui de Grignon. Par ailleurs, les précipitations ont été plus abondantes durant la période d'expérimentation. Ceci semble justifier les volumes de percolats et les quantités de radioactivité percolée plus importants à Nancy qu'à Grignon.

## D Évolution des résidus d'atrazine dans les couches des lysimètres

### D1 - Évolution des résidus totaux dans l'ensemble des couches des lysimètres

L'évolution des résidus hydrosolubles, méthanoliques et non extractibles de la  $^{14}\text{C}$ -atrazine dans les couches des lysimètres installés à Grignon et à Nancy, lors des applications répétées ou non est illustrée dans les figures 4.8 à 4.14.

D'une manière générale, après la première application d'atrazine dans les micro-lysimètres des sols GM et GB installés à Grignon, ou des sols GB et NB installés à Nancy, on constate une diminution rapide des résidus totaux extractibles (hydrosolubles et extraits au méthanol) entre 1 et 3 mois (fig. 4.8 et 4.9). Jusqu'au troisième mois, la plupart des résidus extractibles se trouvent dans la couche superficielle 0–5 cm. Mais entre 6 et 12 mois, la proportion des résidus extractibles augmente avec la profondeur. À partir de 6 mois, dans tous les lysimètres, on retrouve du  $^{14}\text{C}$  extractible dans la couche la plus profonde (15–20 cm). De même, on retrouve de la radioactivité dans la semelle de labour (couche 20–25 cm) de tous les micro-lysimètres des sols GB et NB installés à Nancy. Des voies de circulation rapide, dues aux précipitations plus importantes à Nancy qu'à Grignon, seraient à l'origine de ce comportement singulier.

Dans les mini-lysimètres des sols GM, GB et NB uniquement installés à Grignon (fig. 4.11), l'évolution des résidus d'atrazine est similaire dans les trois sols, après 12 mois, à celle observée dans les micro-lysimètres des sols GM et GB, avec une diminution progressive des résidus totaux

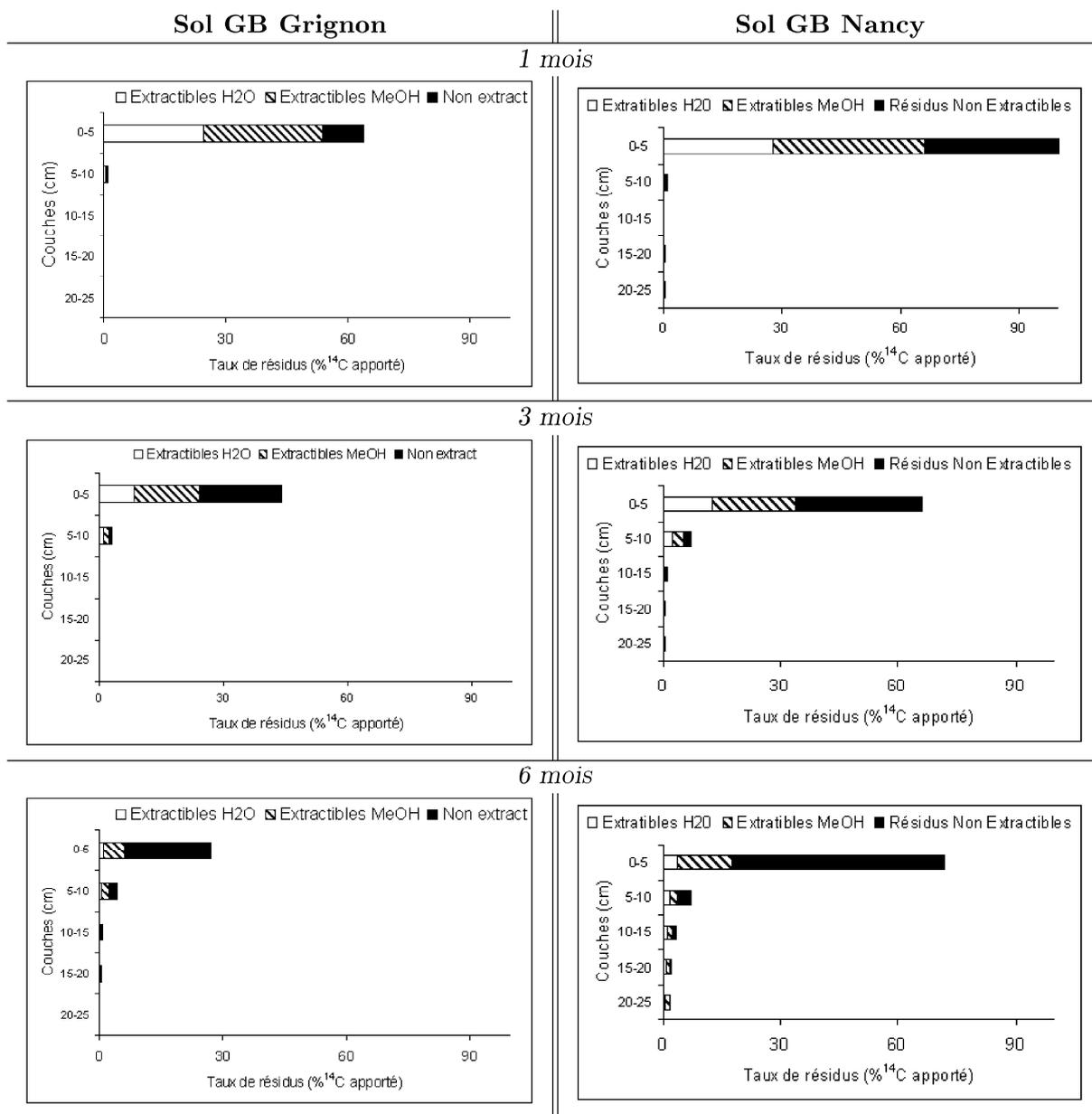


FIG. 4.8 – Évolution des résidus de  $^{14}\text{C}$ -atrazine dans les couches des micro-lysimètres de sol GB installés à Grignon et à Nancy. Répartition des résidus extraits à l'eau et au méthanol, et non extractibles, 1, 3 et 6 mois après la première application d'atrazine.

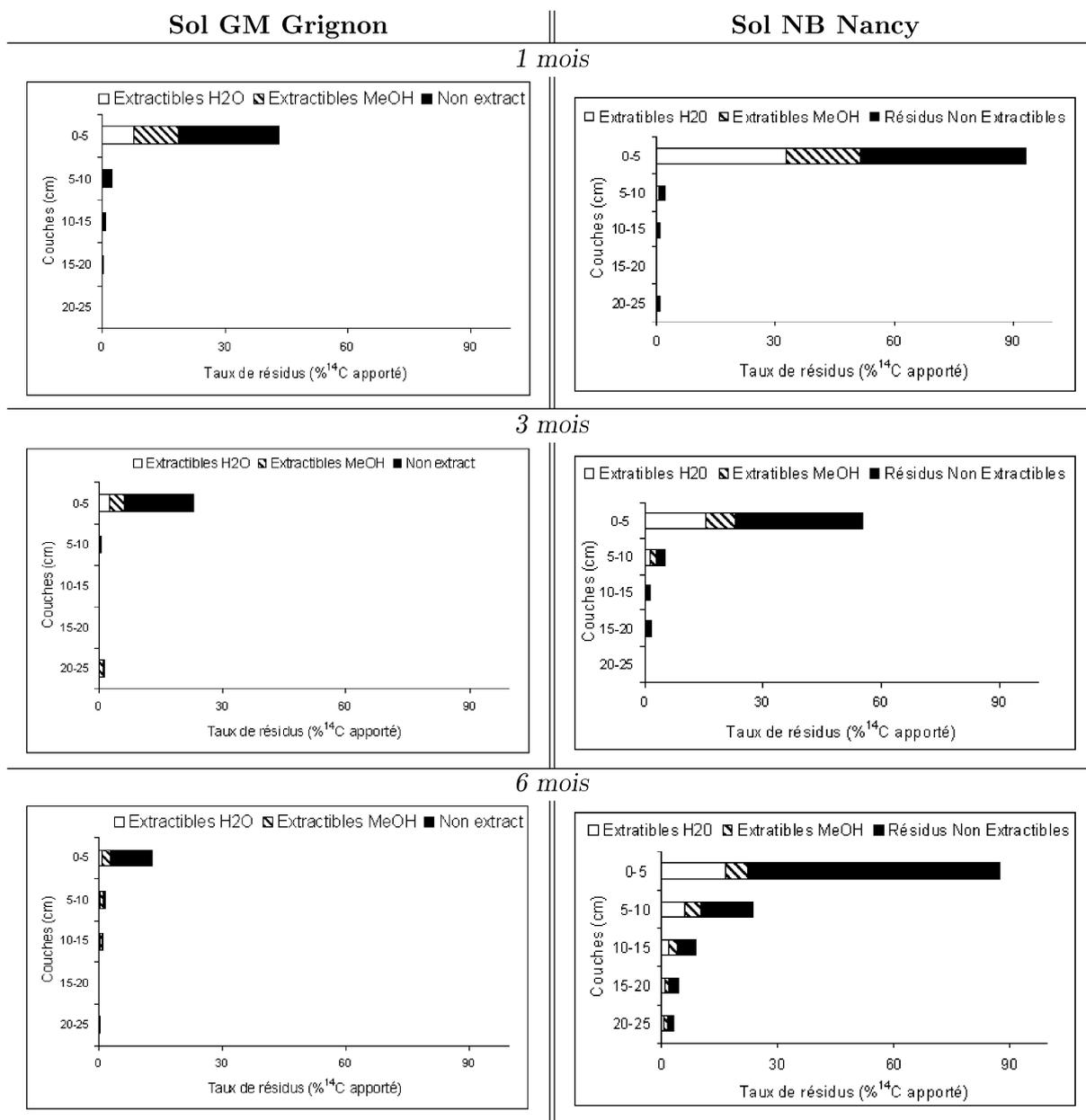


FIG. 4.9 – Évolution des résidus de  $^{14}\text{C}$ -atrazine dans les couches des micro-lysimètres des sols GM et NB installés à Grignon et à Nancy. Répartition des résidus extraits à l'eau et au méthanol, et non extractibles, 1, 3 et 6 mois après la première application d'atrazine.

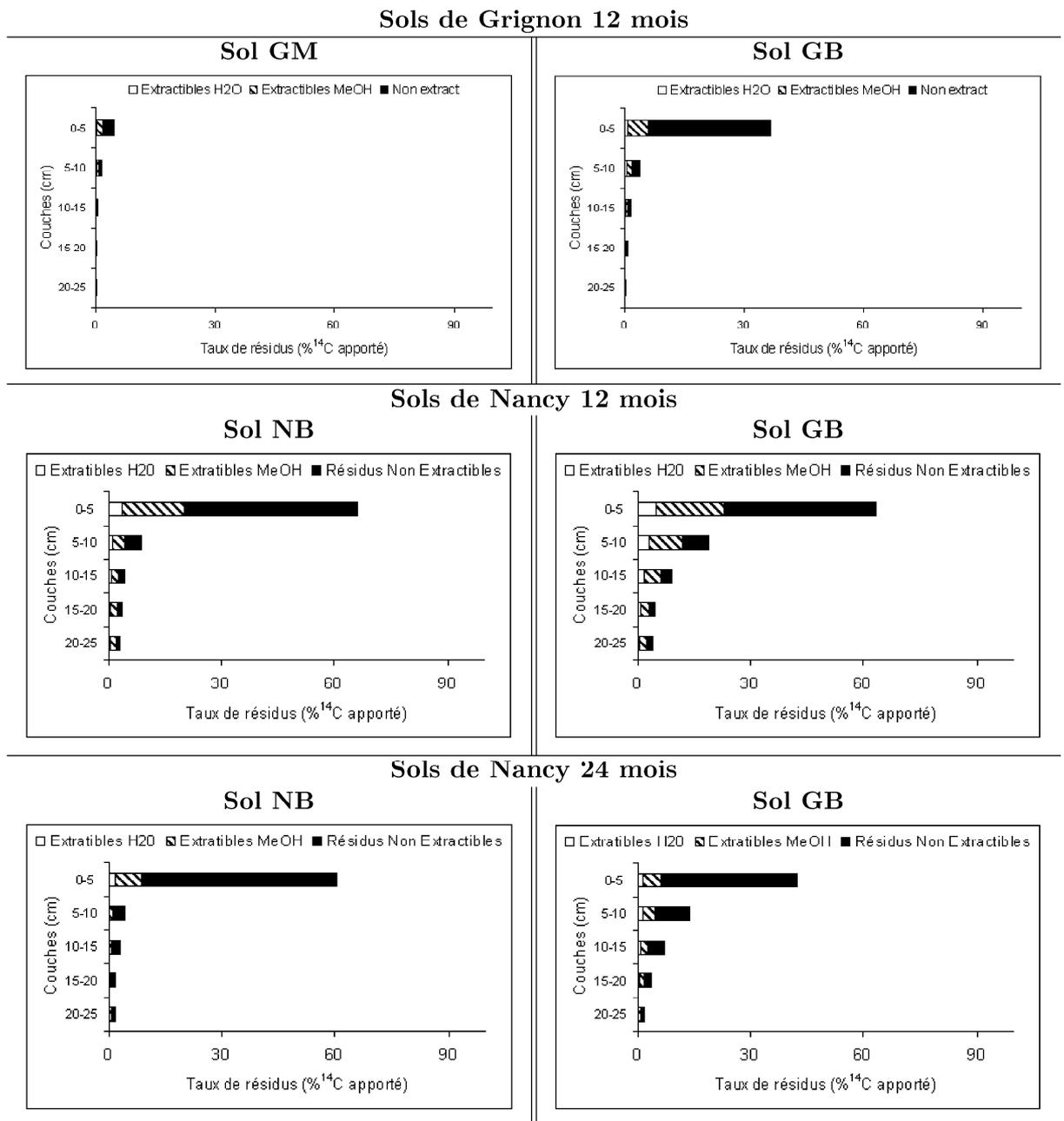


FIG. 4.10 – Évolution des résidus de  $^{14}\text{C}$ -atrazine dans les couches de micro-lysimètres des sols GM et GB installés à Grignon et des sols GB et NB à Nancy. Répartition des résidus extraits à l'eau et au méthanol, et non extractibles, 12 et 24 mois après la première application d'atrazine.

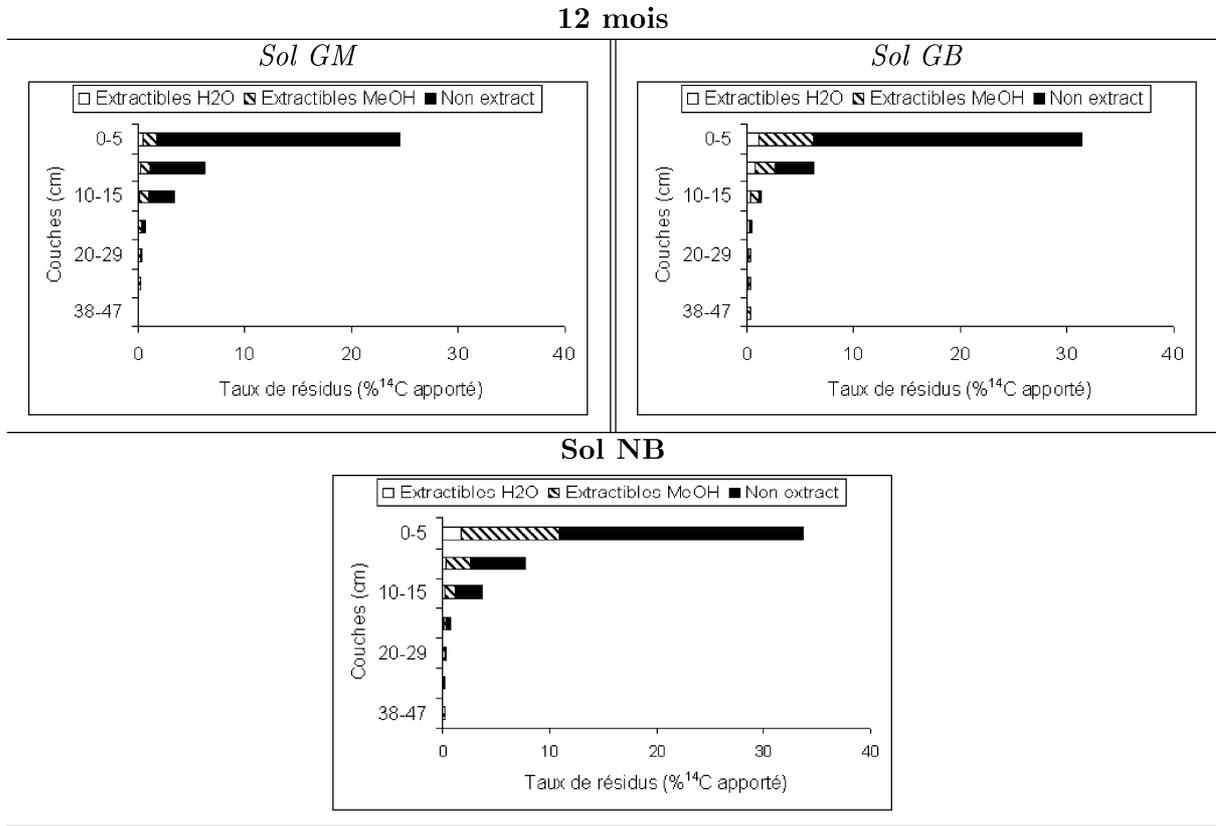


FIG. 4.11 – Évolution des résidus de  $^{14}\text{C}$  – atrazine dans les couches des mini-lysismètres des sols GM, GB et NB installés à Grignon. Répartition des résidus extraits à l'eau et au méthanol, et non extractibles, 12 mois après la première application d'atrazine.

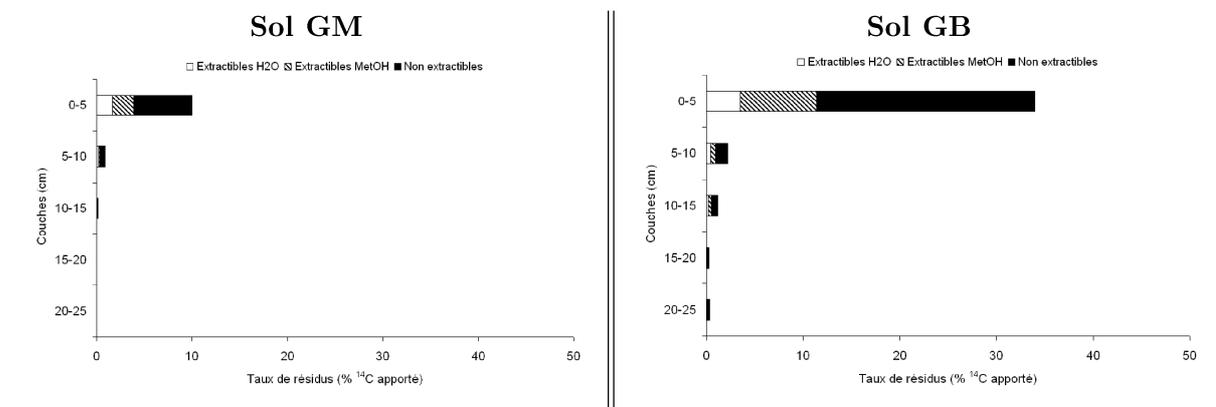


FIG. 4.12 – Évolution des résidus de  $^{14}\text{C}$ -atrazine dans les couches des micro-lysismètres des sols GM et GB installés à Grignon. Répartition des résidus extraits à l'eau et au méthanol, et non extractibles, 3 mois après la deuxième application d'atrazine.

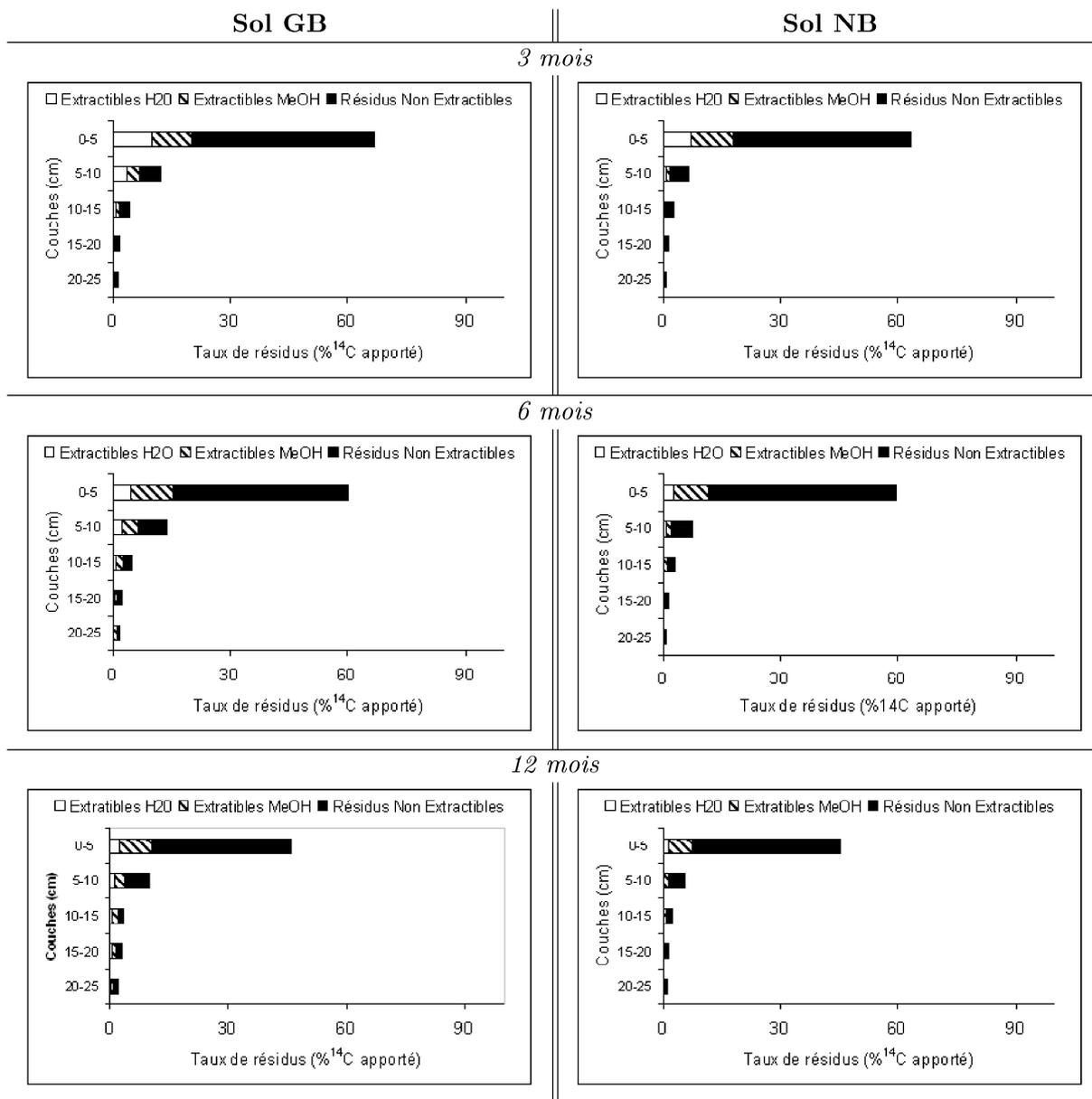


FIG. 4.13 – Évolution des résidus de  $^{14}\text{C}$ -atrazine dans les couches des micro-lysimètres des sols GB et NB installée à Nancy. Répartition des résidus extraits à l'eau et au méthanol, et non extractibles, 3, 6 et 12 mois après la deuxième application d'atrazine.

de la couche de surface aux couches profondes. Mais il y a plus de résidus totaux dans les couches des mini- lysimètres de sol GM que dans les couches des micro-lysimètres contenant le même sol. Ceci serait dû au décalage de l'application effectuée au mois de juin, les résidus d'atrazine n'ayant pas été rapidement entraînés en profondeur dans les mini-lysimètres, soit à cause des précipitations insuffisantes, soit à cause des températures élevées qui auraient entraîné une augmentation de la vitesse de dégradation du pesticide à la surface du sol.

Les micro-lysimètres des sols GB et NB installés à Nancy présentent une préservation plus importante des résidus, avec des taux de résidus extractibles plus importants dans les couches profondes que dans les lysimètres installés à Grignon, et des proportions plus élevées de résidus non extractibles (fig. 4.8 et 4.10). Ces résidus se localisent préférentiellement dans les couches les plus superficielles. La pluviosité plus importante sous le climat de Nancy induit, outre des pertes par percolation plus élevées, un transfert des résidus plus important dans les couches profondes des lysimètres. Les résultats d'extraction des différentes couches montrent que la quantité la plus importante de résidus extractibles, tant à l'eau qu'au méthanol, se trouve dans le lysimètre de sol NB et la quantité la plus faible, dans le sol GM, ce qui va dans le sens des résultats obtenus lors des incubations au laboratoire. Dans toutes les couches et tous les sols, les proportions des résidus extraits au méthanol sont plus importantes que les proportions de résidus hydrosolubles. Une quantité variable de radioactivité arrive dans la semelle de labour, correspondant surtout à des résidus extractibles à l'eau.

Dans les lysimètres installés à Grignon, le sol GM contient moins de résidus d'atrazine que les sols GB et NB (fig. 4.8, 4.9, 4.10 et 4.11), ceci est également valable 3 mois après la deuxième application (fig. 4.12). C'est ainsi que 25 et 48% de la radioactivité initiale sont sous forme de résidus d'atrazine après une application et 11 et 38% après la deuxième application dans toutes les couches des sols GM et GB, respectivement. De même dans les micro-lysimètres installés à Nancy, il y a plus de résidus totaux dans les couches des lysimètres 3, 6 et 12 mois après l'apport du pesticide, lors de la première application qu'après la deuxième application, les proportions de résidus totaux diminuant globalement, à temps d'extraction équivalents, de la première à la troisième application d'atrazine, particulièrement dans la couche de surface (0 – 5 cm), alors qu'elles augmentent relativement dans les couches profondes (fig. 4.8, 4.10 et 4.13 et 4.14).

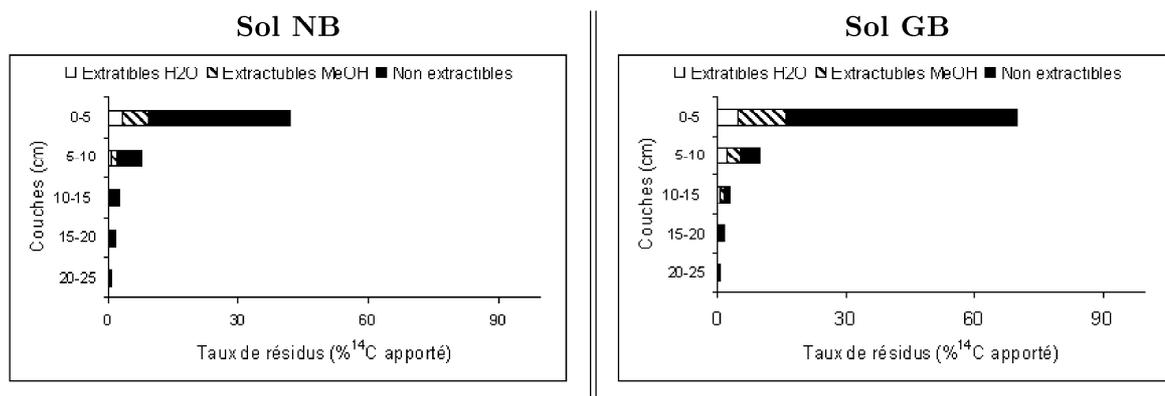


FIG. 4.14 – Évolution des résidus de  $^{14}\text{C}$ -atrazine dans les couches des micro-lysismètres des sols GB et NB installés à Nancy. Répartition des résidus extraits à l'eau et au méthanol, et non extractibles 3 mois après la troisième application d'atrazine.

En conditions naturelles, les applications répétées d'atrazine induisent la baisse des taux de résidus totaux dans les couches, qu'un sol soit adapté ou non à la dégradation de ce pesticide. Ceci suppose que quelque soit le sol, les applications répétées favoriseraient, soit l'augmentation de la vitesse de minéralisation de l'atrazine au détriment de la vitesse de formation des résidus extractibles et non extractibles, soit l'infiltration de la substance active, due aux précipitations, avec une diminution des taux de résidus formés dans les couches superficielles des sols. Cependant, la baisse des taux de résidus d'atrazine avec les applications répétées a été observée en conditions de laboratoire, de manière significative pour le sol GB, non adapté à la dégradation de cet herbicide, et de façon relative pour le sol GM, adapté.

## D2 - Distribution des résidus extractibles dans les lysimètres

L'évolution des résidus hydrosolubles dans les couches des micro-lysismètres installés à Grignon est représentée dans la figure 4.15. C'est dans la couche de surface 0–5 cm où se trouve la majorité des résidus hydrosolubles : 96% de résidus aqueux extraits dans les micro-lysismètres de sol GM se trouvant dans cette couche un mois après l'apport de l'atrazine et 47% après 12 mois ; dans le sol GB, ce sont 98 et 52% de résidus aqueux qui se trouvent dans cette couche un et 12 mois après la première application, respectivement. Les extraits au méthanol contiennent plus de résidus de  $^{14}\text{C}$ -atrazine que les extraits hydrosolubles. Pour tous les lysimètres des sols, les figures 4.15, 4.16 et 4.17 montrent que la quantité de résidus extraits en solution aqueuse et au méthanol diminue,

d'une part, des couches superficielles aux couches profondes ; et d'autre part, dans chaque couche, en fonction du temps. Dans la couche de surface (0–5 cm), après une application d'atrazine dans les lysimètres de sol GM, la quantité de résidus extraits à l'eau diminue régulièrement entre 1 et 12 mois, passant de 8 à 0,3% de la radioactivité appliquée, alors que dans les colonnes de sol GB, cette quantité passe, de 24% de la radioactivité appliquée après 1 mois, à 1% après 6 mois, puis elle demeure constante jusqu'à 12 mois après l'application du pesticide. La quantité de résidus extraits au méthanol évolue de manière similaire dans la couche de surface des deux lysimètres des sols GM et GB, caractérisée par une diminution régulière entre 1 et 12 mois : de 11 à 1% de la radioactivité appliquée dans le sol GM, et de 29 à 5% dans le sol GB.

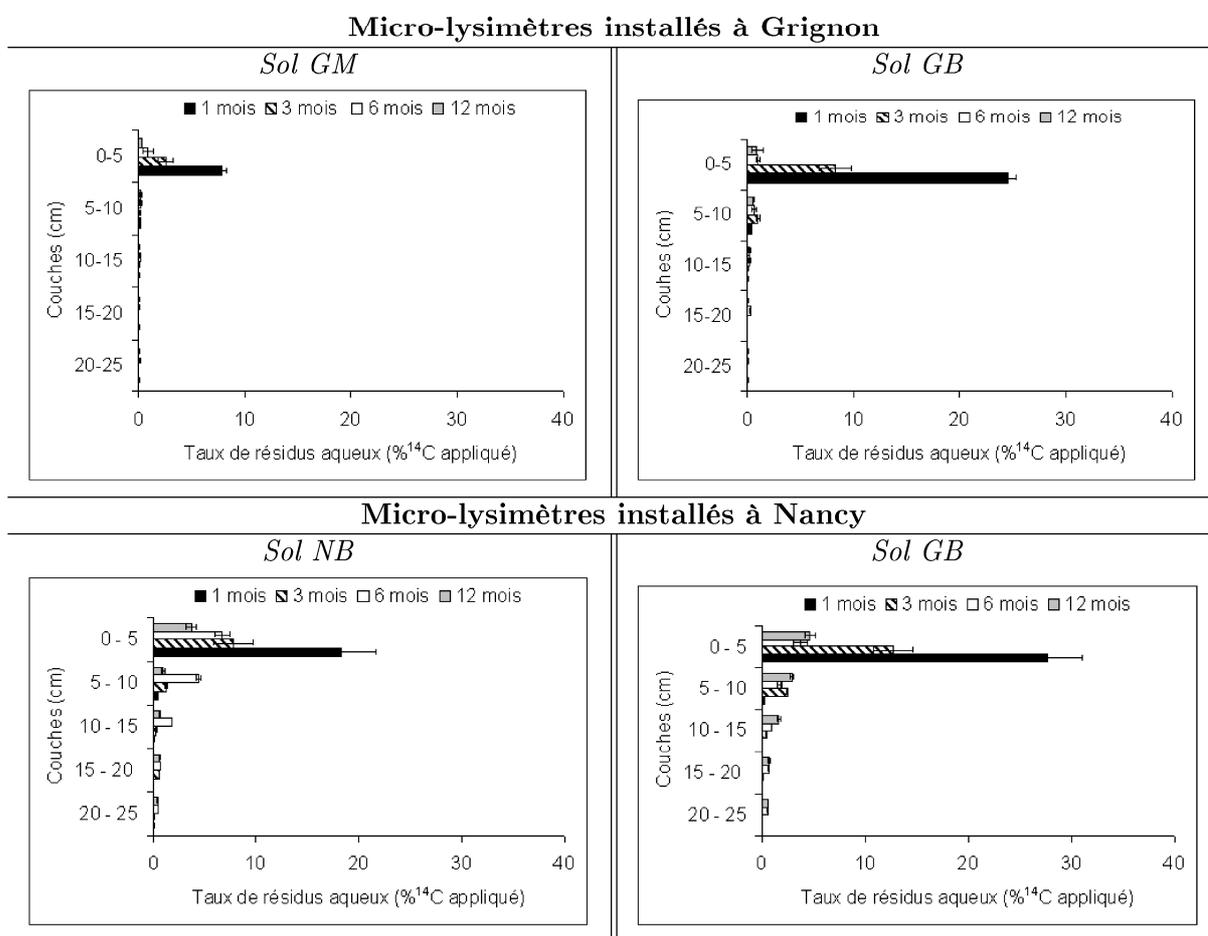


FIG. 4.15 – Évolution et distribution des résidus de  $^{14}\text{C}$ -atrazine hydrosolubles dans les couches des micro-lysimètres des sols GM, GB et NB installés à Grignon et à Nancy après la première application (Les barres d'erreurs correspondent à l'écart-type des valeurs mesurées).

L'évolution des résidus hydrosolubles de la couche de surface des sols NB et GB des micro-lysimètres installés à Nancy (fig. 4.15) est semblable à celle des résidus hydrosolubles des sols GM et GB des micro-lysimètres des sols installés à Grignon ; mais les taux de résidus hydrosolubles

sont plus importants dans les couches profondes des lysimètres installés à Nancy (fig. 4.15). Dans le cas du sol GB, les taux de résidus hydrosolubles dans les trois premières couches (0 – 5, 5 – 10 et 10 – 15 cm) varient peu entre 6 et 12 mois, avec 5, 3 et 1,6% de la radioactivité appliquée, respectivement. En revanche, dans les lysimètres de sol NB, les taux de résidus hydrosolubles des couches 5 – 10 et 10 – 15 cm augmentent régulièrement avec le temps après l'apport du pesticide, atteignant un maximum après 6 mois ; puis diminuant (cas des résidus aqueux de la couche 0 – 5 cm) ou restant constants jusqu'à 12 mois après l'apport (cas de toutes les autres couches plus profondes).

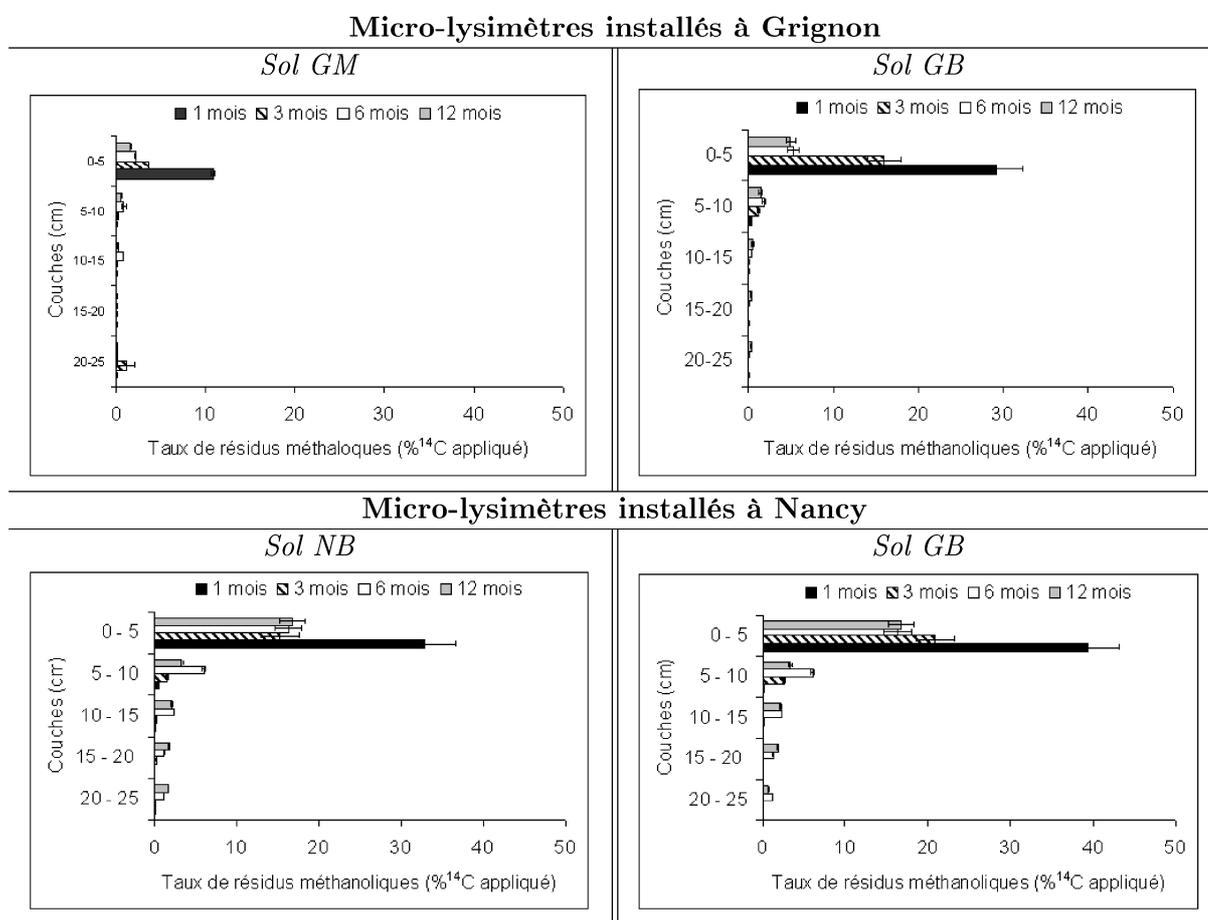


FIG. 4.16 – Évolution et distribution des résidus de  $^{14}\text{C}$ -atrazine méthanoliques dans les couches des micro-lysismètres des sols GM et GB installées à Grignon et à Nancy après la première application (Les barres d'erreurs correspondent à l'écart-type des valeurs mesurées).

Concernant les résidus extraits au méthanol (fig. 4.16), c'est encore dans la couche 0 – 5 cm où les résidus extraits au méthanol sont les plus élevés, leurs taux diminuant avec le temps, aussi bien dans les micro-lysismètres installés à Grignon que dans ceux installés à Nancy. Par exemple, de 11 à 1,6% de la radioactivité appliquée dans les sols GM ; et de 29 à 5% de la radioactivité

appliquée dans le sol GB sont extraits au méthanol entre 1 et 12 mois respectivement, après la première application de la  $^{14}\text{C}$ -atrazine dans les micro-lysimètres installés à Grignon.

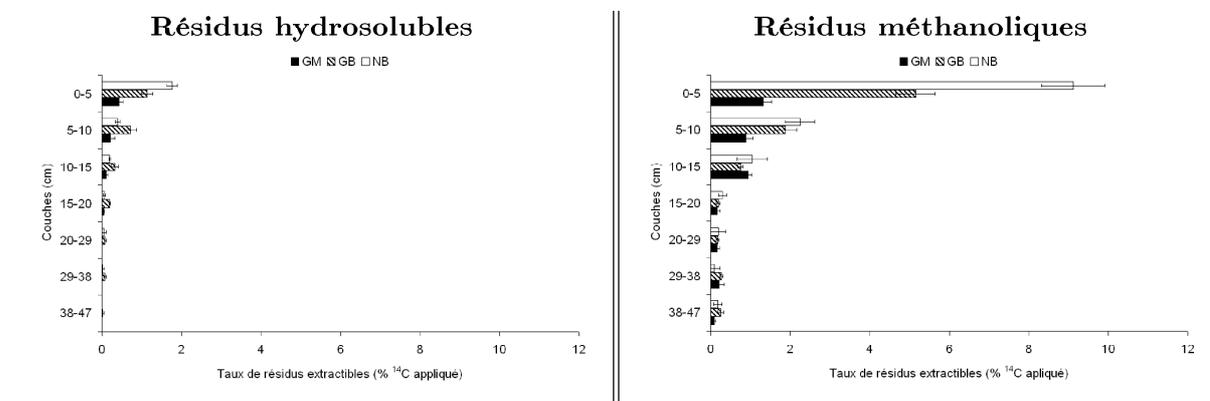


FIG. 4.17 – Évolution et distribution des résidus de  $^{14}\text{C}$ -atrazine extraits dans les couches des mini-lysimètres des sols GM, GB et NB installés à Grignon 12 mois après la première application (Les barres d'erreurs correspondent à l'écart-type des valeurs mesurées).

L'ensemble des résultats issus des extractions des couches des mini-lysimètres placés en conditions naturelles est rapporté dans la figure 4.17. Douze mois après l'application de la  $^{14}\text{C}$ -atrazine, c'est encore le sol GM qui présente le moins de résidus d'atrazine extractibles totaux (2% de la radioactivité appliquée) par rapport aux sols GB (6%) et NB (11%). La totalité des résidus hydrosolubles du sol GM est dégradée dans les vingt centimètres de la couche de labour, alors que l'on constate la présence de ces résidus dans les couches profondes de la semelle de labour à la base de la colonne des sol GB et NB, ces deux sols ne possédant pas de populations microbiennes adaptées à la dégradation de l'atrazine.

### D3 - Évolution des résidus d'atrazine extractibles au cours d'applications répétées

Douze et vingt-quatre mois après la première application, une deuxième et une troisième applications consécutives de la  $^{14}\text{C}$ -atrazine ont été apportées à la surface de chaque micro-lysimètre. Les applications supplémentaires stimulent la disparition des résidus extractibles. Ceci se traduit par une baisse des taux de résidus hydrosolubles et méthanoliques avec le nombre d'applications, en particulier dans la couche superficielle (0 – 5 cm). Ainsi, dans les lysimètres placés à Grignon (fig. 4.18), la dégradation des résidus d'atrazine extractibles totaux demeure toujours la

plus importante dans le sol GM : 6 et 4% de la radioactivité appliquée sont constitués de résidus extractibles dans la couche superficielle, 3 mois après les première et deuxième applications d'atrazine respectivement. Il en est de même dans le sol GB ou 24 et 11% de la radioactivité appliquée sont extraits au cours des mêmes périodes, mettant ainsi en évidence le développement d'un effet stimulant de l'activité dégradante des microorganismes lors de l'application répétée de l'atrazine dans ce sol (GB).

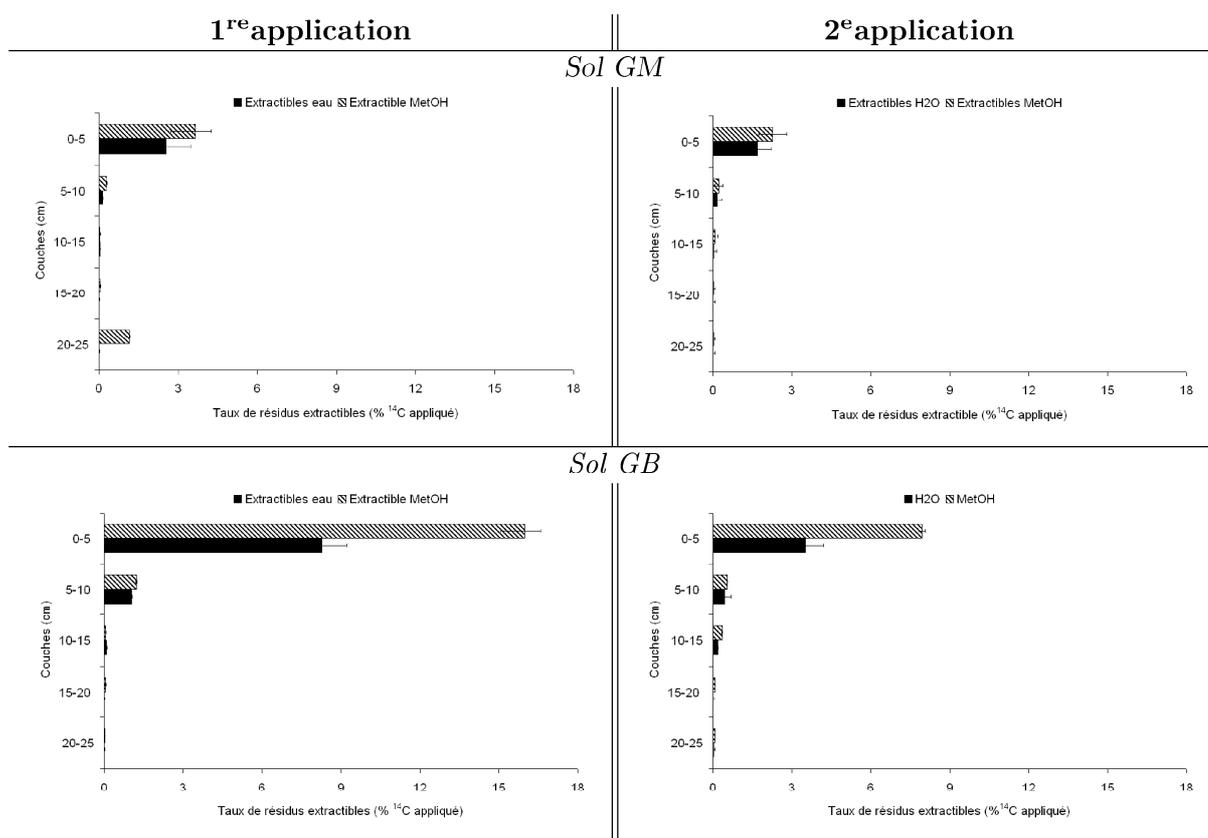


FIG. 4.18 – Comparaison de la distribution des résidus  $^{14}\text{C}$  extraits dans les couches des micro-lysimètres installés à Grignon 3 mois après la première et la deuxième application d'atrazine dans les sols GM et GB.

#### D4 - Nature chimique des résidus de $^{14}\text{C}$ -atrazine extractibles

La nature chimique des résidus d'atrazine a été déterminée grâce à l'analyse chromatographique réalisée, d'une part sur les percolats recueillis, issus d'un même lysimètre, et d'autre part sur les extraits hydrosolubles et méthanoliques des sols des lysimètres installés à Grignon.

### 1 - Analyse chromatographique des résidus percolés :

La figure 4.19 donne les résultats de la composition moyenne des résidus percolés dans les 3 sols et les deux types de lysimètres. Dans les micro-lysimètres des sols GM et GB, les résidus percolés sont majoritairement composés d'atrazine, représentant respectivement 44 et 55% de la radioactivité percolée, et des deux dérivés déalkylés, la dééthylisopropyl-atrazine (DIA) et la dééthyl-atrazine (DEA).

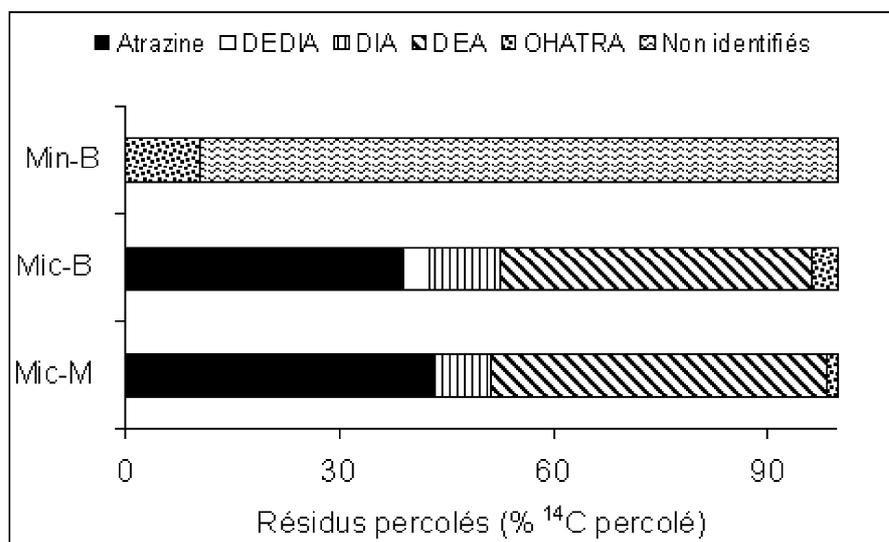


FIG. 4.19 – Bilan de la répartition moyenne des résidus d'atrazine percolés, identifiés par chromatographie dans les micro-lysimètres des sols GM et GB et les mini-lysimètres de sol GB installés à Grignon, 15 mois après l'application d'atrazine (Mini-B, Micro-B et Micro-M désignent les mini-lysimètres de sol GB et les micro-lysimètres des sols GM et GB, respectivement).

La composition des résidus radioactifs percolés dans les mini-lysimètres de sol GB est différente de celle des résidus issus du même sol dans les micro-lysimètres. Dans les mini-lysimètres, l'hydroxyatrazine (OH-ATRA) représente 11% de la radioactivité percolée ; 89% de la radioactivité des percolats correspondant à des dérivés non identifiés. Cette différence de composition des percolats issus d'un même sol proviendrait, outre de la différence de taille des lysimètres, de l'effet dû au décalage des deux applications ; l'apport du pesticide dans les micro et mini-lysimètres ayant eu lieu à des dates différentes. Dans les micro-lysimètres, l'atrazine a été appliquée au printemps 2002, fin d'avril ; alors que l'application dans les mini-lysimètres a eu lieu au milieu de juin. Cette dernière période a été suivie par un manque de précipitations et des températures élevées, modifiant à la fois le comportement des microorganismes, la structure du sol et les conditions de

lessivage du pesticide. Les percolats issus des mini-lysismètres des sols GM et NB ne présentent pas suffisamment de radioactivité pour pouvoir réaliser une analyse par chromatographie.

## 2 - Analyse chromatographique des résidus extraits à l'eau et au méthanol dans les couches des lysimètres de sol :

Le profil métabolique des extraits hydrosolubles et méthanoliques dans les couches des micro et mini-lysismètres est présenté dans les figures 4.20 et 4.21, respectivement. Les sols GM et GB des micro-lysismètres installés à Grignon présentent les mêmes résidus, à des proportions variables, sans possibilité d'identifier une extractabilité préférentielle en fonction de la nature de l'extractant.

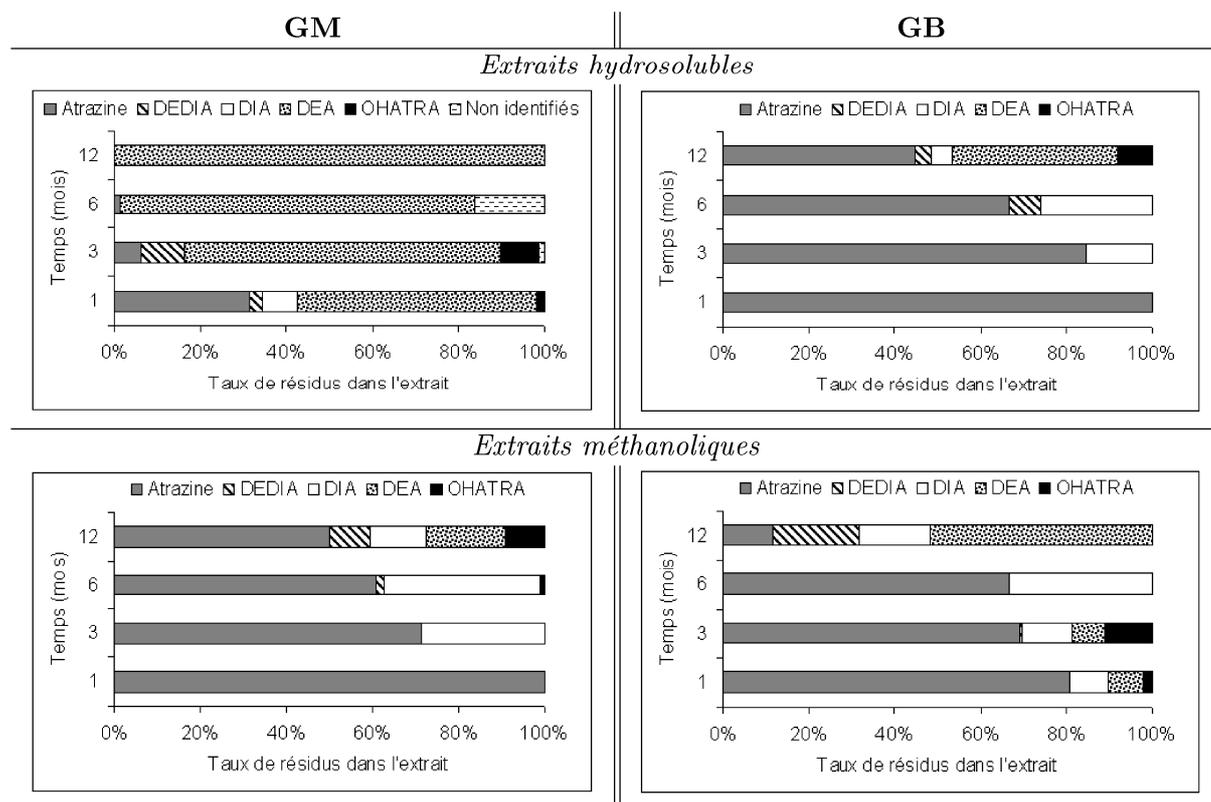


FIG. 4.20 – Évolution du profil chromatographique des résidus d'atrazine (ATRA) extraits à l'eau et au méthanol dans la couche superficielle (0-5 cm) des micro-lysismètres des sols GM et GB installés à Grignon, 1, 3, 6 et 12 mois après la première application d'atrazine (DEDIA : dééthyl-déiisopropyl-atrazine ; DIA : déiisopropyl-atrazine ; DEA : dééthyl-atrazine ; OH-ATRA : hydroxy-atrazine ; OHDEA : hydroxy dééthyl-atrazine ; OHDEDIA : hydroxydééthyl-déiisopropyl-atrazine ; OHDIA : hydroxydéiisopropyl-atrazine ; et N.I. : dérivés non identifiés).

Dans la couche 5 – 10 cm des micro-lysismètres de sol GM, les dérivés déalkylés de l'atrazine sont majoritairement présents dans les extraits aqueux entre 1 et 12 mois, leurs proportions

augmentant de 69 à 100% de la radioactivité hydrosoluble. L'atrazine n'est présente dans les extraits aqueux que durant 3 mois après son apport sur ce sol. Dans les micro-lysimètres de sol GB, l'atrazine est le résidu majoritaire dans les extraits aqueux de la couche 0 – 5 *cm*, 6 mois après son application ; elle reste présente dans cette couche après 12 mois, avec 45% de la radioactivité extraite à l'eau et 70% dans la couche 5–10 *cm*. La baisse des proportions d'atrazine est accompagnée de l'augmentation des proportions des résidus déalkylés (DIA et DEA) et de la OH-ATRA.

En ce qui concerne les résidus méthanoliques, les extraits de la couche 0 – 5 *cm* des lysimètres du sol GM sont majoritairement constitués d'atrazine, 12 mois après l'application. Sa proportion diminue en même temps qu'augmentent les taux des dérivés déalkylés (DIA et DEA) et de la OH-ATRA, représentant 50% de la radioactivité extraite après 12 mois. De même 12 mois après l'apport, les résidus extraits au méthanol dans la couche 0 – 5 *cm* correspondent à des dérivés déalkylés. Dans le sol GB, l'atrazine est le résidu majoritaire dans les extraits méthanoliques des couches 0 – 5 et 5 – 10 *cm* entre 1 et 6 mois, mais avec la présence de la OH-ATRA entre 1 et 3 mois. Les résidus déalkylés (DEDIA, DIA et DEA) sont extraits au méthanol dès le premier mois, leurs taux augmentant avec le temps et représentant 88% de la radioactivité dans la couche 0 – 5 *cm* et la totalité dans la couche 5 – 10 *cm* après 12 mois (fig. 4.20).

S'agissant des mini-lysimètres, le profil métabolique des extraits hydrosolubles et méthanoliques, 12 mois après l'apport du pesticide dans les sols GM et GB, est différent de celui des mêmes sols contenus dans les micro-lysimètres. Ceci serait dû au décalage de la date de traitement du pesticide dans les deux types de lysimètres. Ainsi, dans les mini-lysimètres de sol GM, la dégradation de l'atrazine sous forme de dérivés déalkylés (DIA et DEA) n'est pas totale. L'atrazine représente 9% de la radioactivité des extraits aqueux après 12 mois dans la couche (0 – 5 *cm*). À l'inverse, dans la même couche des micro-lysimètres (traitement de printemps), toute l'atrazine est dégradée en dérivé dééthyl-atrazine (DEA). Comparativement, les résidus extraits au méthanol issus de la dégradation de l'atrazine dans les mini-lysimètres de sol GM sont formés uniquement de la DEA, alors qu'ils sont constitués en majorité d'atrazine (50% de la radioactivité des extraits), des dérivés déalkylés (DEDIA, DIA et DEA) et d'hydroxyatrazine (OHATRA). Dans le cas du sol GB, uniquement de l'atrazine est identifiable dans les extraits au méthanol après 12 mois dans les couches 0 – 5 et 5 – 10 *cm* (fig. 4.21).

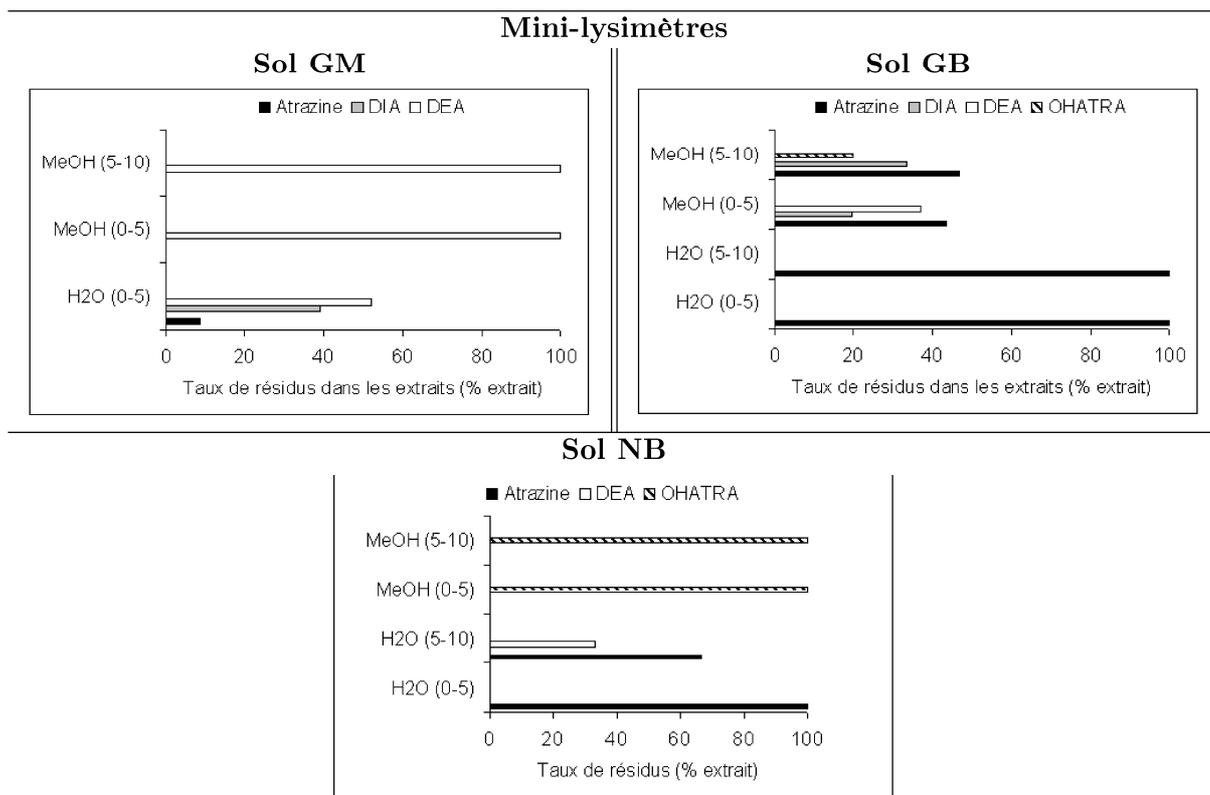


FIG. 4.21 – Profil chromatographique des résidus extraits à l'eau et au méthanol (MeOH) dans l'horizon 0-10 cm (couches 0-5 et 5-10 cm) des mini-lysismètres des sols GM, GB et NB installés à Grignon, 12 mois après la première application d'atrazine (ATRA) (DIA : déisopropyl-atrazine; DEA : déethyl-atrazine; OHATRA : hydroxyatrazine).

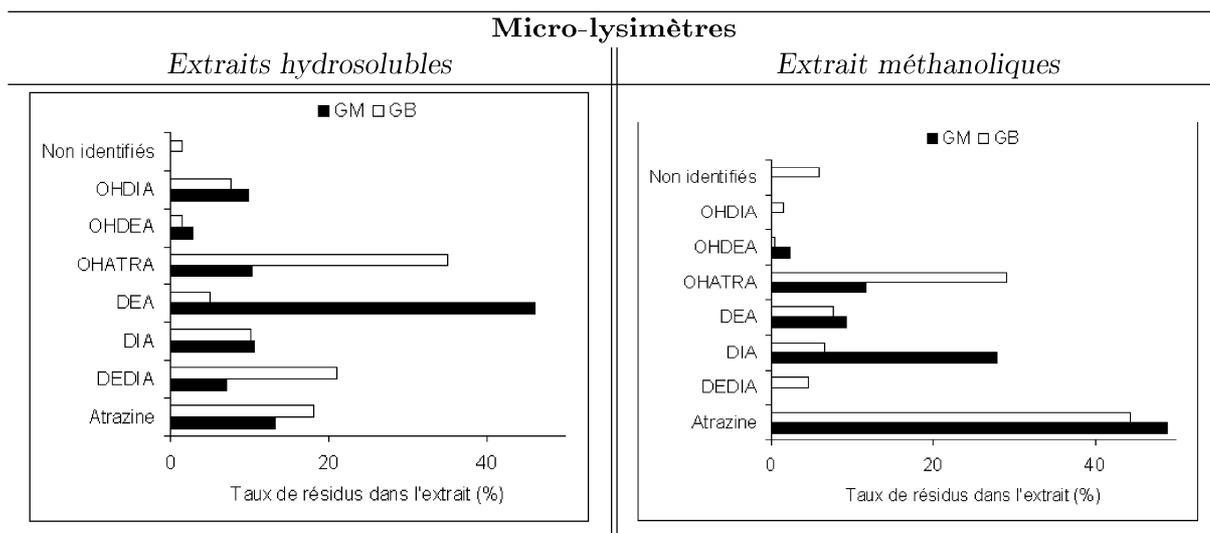


FIG. 4.22 – Profils chromatographiques des résidus <sup>14</sup>C extraits à l'eau et au méthanol dans la couche superficielle (0-5 cm) des micro-lysismètres des sols GM et GB installés à Grignon, 3 mois après la deuxième application d'atrazine.

Trois mois après la deuxième application de  $^{14}\text{C}$ -atrazine sur les micro-lysimètres installés à Grignon, l'analyse par chromatographie a été effectuée dans les extraits aqueux et méthanoliques des couches de surface des sols GM et GB (fig. 4.22). Dans les extraits aqueux du sol GM, les proportions d'atrazine, de dérivés déalkylés (DEDIA, DIA et DEA) et l'OH-ATRA augmentent par rapport à la première application ; en même temps, d'autres résidus hydroxylés (l'OH DIA et OH DEA) apparaissent. L'atrazine apparaît comme seul résidu identifié dans les couches plus profondes. Dans le sol GB, une grande diversité de dérivés déalkylés et hydroxylés sont hydrosolubles dans les quinze premiers centimètres, l'atrazine et des dérivés non identifiés étant seulement présents dans les extraits aqueux des couches superficielles (0 – 5 et 5 – 10 cm).

#### **D5 - Évolution des résidus non extractibles en fonction de la profondeur des lysimètres**

La distribution des résidus non extractibles dans les couches des lysimètres (fig. 4.23 à 4.26) montre que pour une même date d'extraction, les taux de résidus non extractibles diminuent avec la profondeur. Dans les couches des micro-lysimètres de sol GB ayant reçu une application de  $^{14}\text{C}$ -atrazine, les taux de résidus non extractibles augmentent avec le temps. À l'inverse pour les micro-lysimètres de sol GM, les résidus non extractibles diminuent avec le temps. Cela traduit, une libération des résidus non extractibles ou une dégradation de l'atrazine et de ses résidus dans ces couches, empêchant la formation des résidus non extractibles, hypothèse probable, compte tenu de l'adaptation de ce sol à dégrader l'atrazine. La libération des résidus non extractibles pourrait être due à l'action des microorganismes spécifiques, présents dans ce sol. Mais, l'activité de la microflore du sol GM semble limitée à la couche de surface, car dans les autres couches, les taux de résidus non extractibles, quoique faibles, augmentent avec le temps. Cela met en évidence l'accumulation de résidus non extractibles dans les couches plus profondes, y compris dans la semelle de labour des mini-lysimètres.

L'évolution des résidus non extractibles dans les couches du sol GB est différente entre les sols des micro-lysimètres installés à Grignon et à Nancy (fig. 4.23). En effet, dans toutes les couches et à toutes les dates, on retrouve plus de résidus non extractibles dans les couches des micro-lysimètres de sol GB installés à Nancy que dans celles des micro-lysimètres installés à

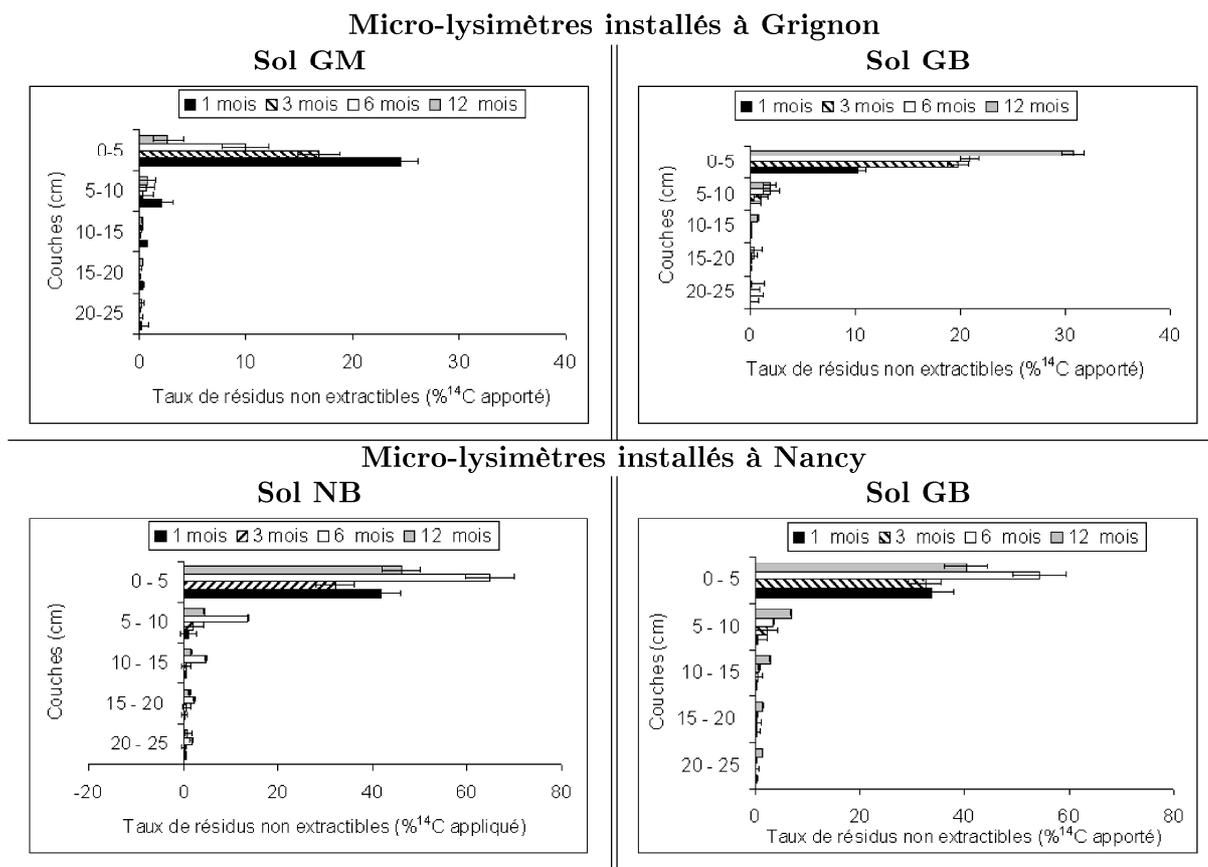


FIG. 4.23 – Évolution des résidus non extractibles d’atrazine dans les couches des micro-lysimètres installés à Grignon et à Nancy, 1, 3, 6 et 12 mois après la première application d’atrazine (les barres d’erreurs correspondent à l’écart-type des valeurs mesurées).

Grignon. C’est ainsi qu’après un mois, 3 fois plus de résidus non extractibles se trouvent dans la couche 0 – 5 cm du sol GB, à Nancy, et 1,5 fois plus après 12 mois. Ceci traduit une tendance du sol GB à former plus de résidus non extractibles à Nancy, un site dont les précipitations ont été abondantes et les températures plus basses au moment de l’application du pesticide, qu’à Grignon.

Après la deuxième application de  $^{14}\text{C}$ -atrazine (fig. 4.25 et 4.24), la quantité de résidus non extractibles est plus élevée, après 3 mois, dans les couches 0–5 et 5–10 cm du sol GB qu’après une application (fig. 4.25). À l’inverse après le même temps, la quantité de résidus non extractibles est moins élevée dans la couche 0–5 cm du sol GM après la deuxième application d’atrazine qu’après la première. Dans les vingt centimètres de la couche de labour, la part des résidus non extractibles par rapport aux résidus totaux (résidus aqueux, méthanoliques et non extractibles) diminue dans le sol GM, 69% des résidus totaux étant non extractibles après la première application et 61%

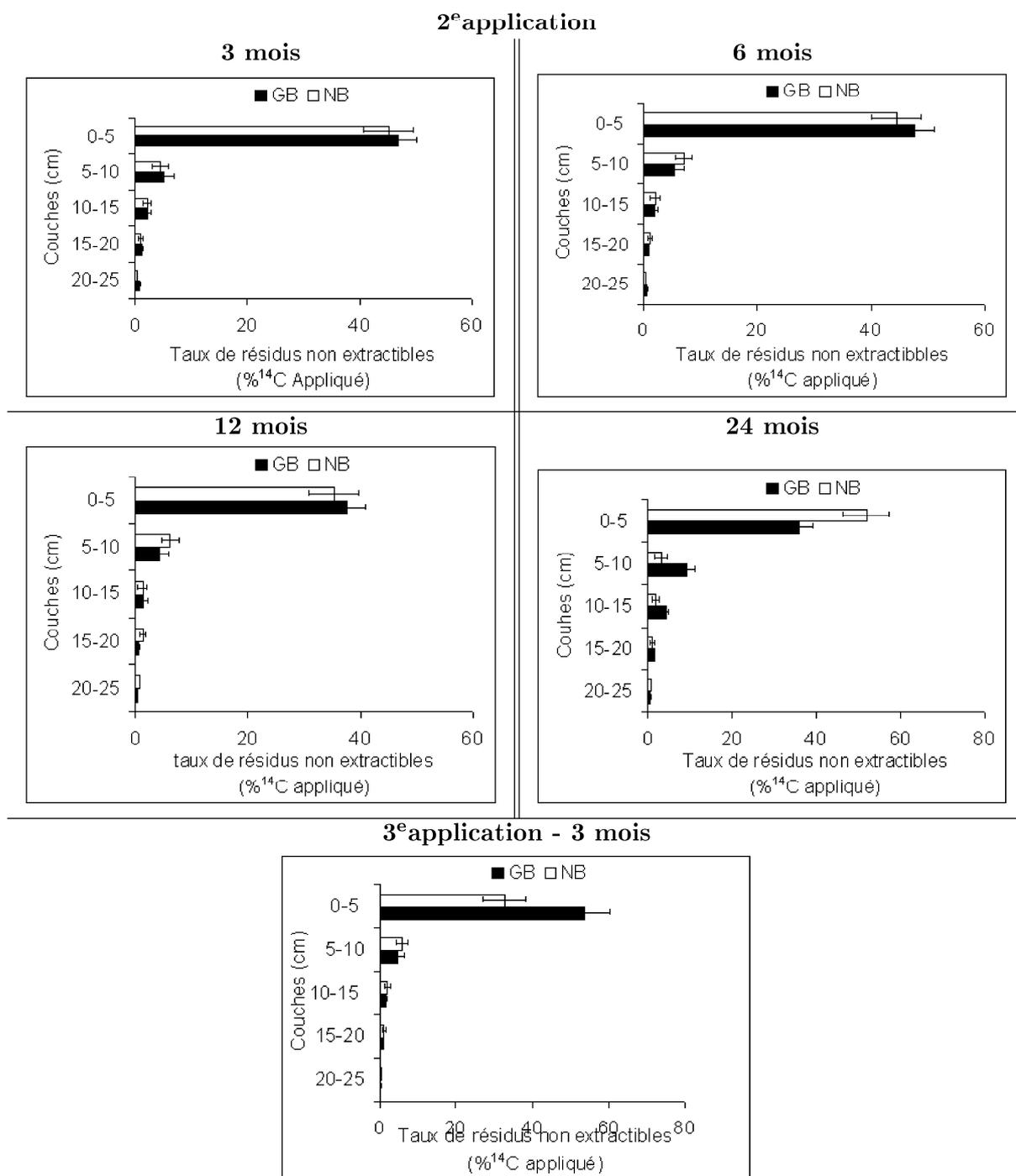


FIG. 4.24 – Distribution des résidus non extractibles dans les couches des micro-lysimètres des sols GB et NB installés à Nancy, 3, 6, 12 et 24 mois après la deuxième application d'atrazine, et 3 mois après la troisième (les barres d'erreurs correspondent à l'écart-type des valeurs mesurées)..

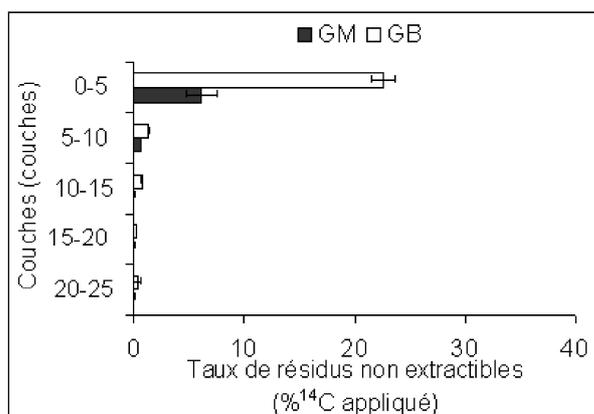


FIG. 4.25 – *Distribution des résidus non extractibles dans les couches des micro-lysimètres de sols GM et GB installés à Grignon, 3 mois après la deuxième application d'atrazine (les barres d'erreurs correspondent à l'écart-type des valeurs mesurées).*

l'étant 3 mois après la deuxième application. Dans le sol GB, la part des résidus non extractibles augmente par rapport aux résidus totaux : 44 et 66% des résidus totaux sont non extractibles après les première et deuxième applications, respectivement (fig. 4.12).

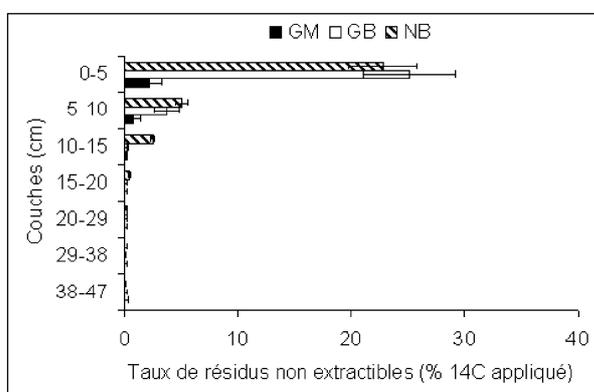


FIG. 4.26 – *Évolution des résidus non extractibles dans les couches des mini-lysimètres des sols GM, GB et NB installés à Grignon, 12 mois après l'application d'atrazine (les barres d'erreurs correspondent à l'écart-type des valeurs mesurées).*

Dans le cas des mini-lysimètres (uniquement installés à Grignon, fig. 4.26), l'évaluation des résidus non extractibles dans les couches des sols GM, GB et NB a été faite 12 mois après l'apport de  $^{14}\text{C}$ -atrazine. Comme dans les micro-lysimètres, les taux de résidus non extractibles augmentent du sol GM, aux sols NB et GB, justifiant ainsi la persistante plus élevée de l'atrazine dans la couche de labour (0 – 20 cm) de ces deux derniers sols que dans le sol GM (fig. 4.26). La semelle de labour à la base des lysimètres semble constituer une couche d'accumulation des

résidus non extractibles, en particulier dans les mini-lysismètres des sols GB et NB où 0,01 et 0,04% de la radioactivité appliquée sont non extractibles dans la couche 38 – 47 cm. Il pourrait s'agir de résidus d'atrazine extractibles qui auraient été transportés en profondeur, devenant par la suite non extractibles.

## D6 - Distribution de la radioactivité incorporée dans la biomasse microbienne

Il est établi que la biomasse microbienne des sols constitue en soi un compartiment de stockage des résidus de pesticides non extractibles. Cette biomasse pourrait aussi être un compartiment de transit et d'activation chimique pour la formation des métabolites. C'est ainsi que la radioactivité incorporée dans la biomasse microbienne a été évaluée dans les couches des micro et mini-lysismètres des sols GM, GB et NB installés à Grignon, 12 mois après l'apport de  $^{14}\text{C}$ -atrazine (tableaux 4.1 et 4.2).

TAB. 4.1 – *Distribution de la radioactivité incorporée dans la biomasse microbienne des couches des micro-lysismètres installés à Grignon, 12 mois après l'application de l'atrazine sur les sols GM et GB des micro-lysismètres installés à Grignon.*

Couches (cm)	% $^{14}\text{C}$ -atrazine	
	appliqué	incorporé couche
<b>Sol GM</b>		
0-5	1,42 ± 0,69	64,84
5-10	0,37 ± 0,04	16,89
10-15	0,22 ± 0,06	10,05
15-20	0,10 ± 0,05	4,66
20-25	0,08 ± 0,02	3,65
<b>Total</b>	<b>2,19 ± 0,16</b>	<b>100</b>
<b>Sol GB</b>		
0-5	2,67 ± 0,23	58,17
5-10	1,00 ± 0,14	21,79
10-15	0,37 ± 0,07	8,06
15-20	0,27 ± 0,03	5,88
20-25	0,28 ± 0,07	6,10
<b>Total</b>	<b>4,59 ± 0,11</b>	<b>100</b>

Dans tous les sols, les taux de radioactivité incorporée dans la biomasse microbienne diminuent avec la profondeur, quelque soit le sol et la période d'application du pesticide (tab.4.1 et 4.2). Ceci traduit une diminution de l'activité des populations microbiennes avec la profondeur. Après

12 mois, c'est dans le sol GB où une plus grande proportion de résidus  $^{14}\text{C}$  est incorporée dans la biomasse microbienne. En effet, 2,7 et 2,8% de la radioactivité apportée sur le sol GB lors de la première application sont incorporés dans la biomasse microbienne de la couche 0 – 5 cm des mini-lysimètres et micro-lysimètres, 1,4 et 0,9% dans celle du sol GM. Dans le sol GM, les taux d'incorporation sont les plus bas car les microorganismes adaptés à la dégradation de l'atrazine récupèrent l'azote contenu dans le noyau triazinique et respirent sous forme de  $^{14}\text{CO}_2$  le  $^{14}\text{C}$  du noyau triazinique. Dans le sol GB non adapté, la dégradation de l'atrazine est lente et se fait par co-métabolisme, l'atrazine ne servant pas de source de carbone et d'énergie aux microorganismes.

TAB. 4.2 – *Distribution de la radioactivité incorporée dans la biomasse microbienne des couches des mini-lysimètres installés à Grignon 12 mois après l'application de l'atrazine sur les sols GM, GB et NB.*

Couches (cm)	Sol GM		Sol GB		Sol NB	
	% $^{14}\text{C}$ appl.	% $^{14}\text{C}$ couche	% $^{14}\text{C}$ appl.	% $^{14}\text{C}$ couche	% $^{14}\text{C}$ appl.	% $^{14}\text{C}$ couche
0-5	0,88 ± 0,16	57,52	2,80 ± 0,13	59,57	6,16 ± 0,23	78,47
5-10	0,35 ± 0,12	22,88	0,94 ± 0,02	20,00	0,94 ± 0,07	11,97
10-15	0,14 ± 0,03	9,15	0,36 ± 0,07	7,66	0,44 ± 0,05	5,10
15-20	0,13 ± 0,01	8,50	0,43 ± 0,03	9,15	0,16 ± 0,02	2,04
20-29	0,03 ± 0,01	1,96	0,11 ± 0,06	2,13	0,09 ± 0,01	1,15
29-38	0,00 ± 0,00	0,00	0,06 ± 0,03	1,28	0,06 ± 0,01	0,76
38-47	0,00 ± 0,00	0,00	0,00 ± 0,00	0,00	0,00 ± 0,00	0,00
<b>Total</b>	1,53 ± 0,08	<b>100</b>	4,70 ± 0,06	<b>100</b>	7,85 ± 0,07	<b>100</b>

L'évolution des taux de résidus incorporés dans la biomasse microbienne dans le profil des mini-lysimètres est semblable à celle des micro-lysimètres (tab. 4.2). Les taux de résidus d'atrazine incorporés dans la biomasse microbienne de la couche de surface du sol NB (6,2% de la radioactivité appliquée) sont très importants par rapport à ceux incorporés dans les deux autres sols : 2 fois plus élevés que ceux incorporés dans le sol GB et 7 fois plus que ceux incorporés dans les sols GM. L'effet du décalage d'application entre les micro-lysimètres et les mini-lysimètres est plus significatif dans le sol GM que dans le sol GB. En effet, lors de l'apport du pesticide en avril, 1,4% de la radioactivité appliquée sur le sol GM est incorporée dans la biomasse microbienne de la couche 0 – 5 cm du sol GM, 0,9% l'étant lors de l'apport au mois de juin. Dans le sol GB, les taux d'atrazine incorporée dans la biomasse microbienne de cette couche sont comparables lors des deux apports et ne semblent pas dépendre de la date d'application.

## D7 Modélisation de l'évolution des pesticides dans les couches des lysimètres des sols

Les paramètres décrivant les cinétiques d'évolution de l'atrazine, des résidus extractibles totaux et des résidus non extractibles dans la couche de labour (0–20 cm) ont été recherchés. Pour cela, cette couche a été divisée en quatre sous-couches : 0–5, 0–10, 0–15 et 0–20 cm, l'objectif étant d'étudier l'influence éventuelle de l'épaisseur de la couche de sol sur les paramètres de dégradation des résidus d'atrazine dans les sols GM et GB des micro-lysimètres installés à Grignon et à Nancy. Les cinétiques correspondantes (fig. 4.27, 4.28 et 4.29) ont été ajustées à des modèles exponentiels, à l'aide du logiciel Sigma Plot (SPW5).

### 1 - Paramètres de dissipation/dégradation :

La dissipation de l'atrazine et la dégradation des résidus extractibles totaux dans les sous-couches de la couche de labour des micro-lysimètres ont été modélisées après une application sur les sols GM, GB et NB. Pour cela, on suppose que les évolutions dans les sols de l'atrazine (fig. 4.27) et des résidus extractibles totaux des sols de Grignon (fig. 4.28) ou de Nancy (fig. 4.29) suivent des cinétiques de premier ordre décrite par une fonction mathématique de type :  $\frac{dC}{dt} = -k.C$  et ayant pour primitive une exponentielle décroissante dont l'équation 3.2 donnée pour une application de pesticide est rappelée ci-dessous :

$$C_i = C_{0i} \times e^{-k_i.t}$$

$C_i$  représentant pour chaque sol la concentration ou le taux d'atrazine (ou de résidus totaux extractibles) dans la sous-couche  $x$  à l'instant  $t$  (temps depuis le traitement) ;

et  $k_i$  étant la constante de vitesse de dissipation de l'atrazine (ou dégradation des résidus totaux extractibles) dans la sous-couche  $x$  du sol  $S$ .

L'analyse de l'évolution de l'atrazine n'a pas été possible par chromatographie, d'une part, en raison de l'impossibilité de connaître les quantités dissipées à chaque instant dans les sous-couches précédemment définies ; et d'autre part, à cause du problème lié à la limite de détection de l'analyse chromatographique. C'est pour ces raisons que les paramètres liés à la dissipation de l'atrazine et de l'isoproturon ont été déterminés en utilisant les résultats des extractions,

permettant ainsi l'estimation des constantes de dissipation selon la méthode définie dans la partie E1 (voir page 80). En revanche, l'évolution des résidus extractibles totaux a été réalisée grâce aux résultats des extractions à l'eau et au méthanol obtenus précédemment lors des extractions sur les lysimètres, la démarche étant celle entreprise dans la partie E1. On détermine pour chaque

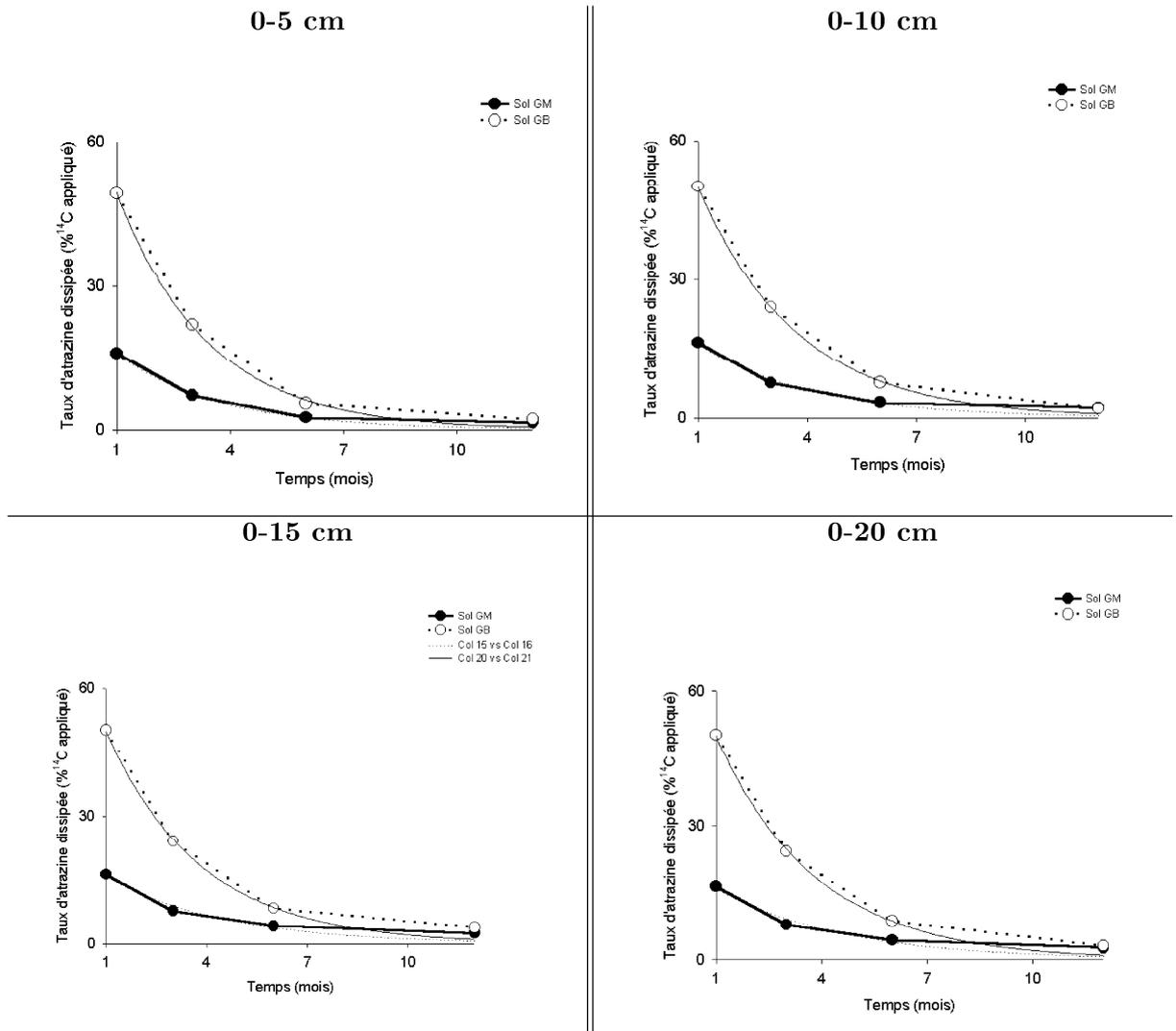


FIG. 4.27 – Évolution de la dissipation de la  $^{14}\text{C}$ -atrazine dans les sous-couches des sols GM et GB des micro-lysimètres installés à Grignon.

sol  $S$ , les paramètres  $k_{dis\ S-x_i}$  ou constante de vitesse de dissipation de l'atrazine dans la sous-couche  $x$  du sol  $S$ ;  $k_{deg\ S-x_i}$ , la constante de vitesse de dégradation des résidus d'atrazine dans la sous-couche  $x$  du sol  $S$ ;  $t_{1/2dis\ S-x_i}$  et  $t_{1/2deg\ S-x_i}$ , les demi-vies de dissipation et de dégradation, ainsi que les constantes  $C_{o\ S-x_i}$  représentant la concentration initiale de l'atrazine ou de ses résidus extractibles totaux.

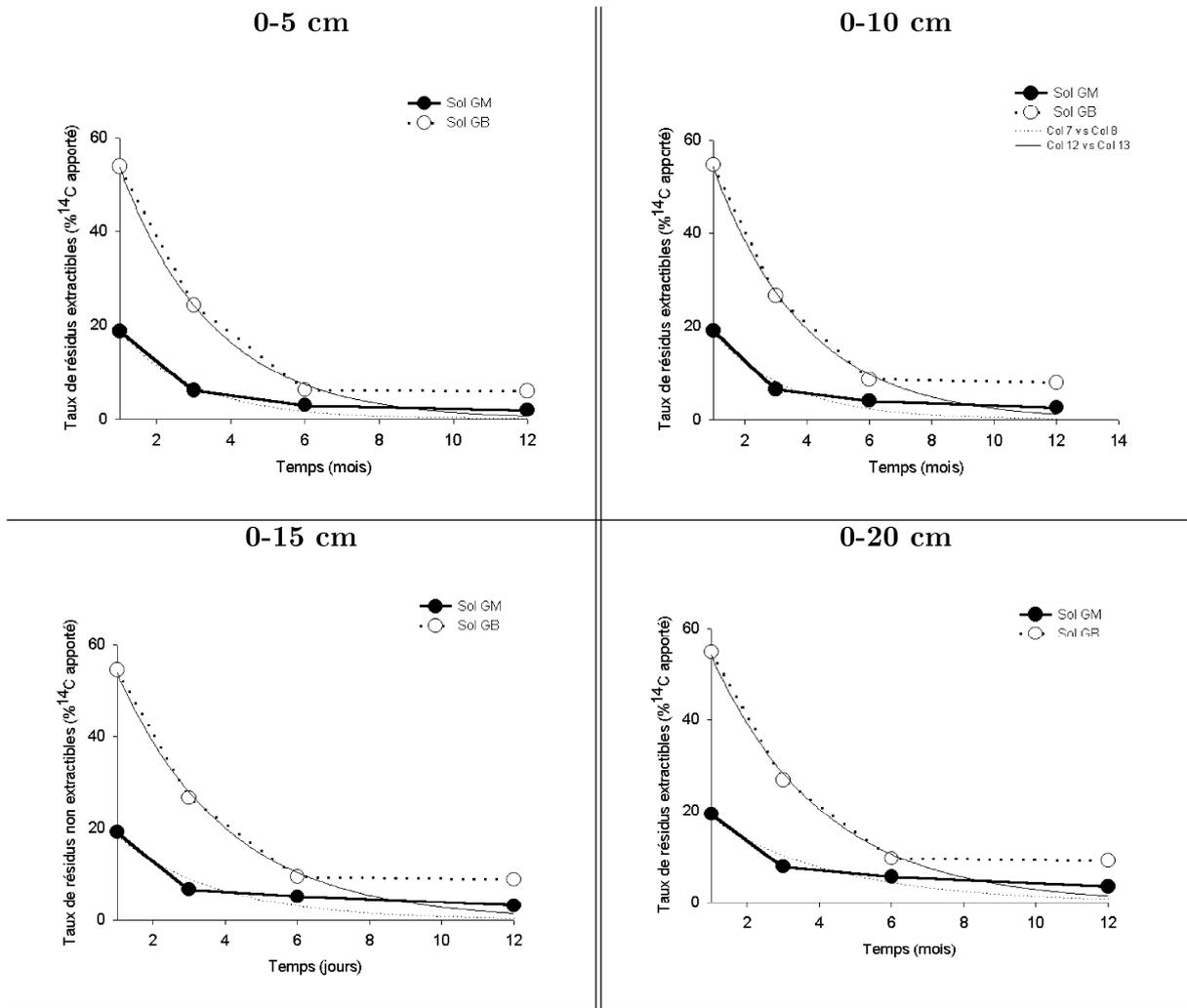


FIG. 4.28 – Évolution des résidus totaux extractibles de la <sup>14</sup>C-atrazine dans les sous-couches des sols GM et GB des micro-lysimètres installés à Grignon.

L'évolution, 12 mois après la première application, des paramètres de dissipation d'atrazine et de dégradation des résidus totaux extractibles dans les sous-couches de la couche de labour est représentée dans les tableaux 4.3 et 4.4. Dans tous les lysimètres installés à Grignon comme à Nancy, les constantes de vitesse de dissipation de l'atrazine ou les constantes de vitesse de dégradation des résidus extractibles totaux diminuent avec l'épaisseur de la couche de sol. En outre, la persistance des résidus extractibles totaux d'atrazine augmente. Ceci est dû au poids de la sous-couche 0 – 5 cm dans laquelle se retrouve la majorité des résidus extractibles. Dans la couche 0 – 20 cm des micro-lysimètres installés à Grignon, la vitesse de dégradation des résidus extractibles totaux d'atrazine est plus élevée que la vitesse de dissipation de la substance active dans le sol GM, avec  $k_{dis\ GM\ 0-20} = 0,94.10^{-2}\ j^{-1}$  et  $k_{deg\ GM\ 0-20} = 1,32.10^{-2}\ j^{-1}$ . En

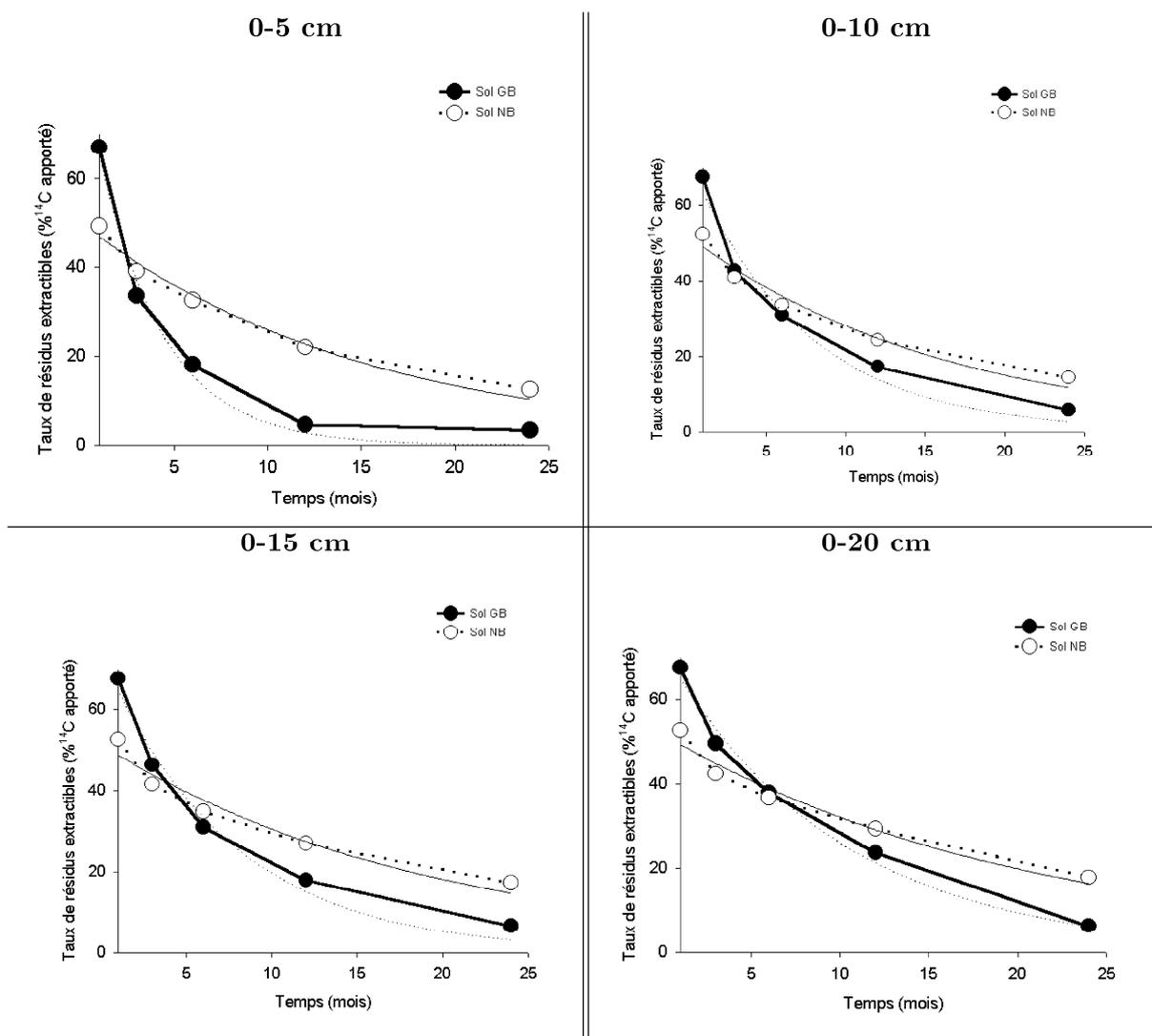


FIG. 4.29 – Évolution des résidus totaux extractibles de la  $^{14}\text{C}$ -atrazine dans les sous-couches des sols NB et GB des micro-lysismètres installés à Nancy.

revanche, dans le sol GB, c'est la vitesse de dissipation de l'atrazine qui est plus élevée que la vitesse de dégradation des résidus extractibles,  $k_{dis\ GB\ 0-20} = 1,18.10^{-2}\ j^{-1}$  et  $k_{deg\ GB\ 0-20} = 1,09.10^{-2}\ j^{-1}$  (tab. 4.3).

Par ailleurs, c'est dans la couche 0–5 cm du sol GM où la dégradation des résidus extractibles totaux est la plus élevée, avec une constante de vitesse  $k_{GM\ 0-5} = 1,6.10^{-2}\ j^{-1}$ , ce qui est normal, compte tenu de la nature spécifique de la microflore de ce sol. La dégradation des résidus extractibles totaux se fait plus rapidement dans le sol GB des micro-lysismètres installés à Grignon que dans ceux installés à Nancy (tab. 4.4), avec des constantes de vitesse  $k_{deg\ GB\ 0-20}$  de  $1,3.10^{-2}\ j^{-1}$  et  $0,66.10^{-2}\ j^{-1}$  à Grignon et Nancy, respectivement.

TAB. 4.3 – Évolution des paramètres de dissipation et de dégradation de  $^{14}\text{C}$ -atrazine dans les sous-couches des micro-lysismètres des sols GM et GB installés à Grignon pendant 12 mois ( $k_{dis} \text{ Sol } x$  et  $k_{deg} \text{ Sol } x$  sont en  $\text{j}^{-1}$ ;  $C_0$  en  $\%^{14}\text{C}$  initial et  $t_{1/2}$  en jours).

Paramètres	0-5 cm	0-10 cm	0-15 cm	0-20 cm
<b>Paramètres de dissipation de la <math>^{14}\text{C}</math> – atrazine</b>				
<b>Sol GM</b>				
$k_{dis} \text{ GM } x$	$1,60 \cdot 10^{-2}$	$1,23 \cdot 10^{-2}$	$0,97 \cdot 10^{-2}$	$0,94 \cdot 10^{-2}$
$C_0$	$31,75 \pm 5,57$	$29,74 \pm 6,60$	$28,00 \pm 7,09$	$27,49 \pm 7,25$
$t_{1/2}$	43	56	71	74
$r^2$	0,97	0,99	0,97	0,95
<b>Sol GB</b>				
$k_{dis} \text{ GB } x$	$1,36 \cdot 10^{-2}$	$1,17 \cdot 10^{-2}$	$1,18 \cdot 10^{-2}$	$1,18 \cdot 10^{-2}$
$C_0$	$89,10 \pm 10,62$	$85,04 \pm 11,85$	$83,98 \pm 12,64$	$83,62 \pm 13,15$
$t_{1/2}$	51	59	59	59
$r^2$	0,98	0,97	0,99	0,99
<b>Paramètres de dégradation des résidus de la <math>^{14}\text{C}</math>-atrazine</b>				
<b>Sol GM</b>				
$k_{deg} \text{ GM } x$	$1,58 \cdot 10^{-2}$	$1,42 \cdot 10^{-2}$	$1,36 \cdot 10^{-2}$	$1,32 \cdot 10^{-2}$
$C_0$	$29,68 \pm 4,27$	$27,90 \pm 6,07$	$26,33 \pm 6,55$	$24,45 \pm 5,36$
$t_{1/2}$	45	48	51	51
$r^2$	0,99	0,98	0,97	0,98
<b>Sol GB</b>				
$k_{deg} \text{ GB } x$	$1,32 \cdot 10^{-2}$	$1,14 \cdot 10^{-2}$	$1,10 \cdot 10^{-2}$	$1,09 \cdot 10^{-2}$
$C_0$	$79,56 \pm 9,20$	$76,06 \pm 10,34$	$75,17 \pm 11,06$	$74,79 \pm 11,47$
$t_{1/2}$	54	60	63	63
$r^2$	0,98	0,97	0,98	0,98

TAB. 4.4 – Évolution des paramètres de dégradation dans les sous-couches de la couche de labour des micro-lysismètres des sols GB et NB installés à Nancy pendant 24 mois ( $k_{dis} \text{ Sol } x$  et  $k_{deg} \text{ Sol } x$  sont en  $\text{j}^{-1}$ ;  $C_0$  en  $\%^{14}\text{C}$  initial et  $t_{1/2}$  en jours).

Paramètres	0-5 cm	0-10 cm	0-15 cm	0-20 cm
<b>Sol GB</b>				
$k_{deg} \text{ GB } x$	$0,50 \cdot 10^{-2}$	$0,46 \cdot 10^{-2}$	$0,44 \cdot 10^{-2}$	$0,66 \cdot 10^{-2}$
$C_0$	$72,50 \pm 6,19$	$72,91 \pm 5,93$	$73,80 \pm 4,69$	$71,89 \pm 3,19$
$t_{1/2}$	132	150	156	171
$r^2$	0,98	0,96	0,98	0,98
<b>Sol NB</b>				
$k_{deg} \text{ NB } x$	$0,022 \cdot 10^{-2}$	$0,021 \cdot 10^{-2}$	$0,019 \cdot 10^{-2}$	$0,018 \cdot 10^{-2}$
$C_0$	$49,98 \pm 2,14$	$52,08 \pm 2,81$	$51,34 \pm 2,94$	$51,75 \pm 2,35$
$t_{1/2}$	315	336	363	384
$r^2$	0,98	0,96	0,95	0,96

## 2 - Paramètres caractérisant l'évolution des résidus non extractibles dans la couche de labour :

La détermination des taux de résidus non extractibles de  $^{14}\text{C}$ -atrazine dans chaque sous-couche des sols GM et GB des micro-lysimètres installés à Grignon a été faite après les extractions effectuées précédemment lors des expérimentations en conditions naturelles. L'évolution des résidus non extractibles dans les sous-couches précédemment définies correspond aux cinétiques de la figure 4.30, représentant  $\text{Log}([^{14}\text{C}])$  en fonction du temps écoulé après l'apport de  $^{14}\text{C}$ -atrazine. Ces cinétiques sont telles que :

$$\text{Log}([^{14}\text{C}(t_i)]) = A + k_i \cdot t \quad (4.1)$$

Avec  $[^{14}\text{C}(t_i)]$  (en %  $^{14}\text{C}$  appliqué) : taux de résidus non extractibles de la sous-couche  $x$  à l'instant  $t$  ;

$k_i$  : constante de formation des résidus non extractibles dans la sous-couche  $x$  (en  $j^{-1}$ ) ;

$A$  est une constante telle que  $A = \text{Log}([^{14}\text{C}(t_0)])$ ,  $[^{14}\text{C}(t_0)]$  étant le taux de résidus non extractibles de la sous-couche  $x$  à l'instant  $t_0$  (en %  $^{14}\text{C}$  apporté). Ainsi,  $[^{14}\text{C}(t_0)] = e^A$

Les paramètres caractéristiques de l'évolution des résidus non extractibles dans les sous-couches des sols GM et GB installés à Grignon sont donnés dans le tableau 4.5. Quelle que soit l'épaisseur de la couche de sol, c'est dans le sol GM où la formation des résidus non extractibles est plus importante après 1 mois, le taux de résidus à cet instant y représentant 31% de la radioactivité initiale dans la couche 0–20 cm. Ce taux est de 10% de la radioactivité appliquée dans le sol GB. Ceci semble être l'inverse de ce qui a été obtenu en condition contrôlées de laboratoire où plus de résidus non extractibles ont été obtenus dans le sol GM à l'instant initial. D'autre part, la vitesse de formation des résidus non extractibles diminue avec le temps dans le sol GM, les de taux de résidus non extractibles diminuant entre 1 et 12 mois (2,7% de la radioactivité initiale). Ceci traduit une remobilisation des résidus non extractibles avec le temps.

En revanche dans le sol GB, l'évolution des résidus non extractibles est progressive, les taux de résidus non extractibles augmentant avec le temps (de 10,3 à 30,7% de la radioactivité initiale entre 1 et 12 mois) et traduisant une augmentation de la vitesse de formation des résidus non extractibles avec le temps ; ce type d'évolution des résidus non extractibles d'atrazine a également

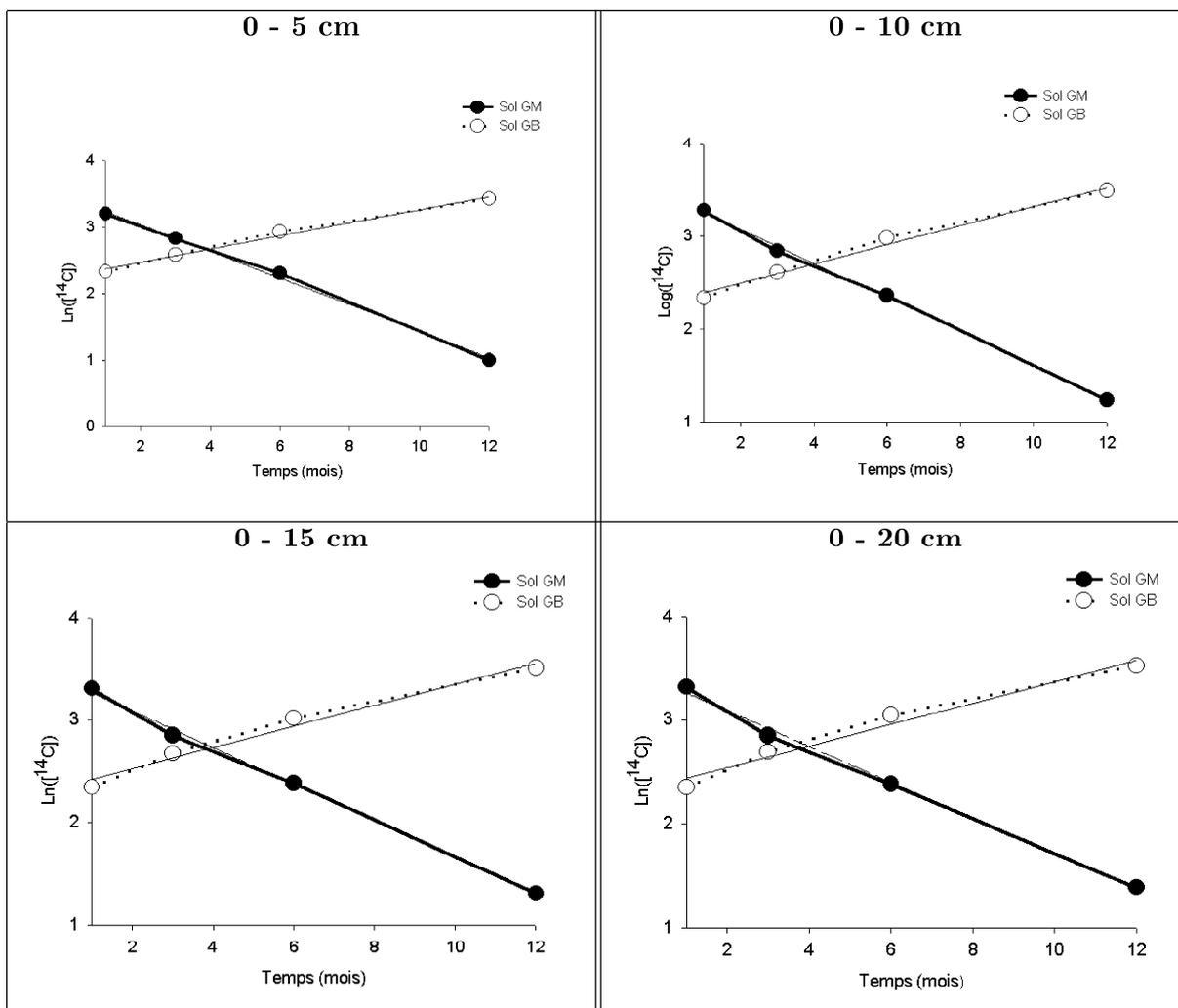


FIG. 4.30 – Modélisation de l'évolution des résidus non extractibles de la  $^{14}\text{C}$ -atrazine dans les sous-couches de la couche de labour des micro-lysismètres des sols GM et GB installés à Grignon.

TAB. 4.5 – Constantes de formation des résidus non extractibles de  $^{14}\text{C}$ -atrazine dans la couche de labour. Évolution pendant 12 mois des constantes de formation dans les sous-couches des micro-lysismètres des sols GM et GB installés à Grignon ( $k_{res\ Sol\ x}$  est en  $\text{j}^{-1}$ ;  $C_0$  en  $\%^{14}\text{C}$  initial et  $t_{1/2}$  en jours).

Paramètres	0-5 cm	0-10 cm	0-15 cm	0-20 cm
<b>Sol GM</b>				
$k_{GM\ x}$	$0,66 \cdot 10^{-2}$	$0,61 \cdot 10^{-2}$	$0,60 \cdot 10^{-2}$	$0,57 \cdot 10^{-2}$
$C_0$	$30,9 \pm 1,1$	$30,9 \pm 1,1$	$31,2 \pm 1,0$	$30,9 \pm 1,1$
$t_{1/2}$	105	114	117	120
$r^2$	0,99	0,99	0,99	0,99
<b>Sol GB</b>				
$k_{GB\ x}$	$0,33 \cdot 10^{-2}$	$0,34 \cdot 10^{-2}$	$0,34 \cdot 10^{-2}$	$0,34 \cdot 10^{-2}$
$C_0$	$9,7 \pm 1,1$	$9,8 \pm 1,1$	$10,2 \pm 1,1$	$10,3 \pm 1,1$
$t_{1/2}$	210	201	201	201
$r^2$	0,99	0,99	0,98	0,97

été observé dans le même sol en conditions contrôlées de laboratoire. Cependant on observe une légère diminution de la constante de vitesse de formation des résidus non extractibles avec la profondeur, dans le sol GM,  $k_{GM\ 0-5} = 0,66.10^{-2}.j^{-1}$  et  $k_{GM\ 0-20} = 0,57.10^{-2}.j^{-1}$ .

## D8 - Discussion

Les expérimentations sur les lysimètres ont permis de mettre en évidence des phénomènes de transport au sein de la colonne de sol, responsables de la percolation et la localisation des résidus en profondeur. Il a été montré que la nature des profils des résidus dans les colonnes des sols n'est pas uniquement dépendante des phénomènes physiques de transport, mais qu'il y a une relation directe avec l'activité biologique, responsable de la dégradation de l'atrazine. Pour deux sols qui ont des propriétés physico-chimiques identiques, ce serait dans celui qui possède une microflore adaptée à la dégradation de l'atrazine où les résidus percolent le moins. Ce phénomène, couplé avec l'effet de la lixiviation des résidus de pesticide est aussi en relation avec les taux de résidus extractibles, plus élevés dans les couches profondes du sol GB que dans le sol GM.

En outre, les couches profondes des lysimètres de sol NB sont plus humides que les couches de surface, ce qui traduirait un transfert vertical plus rapide des précipitations vers les horizons plus profonds, suivi d'une accumulation au niveau à la semelle de labour à la base du lysimètre. Ceci est en relation avec la teneur en argile plus élevée dans le sol NB.

La quantité de radioactivité percolée est toujours plus importante dans le sol GB. Ainsi, l'atrazine n'aurait pas la même mobilité dans les colonnes des sols GM et GB, ces sols ne différant que par les pratiques culturales qui ont entraîné, dans le sol GM, une population microbienne adaptée à la dégradation rapide de l'atrazine.

Par ailleurs, il y a une différence entre les quantités de radioactivité percolée dans les micro et les mini-lysimètres de sol GM. Cette différence serait due à la modification de l'activité des microorganismes spécifiques du sol GM. En effet, à Grignon, l'application de l'atrazine dans les micro-lysimètres des sol GM et GB a eu lieu au printemps 2002, à la fin du mois d'avril ; alors qu'elle a eu lieu en été, au milieu du mois de juin dans les mini-lysimètres. Il y a eu plus de précipitations sur le site de Grignon au mois d'avril et la température moyenne y a été plus

fraîche (12,6 ° C) qu'au mois de juin, relativement plus chaud (21,4 ° C) et avec moins de précipitations. Ces changements climatiques entre les deux dates d'apport d'atrazine ne sont pas favorables au maintien du niveau de la microflore spécifique du sol GM, entraînant la baisse de l'activité des microorganismes responsables, entre autres, de la présence des résidus d'atrazine dans les percolats. Ainsi, après 12 mois, 0,24% de la radioactivité appliquée est percolée dans les micro-lysismètres contre 0,12% dans les mini-lysismètres de même sol. Cet effet dû au "traitement d'été" et ses conséquences ne semble pas influencer sur la quantité de résidus d'atrazine percolés dans le sol GB, les taux de  $^{14}C$  dans les percolats (0,38% de la radioactivité appliquée) restant relativement les mêmes dans les micro et les mini-lysismètres.

Les phénomènes responsables de la présence du  $^{14}C$  dans les percolats seraient également responsables de la présence des résidus de pesticide dans les couches profondes du sol. En effet, la dynamique de la radioactivité percolée dépendrait, entre autres, de la capacité de la microflore du sol à dégrader le pesticide. Pour deux sols qui ont des propriétés physico-chimiques identiques, ce serait dans celui qui possède une microflore adaptée où les résidus percolent le moins. Ce phénomène, couplé avec l'effet de la lixiviation des résidus de pesticides semble justifier les taux de résidus extractibles plus élevés dans les couches profondes du sol GB que dans le sol GM.

D'autre part, les paramètres climatiques influent sur le transport en profondeur des résidus de pesticides, car du fait des conditions climatiques propres à chaque saison, la période d'application préconisée pour un herbicide intervient sur son transfert (Boesten, 1987). Ainsi, le taux de lixiviation d'un pesticide donné est souvent corrélé à la pluviométrie, d'un point de vue de la quantité, de l'intensité et de la fréquence des pluies. Siriwardana *et al.* (1981) ont montré, en conditions de laboratoire, que la distance de migration du chlortiluron, de l'isoproturon et du metoxyron augmentait avec l'intensité des précipitations. Par ailleurs, Bailey et White (1970) ont constaté un mouvement rapide de l'isoproturon à la suite d'une forte pluie, alors que la distribution des résidus évoluait peu au cours d'une période peu pluvieuse. Blair *et al.* (1970) ont généralisé le rôle des précipitations sur la lixiviation des pesticides en indiquant deux tendances : plus les pluies sont importantes et fréquentes, plus la lixiviation est intense, à la fois en quantité et en profondeur ; la lixiviation la plus importante est obtenue avec des pluies de faible intensité, mais sur de longues périodes. En outre, Boesten (1987) précise que le rôle des pluies doit être envisagé en considérant les excès d'eau par rapport à l'ETP (évapotranspiration), dans laquelle

d'autres paramètres climatiques interviennent.

Les caractéristiques physico-chimiques des sols interviennent également sur le transport des pesticides en profondeur. Le rôle du sol, dans les mouvements, intervient sur l'uniformité et la vitesse du flux d'eau. La taille des agrégats (Dekkers et Barbera, 1977) et des pores (Cox *et al.*, 1994) modifient la mobilité de la phase liquide. Plus les pores sont fins, plus la percolation est lente, et plus la rétention physique et chimique est favorisée. Ainsi, lorsque la proportion de pores de grandes taille augmente, la quantité totale lixiviée peut s'accroître. En outre, l'hétérogénéité de la structure du sol, obtenue après labour, favorise l'entraînement des pesticides interagissant peu avec les constituants du sol. En revanche, pour les composés davantage retenus par les colloïdes, une circulation lente de l'eau dans le sol permettra la désorption du produit et correspondra aux cas de lixiviation plus importants. Ainsi, il est apparu, par des études de Fermanich *et al.*, (1991), et de Fermanich et Daniel (1991), que des percolats issus des sols traités avec du carbofuran étaient deux fois moins concentrés en résidus, en cas de non labour, que pour un labour traditionnel en raison des modifications de la circulation de l'eau. À cause de sa solubilité élevée et d'une adsorption réduite (faible  $K_{oc}$ ), cet insecticide est facilement mis en solution dans l'eau qui circule rapidement dans le sol labouré. En résumé, Hance *et al.* (1981) ont souligné l'importance de la structure du sol en interprétant la mobilité à partir des concepts de fractions mobiles et immobiles de l'eau dans le sol. Selon ces auteurs, à cause de la structure du sol, une proportion plus ou moins grande de l'eau mobile n'atteindra pas l'équilibre avec les solutés se trouvant déjà dans la solution du sol.

Les propriétés des pesticides influent sur leur devenir dans les sols, car les processus de rétention et de dégradation semblent jouer un rôle essentiel sur leur mobilité. C'est pourquoi, par exemple, Gustafson (1989) les a pris en compte dans le calcul de l'indicateur de lessivage *GUS*. De même, les facultés de dégradation et de liaison des pesticides aux constituants des sols vont conditionner la disponibilité de ses résidus. Ainsi, Pestemer et Günter (1993) ont montré, à partir des modèles de simulation, que les quantités de résidus d'isoproturon réellement lixiviés dépendaient du taux de dégradation de la molécule mère, taux qui varie selon le type de sol.

Enfin, le rôle des microorganismes a été mis en évidence dans la dégradation des résidus extractibles et la formation des résidus non extractibles. L'existence d'une microflore spécifique semble

favoriser la formation rapide des résidus non extractibles, mais ceux-ci ne seraient pas persistants dans les sols adaptés, car les métabolites relargués par les microorganismes spécifiques seraient plus réactifs et facilement dégradables. En revanche, dans les sols non adaptés, la formation des résidus non extractibles est moins rapide, mais leur persistance plus élevée met en évidence la lenteur de la dégradation des pesticides par co-métabolisme réalisée par une population microbienne non spécifique.

## E - Conclusions

L'activité des microorganismes du sol à dégrader l'atrazine semble dépendre des conditions climatiques et des paramètres physiques (humidité et température du milieu). Plus ces conditions sont favorables, plus la dégradation du pesticide et de ses métabolites est importante, les résidus aqueux étant dégradés en priorité par les microorganismes. La dégradation des résidus se caractérise par un nombre élevé de dérivés du pesticide présents dans les percolats et dans les extraits aqueux et méthanoliques ; elle est accentuée avec les applications répétées. Après deux applications consécutives de  $^{14}\text{C}$ -atrazine, des résidus extractibles sont principalement présents dans les 10 à 15 premiers centimètres. Le transport vers les couches profondes des colonnes est dépendant des processus de dissipation tels que la minéralisation et la formation de résidus non extractibles.

La quantité de résidus extractibles est plus importante dans le sol GB, non adapté à la dégradation de l'atrazine, que dans le sol GM. La persistance des résidus extractibles dans les sols semble moins dépendre, dans les instants qui suivent l'application de l'atrazine, des paramètres physico- chimiques du sol que de l'action des microorganismes.

Le décalage d'applications entre avril et juin semble avoir une influence sur l'activité des microorganismes des sols impliqués dans la dégradation de l'atrazine. Cela se traduit par une modification du transport vertical de l'atrazine, avec modification des cinétiques globales de dégradation des résidus extractibles. Ces différences pourraient avoir un impact environnemental significatif sur la distance parcourue par les résidus d'atrazine dans les sols. L'évolution des résidus extractibles d'atrazine dans le sol GM, dont la population microbienne est spécifique,

est particulièrement sensible au décalage de l'application. Une meilleure évaluation du devenir du pesticide, en fonction des conditions climatiques au moment de l'application, pourrait donc permettre de mieux prendre en compte le rôle des microorganismes dans la dissipation des résidus extractibles et dans la formation des résidus non extractibles.

Les applications répétées induisent une accélération de la dégradation et la dissipation des résidus extractibles dans les colonnes de sol. Pour une même durée d'incubation, les taux de résidus d'atrazine extractibles diminuent de la première à la deuxième application. Ce qui se traduit par une dissipation dans la couche de surface et un transfert en profondeur plus importants. Ce comportement semble être en relation avec la quantité de résidus de pesticide présents dans la couche de surface des sols. En effet, les phénomènes inhérents, soit à la baisse des constantes de vitesse de formation des résidus non extractibles avec la temps dans les couches du sol GM, adapté à la dégradation de l'atrazine, soit à une formation progressive (à vitesse constante) des résidus non extractibles avec le temps dans le sol GB, peuvent provoquer la présence d'un excès de résidus de pesticide dû aux applications successives, que les précipitations peuvent facilement entraîner en profondeur. Par ailleurs, l'analyse des extraits de la couche 0–5 cm des colonnes de sol par chromatographie fait apparaître un nombre plus important de métabolites avec le temps, aussi bien parmi les extraits à l'eau qu'au méthanol, résultat d'une dégradation plus importante de la molécule mère avec le temps et avec le nombre d'applications.

Les résidus non extractibles, préférentiellement localisés dans la couche de surface des deux sols, sont moins persistants dans le sol GM que dans le sol GB. Il y a dissipation des résidus non extractibles avec le temps dans la couche 0–5 cm du sol GM, dans lequel on retrouve la plus forte proportion de la population microbienne adaptée à la dégradation de l'atrazine. Cette dissipation traduirait une remobilisation des résidus d'atrazine initialement non extractibles. Dans le sol GB, où les microorganismes ne dégradent l'atrazine que par co-métabolisme, les résidus non extractibles s'accumulent dans la couche de surface. La diminution de la dégradation dans cette couche de surface provoque un transfert important des résidus en profondeur, dont une partie devient non extractible.

La différence entre les valeurs des paramètres de cinétique de l'évolution de l'atrazine obtenues au cours des expérimentations en conditions contrôlées de laboratoire et en conditions naturelles,

serait due aux facteurs susceptibles d'influer sur les processus de dissipation et de dégradation. En effet, la dissipation de l'atrazine et la dégradation des résidus extractibles est plus rapides dans les sols GM et GB en conditions contrôlées de laboratoire qu'en condition de plein champ. Dans le sol GM, les constantes de dissipation de l'atrazine et de dégradation des résidus extractibles, après un seul apport d'atrazine ( $0,317$  et  $0,260 \text{ j}^{-1}$ , respectivement) sont plus élevées qu'en condition de plein champ, quelque soit l'épaisseur de la couche considérée. Ces différences seraient dues au fait que les expérimentations menées en conditions contrôlées de laboratoire ne sont pas soumises aux aléas climatiques, les incubations se faisant aux conditions optimales d'activité de la microflore (humidité et température).

L'évolution des résidus non extractibles en conditions naturelles est inversée par rapport à ce qui a été obtenu en conditions contrôlées de laboratoire où à l'instant initial, plus de résidus non extractibles d'atrazine se forment dans le sol GM que dans le sol GB (figure 3.17 page 76). Ce comportement différent du sol GM dans la formation des résidus non extractibles pourrait être dû à l'activité des microorganismes, plus élevée en conditions contrôlées où elle est favorisée par les conditions du milieu qu'en conditions naturelles où elle est soumise aux aléas du climat.

On note une légère diminution de la constante de vitesse de formation des résidus non extractibles avec la profondeur dans le sol GM, alors que dans le sol GB, la vitesse de formation des résidus non extractibles varie peu et semble indépendante de la couche considérée, les constantes de vitesse de formation des résidus non extractibles étant comparables dans toutes les sous-couches. Dans le sol GM, les cinétiques décrivant  $\text{Ln}([^{14}\text{C}])$  en fonction du temps montrent une remobilisation des résidus non extractibles. Toutefois, la vitesse de libération des résidus non extractibles semblent plus rapide en conditions naturelles (où  $\text{Ln}([^{14}\text{C}])$  décroît avec le temps) qu'en conditions contrôlées de laboratoire où les taux de résidus non extractibles sont semblables jusqu'à la fin des incubations dans le sol GM. Cette remobilisation est sûrement en relation avec la présence d'une population microbienne adaptée à la dégradation de l'atrazine dans le sol GM.

## Chapitre 5

# Modélisation de la dynamique des pesticides dans les sols par l'analyse compartimentale

### A Introduction - Aspects généraux de l'analyse compartimentale

Le modèle constitue un support d'expérimentation permettant de réfléchir sur les systèmes réels, en levant les contraintes de taille, de durée, de contrôle des paramètres et d'effets négatifs potentiels sur ceux-ci. Il existe aujourd'hui un grand nombre de modèles numériques qui décrivent le devenir des produits xénobiotiques dans l'environnement. Ces modèles sont différents à travers la complexité et les phénomènes qu'ils décrivent. Les prédictions des concentrations des pesticides dans l'environnement, les eaux de surface et souterraines constituent une part importante des données réglementaires requises à l'homologation des pesticides (Stet, 1995). Ces prédictions nécessitent souvent des modèles mathématiques. De nombreux modèles existent et sont couramment utilisés, comme par exemple PERSIST (Walker et Barnes, 1981), VARLEACH (Walker, 1987), LEACHM (Hutson et Wagenet, 1992), CMLS (Nofziger et Hornsby, 1994), PELMO (Jene, 1998), PRZM (Carsel *et al.*, 1998), PEARL (Tiktak *et al.*, 1994) ou MACRO (Jarvis, 1994). Le contenu phénoménologique des modèles numériques classiques décrivant le devenir des pesticides

dans le sol est schématiquement le même. Il est basé sur le couplage entre des phénomènes de transport en phase liquide ou en phase gazeuse et des échanges avec des sources et des puits représentés par les phénomènes de rétention, d'adsorption par les plantes et les transformations chimiques et biologiques.

La plupart de ces modèles de simulation ou de description du devenir des pesticides dans l'environnement sont fréquemment utilisés pour évaluer les risques. Le plus souvent, ils emploient un formalisme mathématique (équations) décrivant les phénomènes et nécessitant de nombreux paramètres d'entrée (tab. 5.1). Ces paramètres permettent la caractérisation du milieu, ainsi que le comportement des pesticides dans des conditions expérimentales données. Pour accéder aux valeurs de ces paramètres, des expérimentations de laboratoire et de terrain sont nécessaires. Par exemple, les temps de demi-vie ( $t_{1/2}$ , Leake, 1995), utilisés comme paramètres d'entrée dans les modèles, sont tirés de ces expériences pour fournir une indication numérique de la persistance des pesticides dans les sols. Toutefois, les valeurs des paramètres de dégradation tirés des expériences statiques, en conditions de laboratoire comme les  $t_{1/2}$ , doivent être corrigées pour être appliquées lors de l'étude de la dissipation des pesticides en conditions naturelles. Une étape importante et nécessaire est la validation du modèle. Cette étape suppose la confrontation des prévisions du modèle avec les données expérimentales, indépendamment de celles utilisées pour l'obtention des paramètres. Dans le cas des modèles simulant la dispersion des pesticides, il est donc nécessaire de disposer des cinétiques de dissipation ou de dégradation des pesticides sur plusieurs sites et pendant un temps relativement long, afin de les comparer aux simulations.

Deux approches sont prises en compte pour utiliser un modèle. D'une part, il peut être utile de simuler le devenir d'un produit sans disposer d'observations expérimentales en n'utilisant que des valeurs numériques non ajustées (mesurées ou estimées). Dans ces conditions, l'usage des simulations dépend de la capacité du modèle à simuler et à décrire correctement le devenir des produits étudiés. C'est ce qui est généralement le cas des applications à des fins réglementaires. Mais ce genre de simulations sont parfois éloignées des observations comme l'ont montré certains auteurs (Jones *et al.*, 1986 ; Melancon *et al.*, 1986 ; Mueller *et al.*, 1992).

Une autre utilisation des modèles consiste en la comparaison entre les résultats simulés et les résultats observés. Dans ce cas, il est souvent nécessaire d'ajuster les valeurs numériques

TAB. 5.1 – Exemples de paramètres d'entrée des modèles classiques.

Type de sous système	Paramètres d'entrée
Site et expérimentation	durée de l'expérimentation, dates des prélèvements, teneur et concentration initiale du composé dans le sol
Propriétés du sol	Masse volumique apparente, teneur en carbone organique, composition granulométrique, teneur en eau à différents potentiels matriciels, conductivité hydraulique à saturation
Caractéristiques culturales	Type de culture, dates d'émergence/maturité/récolte, profondeur et densité des racines, traitements phytosanitaires (dates, doses)
Données climatiques	Précipitation/irrigation journalière, températures de l'air journalière maximales et minimales, évaporation journalière
Propriétés des pesticides	Solubilité dans l'eau, densité de vapeur ou constante de Henry, coefficient d'adsorption, coefficient de vitesse de dégradation

d'un certain nombre de paramètres aux valeurs expérimentales pour que les simulations soient proches des observations. Les modèles et leurs valeurs numériques ajustées sont alors rattachés aux conditions du site étudié. Dans ce cas, plusieurs auteurs ont testé des indices statistiques (Parrish et Smith, 1990 ; Loague et Green, 1991 ; Trevisan *et al.*, 1994 ; Walker *et al.*, 1995), afin de quantifier les écarts entre les observations et les simulations. Ces indices présentent quelques inconvénients :

- pour Delre et Trevisan (1994), ils nécessitent un grand nombre d'observations,
- pour Trevisan *et al.* (1995), les résultats sont variables selon l'indice utilisé,
- et ils ne tiennent pas compte de la variabilité des observations et des simulations.

Dans ce travail, l'étude de la dynamique des pesticides dans les sols se fera par une analyse dite compartimentale du système sol-pesticide, à l'aide d'un modèle numérique à compartiments. D'après Jacquez (1972), un "système à compartiments est un système constitué d'un nombre fini de sous-systèmes macroscopiques, appelés compartiments, échangeant entre eux un ensemble de matériel ". Pour Legay (1973), "un système à compartiments est un ensemble de deux ou plusieurs compartiments qui communiquent entre eux et entre lesquels circulent un ou plusieurs éléments déterminés. Le nombre de compartiments et les règles de circulation constituent les règles du systèmes". Les processus de transformation subis par les pesticides dans le sol sont susceptibles d'être représentés par un modèle à compartiments, puisqu'il s'agit de l'évolution dans le sol, au cours du temps, des formes physico-chimiques du pesticide, de ses métabolites et

de d'autres formes issues des transformations dues au contact avec les constituants des sols.

Le système représente tout système bio-physicochimique voire physiologique dans lequel on désire étudier le comportement d'une substance, et sur lequel on peut faire des expériences (Atkins, 1973). Dans notre travail, le système est constitué du sol, le phénomène étudié étant les échanges du  $^{14}\text{C}$ -pesticide entre les compartiments du sol. Ces échanges déterminent la transformation du pesticide et le degré de stabilisation défini en fonction des caractéristiques de son extractabilité. Ce système consiste en un transport de  $^{14}\text{C}$ -pesticide, aller et/ou retour, d'un compartiment vers un autre compartiment. Le compartiment est considéré comme une quantité de substance qui a une cinétique uniforme, reconnaissable et discernable, de transformation ou de transport. La taille ou la dimension d'un compartiment est déterminée par la quantité de  $^{14}\text{C}$ -pesticide à l'intérieur du compartiment (en unité de masse ou en pourcentage de la quantité appliquée). Le transfert du  $^{14}\text{C}$ -pesticide d'un compartiment vers un autre peut représenter soit le changement du pesticide d'un état physicochimique ou biochimique à un autre, ou la transformation du pesticide d'une forme chimique en une autre à l'intérieur des mêmes fractions bio-physicochimiques du sol. À partir d'une formulation mathématique du phénomène, nous voulons arriver à répondre à des questions précises : description et quantification des transformations subies par les pesticides dans différents sols ; existence, à priori, des transferts non évidents entre les différentes fractions du sol, et difficilement mises en évidence par l'expérimentation.

On peut faire remonter l'origine des techniques de l'analyse compartimentale au travail de Hevesey (1923), qui avait utilisé l'isotope radioactif  $^{212}\text{Pb}$  comme traceur pour démontrer l'absorption et la perte des ions plomb par les racines. Hevesey et Hofer (1934a, 1934b) firent aussi les premières expériences sur l'animal en mesurant le métabolisme du bismuth radioactif chez le lapin. La plupart des travaux employant des traceurs isotopiques jusqu'aux premières années qui ont suivi 1940, étaient de nature qualitative bien que l'on ait fait quelques estimations grossières des demi-vies biologiques (Artom *et al.*, 1938 ; Burton, 1939). C'est à Zilversmit *et al.* (1943) à qui doit revenir le mérite d'avoir procédé au premier calcul quantitatif adéquat. Il faut noter, cependant, que dans le domaine de la cinétique des médicaments, on disposait de calculs théoriques (Sheppard, 1948 ; Sheppard et Householder, 1951 ; Berman et Schoenfeld, 1956). Les progrès les plus récents en analyse compartimentale sont nés de l'introduction des calculateurs (Hickey et Brownell, 1954 ; Garfinkel, 1963, 1966 ; Hillel, 1977).

Les objectifs de ce travail sont de réaliser une modélisation numérique de simulation et d'interprétation du devenir des pesticides dans les sols, par la prise en compte du phénomène de stabilisation, pour interpréter des résultats des expérimentations dans le cadre des études de la dynamique des pesticides dans les sols. Cette modélisation est basée sur la compartimentalisation du fonctionnement du système sol-pesticide; les compartiments du système sol-pesticide étant déterminés en fonction des résultats des extractions des expérimentations précédentes.

Il s'agira, ainsi, de développer et d'appliquer un modèle mathématique à compartiments : (i) pour simuler et expliquer la dissipation des résidus de  $^{14}C$ -pesticide dans les compartiments des sols provenant de sites différents, et (ii) d'ajuster les données expérimentales aux cinétiques théoriques afin d'en tirer les paramètres cinétiques caractéristiques de l'évolution des résidus de pesticides, soit dans un compartiment donné, soit entre compartiments. Cette même approche sera utilisée pour accéder aux paramètres du transfert de ces résidus entre compartiments de couches contiguës du sol (cas des expérimentations avec les lysimètres). Les compartiments des sols ont été réalisés en tenant compte de l'évolution de l'extractibilité des pesticides par deux solvants : l'eau et le méthanol. La fraction des résidus de pesticides extractibles à l'eau est définie comme étant le *compartiment facilement extractible* ; la fraction extractible au méthanol est définie comme le *compartiment difficilement extractible* ; et la fraction non extractible, est définie comme *compartiment non extractible*. L'utilisation du logiciel "ModelMaker" (ModelKinetix, U.K., Müller, 2000) a permis de réaliser, d'une part, le modèle à compartiments ; et d'autre part, toutes les optimisations nécessaires pour l'obtention des paramètres cinétiques, par inversion du modèle.

## B Matériels et méthodes

Toutes les données expérimentales ont été obtenues précédemment lors des études de la stabilisation de l'atrazine et de l'isoproturon en microcosmes en conditions contrôlées de laboratoire (chapitres 2 et 3) ; et lors de l'étude de la dissipation de l'atrazine dans les colonnes de sol sous conditions naturelles (chapitres 2 et 4).

## B1 - Démarches expérimentales

Le suivi de la dynamique du pesticide dans les sols repose sur l'étude de l'évolution de  $^{14}\text{C}$ -pesticide dans les différents compartiments du sol au cours du temps. Les compartiments ont été définis, d'une manière opérationnelle, en fonction des techniques d'extraction décrites dans les parties précédentes. Il s'agit donc de définir ces compartiments et d'estimer les flux de matière circulant entre eux, les différentes étapes du devenir d'un pesticide et/ou de ses produits de dégradation pouvant être représentées par des compartiments reliés entre- eux par des flux comme le montre la figure 5.1.

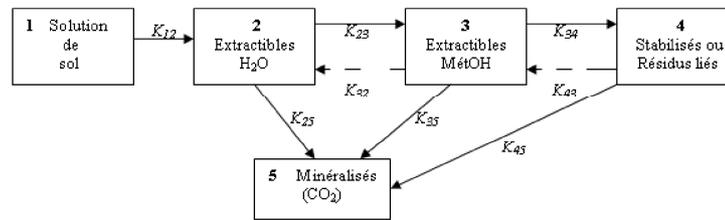


FIG. 5.1 – Structure du modèle, identification des compartiments et des flux.

Le modèle mathématique va refléter la dynamique des échanges de matière entre compartiments mis en évidence par le dosage du  $^{14}\text{C}$ -pesticide. Le modèle est représenté par un système d'équations différentielles linéaires, dont la résolution constitue l'analyse compartimentale (Jacques, 1972 ; Legay, 1973). Pour générer le modèle retenu, on suppose que :

- les flux sortant d'un compartiment sont proportionnels aux concentrations en  $^{14}\text{C}$  dans le compartiment ;
- il y a stationnarité, c'est-à-dire les facteurs de proportionnalité sont invariants au cours du temps ;
- le système est autonome, il y a conservation de la matière ;
- les compartiments sont homogènes.

En outre, le modèle mathématique utilisé dans ce travail prend en compte les aspects dynamiques de la stabilisation des pesticides dans le sol (formation des résidus non extractibles), caractérisés par des flux de matière entre compartiments. Ces flux sont identifiés par des constantes de vitesse ou taux de dégradation de résidus d'un compartiment vers un autre compartiment. Une démarche similaire avait été entreprise par Hamaker et Göring (1976). Ces auteurs avaient adopté un modèle à deux compartiments, un labile et un autre lié. D'après ce système, on considère comme :

- système d'étude : le comportement des pesticides dans le sol ;
- substances actives : deux pesticides, l'atrazine et l'isoproturon ;
- traceur : l'isotope radioactif  $^{14}\text{C}$  du carbone ;
- nombre de compartiments pris en compte : 5.

Les cinq compartiments du modèle tels que représentés dans la figure 5.1 ont été définis de la manière suivante :

- le *Compartiment minéralisé* est constitué des résidus de pesticides minéralisés ou totalement dégradés ;
- le *Compartiment facilement extractible* est composé des résidus d'atrazine et d'isoproturon extraits en solution aqueuse ;
- le *Compartiment difficilement extractible* ou résidus de pesticides extraits au méthanol ;
- le *Compartiment non extractible* composé de résidus de pesticides non extractibles ou "résidus liés".

Dans le diagramme des échanges (fig. 5.1), on suppose que les échanges de matière entre les compartiments suivent des cinétiques de 1<sup>er</sup> ordre ( Kulshrestha, 1982 ; Berger et Heitefuss, 1990 ; Blair et *al.*, 1990) décrites par les équations différentielles suivantes :

- **Compartiment 1** :  $\frac{dQ_1}{dt} = -k_{12}.Q_1$

- **Compartiment 2** :  $\frac{dQ_2}{dt} = +k_{12}.Q_1 - (k_{23} + k_{25}).Q_2 + k_{32}.Q_3$

- **Compartiment 3** :  $\frac{dQ_3}{dt} = +k_{23}.Q_2 - (k_{32} + k_{34} + k_{35}).Q_3 + k_{43}.Q_4$

- **Compartiment 4** :  $\frac{dQ_4}{dt} = +k_{34}.Q_3 - (k_{43} + k_{45}).Q_4$

- **Compartiment 5** :  $\frac{dQ_5}{dt} = +k_{25}.Q_2 + k_{35}.Q_3 + k_{45}.Q_4$

Pour un compartiment  $i$  donné, l'intégration de l'équation qui lui est rattachée à un instant  $t$  décrit la variation des quantités de résidus de pesticide à l'intérieur de ce compartiment. Par confrontation aux données expérimentales et par une procédure de *modélisation inverse* (Gottesbüren, 1998), le modèle permettra l'estimation des constantes de vitesse  $k_{ij}$  correspondantes. La construction du modèle et la résolution des équations différentielles ont été réalisées à l'aide du logiciel "ModelMaker" (ModelKinetix, U.K.). "ModelMaker" développe des modèles

de simulation-type des phénomènes plutôt que des modèles statistiques empiriques. Ce logiciel permet également, non seulement de tester les effets des changements qui peuvent intervenir au cours des processus, mais aussi de créer des scénarii de l'analyse fonctionnelle dite *What if*. Il facilite, pour cela, l'établissement rapide des relations entre les différents compartiments et fournit le modèle le plus efficient pour un système donné.

## C Résultats et discussion

### C1 - Réalisation de la modélisation de la dynamique du $^{14}\text{C}$ -pesticide lors d'applications répétées en conditions contrôlées de laboratoire

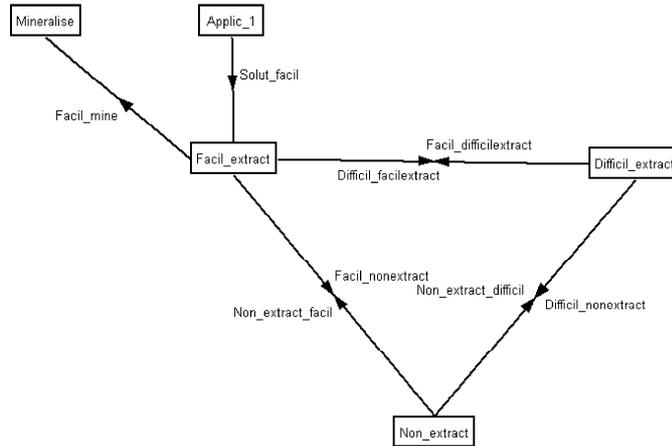
Les diagrammes 5.2 représentent les trois hypothèses de départ utilisées pour la modélisation de la dynamique de l'atrazine et de l'isoproturon dans les différents compartiments des sols GM, GB et NB. Chaque échange ou flux de  $^{14}\text{C}$  entre compartiments est caractérisé par une constante d'échange appelée constantes de vitesse de flux  $k_{ij}$  (en  $j^{-1}$ ). Deux échanges réciproques entre deux compartiments, caractérisés par deux flèches en sens contraire, représentent un état stationnaire d'échange de  $^{14}\text{C}$  entre ces deux compartiments. Lorsqu'un échange se fait d'un compartiment  $i$  à un compartiment  $j$  on pourra considérer que le compartiment  $i$  "alimente" le compartiment  $j$ .

On se place dans un contexte d'applications répétées d'atrazine et d'isoproturon, et on a procédé à l'élaboration de modèles spécifiques en fonction du nombre d'applications. Ainsi, au cours de la 1<sup>re</sup> application (fig. 5.2), quatre compartiments font l'objet des échanges de  $^{14}\text{C}$ -pesticide. Tous les compartiments qui participent à la dégradation des résidus de pesticides sont réciproquement alimentés par les deux autres compartiments, excepté avec le "compartiment minéralisé" qui est un compartiment puits due à la dégradation totale des pesticides. Néanmoins, on suppose que le "compartiment minéralisé" est alimenté en  $^{14}\text{C}$  par le seul compartiment "facilement extractible", alors que ce dernier reçoit en plus la solution de sol.

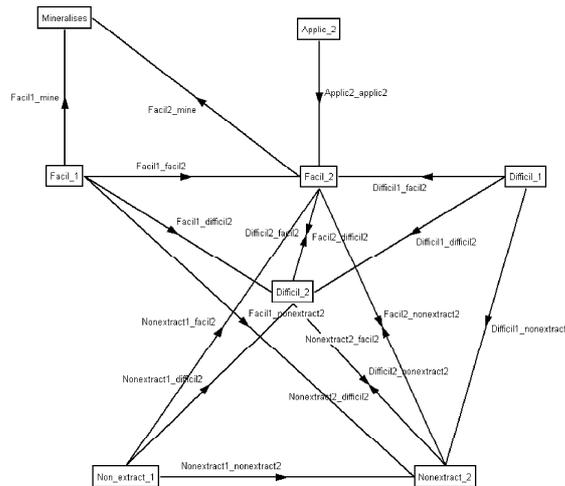
Pour la 2<sup>e</sup> application de pesticide, on considère 7 compartiments ( $2 \times 4 - 1 = 7$  *compartiments*) répartis à raison de 3 compartiments par application, plus un unique "compartiment minéralisé".

TAB. 5.2 – Hypothèses de départ pour la modélisation dans un contexte d'applications répétées d'atrazine et d'isoproturon ("Applic-1", "Applic-2" et "Applic-3" sont des compartiments représentant la concentration de la solution de sol lors des 1<sup>re</sup>, 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> applications du pesticide dans le sol).

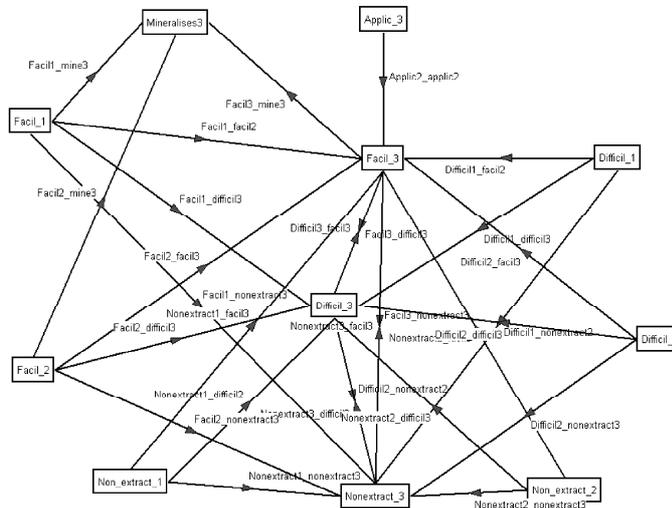
**Hypothèses de départ pour la modélisation au cours de la 1<sup>re</sup> application**



**Hypothèses de départ pour la modélisation au cours de la 2<sup>e</sup> application**



**Hypothèses de départ pour la modélisation au cours de la 3<sup>e</sup> application**



La circulation des flux de  $^{14}C$  se fait de la manière suivante (fig. 5.2) :

- le "compartiment minéralisé" est alimenté par les deux compartiments "facilement extractible" de la première ( $[Fac\ ext.1]$ ) et de la deuxième application ( $[Fac\ ext.2]$ );
- les trois compartiments  $[Fac\ ext.1]$ ,  $[Dif\ ext.1]$  et  $[Non\ ext.1]$  résultant du premier apport de pesticide dans le sol alimentent chacun les trois compartiments résultant de la deuxième application ( $[Fac\ ext.2]$ ,  $[Dif\ ext.2]$  et  $[Non\ ext.2]$ );
- Il y a des échanges réciproques, deux par deux, entre les trois compartiments décrivant la deuxième application ( $[Fac\ ext.2] \leftrightarrow [Dif\ ext.2]$ ;  $[Fac\ ext.2] \leftrightarrow [Non\ ext.2]$ ;  $[Dif\ ext.2] \leftrightarrow [Non\ ext.2]$ ). Ainsi, chaque compartiment résultant de la 2<sup>e</sup> application de pesticide se trouve alimenté par 5 autres compartiments.

La même procédure est utilisée pour l'élaboration du modèle spécifique appliqué au cas de la 3<sup>e</sup> application du pesticide. Dans ce cas, le nombre de compartiments pris en compte par le modèle est de 10 (fig. 5.2). Des compartiments spécifiques avec individualisation de chaque apport de pesticide sont conservés, avec des hypothèses de flux entre compartiments exprimées lors de la construction du modèle.

Ainsi, le nombre de compartiments  $C$ , nécessaires pour établir un modèle avec les hypothèses émises est lié au nombre d'applications de pesticide par une relation de type :

$$C = n \times (C_i - 1) + 1$$

avec  $C_i$  : nombre de compartiments initiaux du sol et  $n$ , nombre d'applications du pesticide. Dans notre cas,  $C_i = 4$  et l'équation ci-dessus devient :

$$C = 3 \times n + 1$$

Dans les diagrammes 5.2 représentant les hypothèses de départ, "Applic-1", "Applic-2" et "Applic-3" sont des compartiments particuliers. Ils traduisent la solubilité des pesticides dans la solution de sol et sont notés dans les tableaux des paramètres (5.3, 5.4, 5.5 et 5.6) par

"*Pest* → *sol*".

En revanche, le nombre de circuits d'échange (ou nombre de flèches reliant les compartiments) entre les compartiments n'est pas fixe, il dépend de la dynamique du pesticide dans les compartiments des sols. L'analyse compartimentale du modèle détermine les circuits possibles d'échange des flux (représentés par les flèches) entre compartiments. Mais nous nous sommes réveillés la possibilité de réduire ce nombre, en éliminant les flux pouvant être considérés comme négligeables.

Pour les trois sols GM, GB et NB, les constantes de vitesse correspondant à chaque flux sont données dans les tableaux 5.3 à 5.6. D'autre part, les diagrammes des flux ainsi identifiés correspondant aux voies de dégradation des pesticides lors des trois applications, de même que les cinétiques traduisant la dynamique du  $^{14}\text{C}$ -pesticide dans les compartiments sont illustrés dans les figures 5.2 à 5.7.

## **C2 - Dynamique de l'atrazine et de l'isoproturon dans le sol GM (sol brun calcique adapté à la dégradation de l'atrazine**

Les modèles obtenus et les cinétiques ajustées décrivant l'évolution du  $^{14}\text{C}$ -atrazine et du  $^{14}\text{C}$ -isoproturon dans les compartiments du sol GM sont présentés dans les figures 5.2 et 5.3, respectivement. Dès son arrivée dans le sol GM, après la 1<sup>re</sup> application, l'atrazine et ses résidus disparaissent très rapidement de la solution de sol (fig. 5.2). Ces résidus  $^{14}\text{C}$  vont du compartiment "facilement extractible" au compartiment "difficilement extractible". Celui-ci agit comme un compartiment central régulant les autres flux des résidus d'atrazine, selon deux équilibres : "*Non ext.*" ↔ "*Fac. ext.*" et "*Non ext.*" ↔ "*Dif. ext.*", caractérisés par les constantes d'équilibre égales à 0,75 et 0,15, et correspondant respectivement au rapport des constantes de vitesse  $\frac{k_{\text{Non ext.} \rightarrow \text{Fac. ext.}}}{k_{\text{Fac. ext.} \rightarrow \text{Non ext.}}}$  et  $\frac{k_{\text{Non ext.} \rightarrow \text{Dif. ext.}}}{k_{\text{Dif. ext.} \rightarrow \text{Non ext.}}}$ . Ainsi, il y aurait une remobilisation des résidus d'atrazine dans le compartiment "non extractible" et leur libération sous la forme de résidus facilement extractibles et difficilement extractibles. D'après la cinétique d'évolution des taux de résidus non extractibles (fig. 5.2), cette remobilisation est observée à partir de 8 j. Par ailleurs, la forte minéralisation de l'atrazine observée dans le sol GM est l'étape finale de l'évolution des résidus de

l'atrazine, le flux de minéralisation étant le plus rapide de tous les flux, avec une constante de  $k_{Fac. \rightarrow Mine} = 0,29 j^{-1}$  (tab. 5.3).

Avec l'isoproturon (fig. 5.3), la formation des résidus non extractibles est rapide et importante. La transformation des résidus facilement extractibles en résidus non extractibles domine sur les autres processus de transformation de l'isoproturon dans le sol GM, avec une constante de vitesse  $k_{Fac.ext. \rightarrow Non ext.} = 0,32 j^{-1}$ . La formation des résidus non extractibles d'isoproturon semble se faire directement à partir du compartiment facilement extractible, ce qui est probablement en relation avec la formation de métabolites polaires et très réactifs (anilines). En outre, le modèle montre la remobilisation des résidus du compartiment "non extractible" vers le compartiment "difficilement extractible", mais la constante de vitesse de remobilisation des résidus non extractibles ( $k_{Non ext. \rightarrow Dif. ext.} = 2,03.10^{-3} j^{-1}$ ) est très faible par rapport à la constante de leur formation (tab. 5.3).

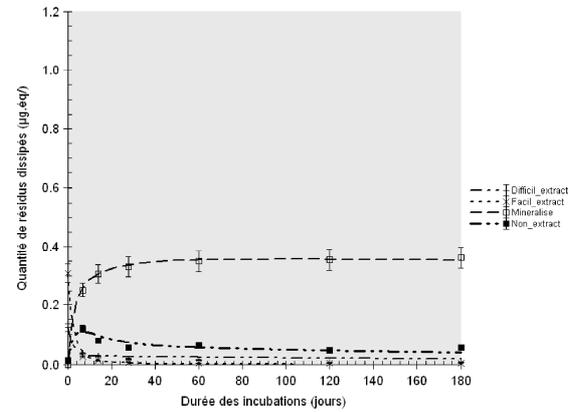
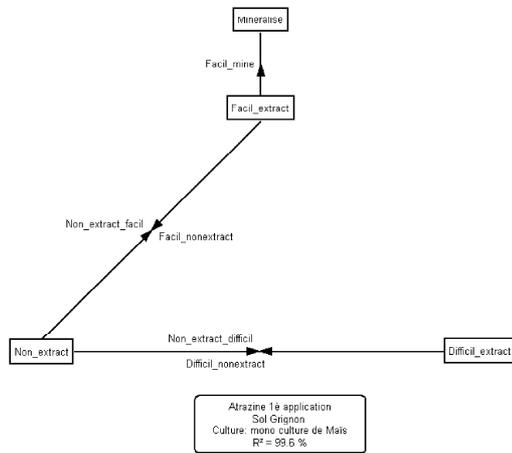
Après la deuxième application, la minéralisation de l'atrazine continue à être assurée à partir des résidus des compartiments "facilement extractible" (fig. 5.2). On observe une persistance des résidus d'atrazine de la première application. Les résidus non extractibles, spécifiques à la deuxième application, semblent être formés à partir, d'une part, des résidus difficilement extractibles des première et deuxième applications d'atrazine; et d'autre part, des résidus facilement extractibles de la deuxième application. La diminution, avec le temps, des résidus du compartiment "non extractible-2" est observée après 120  $j$  d'incubation du sol GM, ceci est dû, d'après le modèle, à leur libération et leur transfert vers les compartiments "facilement extractible-2" ( $k_{Non ext.2 \rightarrow Fac ext.2} = 6,43.10^{-3} j^{-1}$ ) et "difficilement extractible-2" ( $k_{Non ext.2 \rightarrow Dif ext.2} = 0,02 j^{-1}$ ). Mais ces deux échanges sont caractérisés par des équilibres dont les constantes ( $\frac{k_{Non ext.2 \rightarrow Fac ext.2}}{k_{Fac.2 \rightarrow Non ext.2}} = 0,17$  et  $\frac{k_{Non ext.2 \rightarrow Dif ext.2}}{k_{Dif ext.2/Non ext.2}} = 0,09$ ) montrent que la remobilisation des résidus non extractibles reste faible par rapport à leur formation. Le diagramme des flux montre également que la deuxième application de l'atrazine induit la remobilisation des résidus non extractibles formés après la première application, avec leur libération vers le compartiment "facilement extractible-2".

Dans le cas de l'isoproturon (fig. 5.3), après la 2<sup>e</sup> application, les résidus minéralisés proviennent du seul compartiment "facilement extractible-2". Ce compartiment est formé des rési-

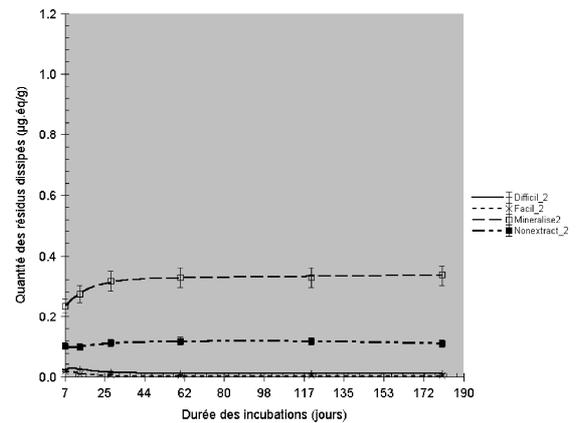
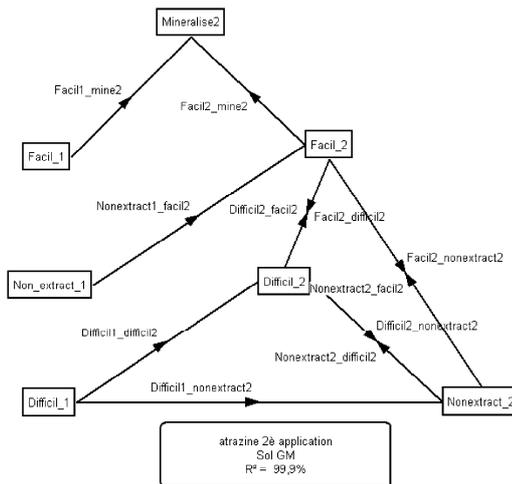
Modèle à compartiments

Cinétiques dans chaque compartiment

Première application



Deuxième application



Troisième application

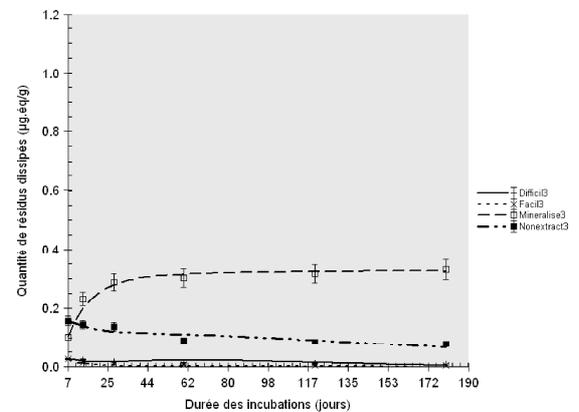
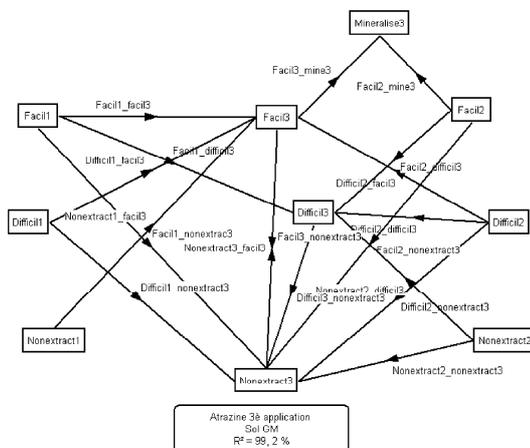


FIG. 5.2 – Modèles théoriques à compartiments décrivant la dynamique de l'atrazine lors des applications répétées dans le sol GM et ajustement aux données expérimentales.



dus provenant de la première application, du compartiment "difficilement extractible-1" et par la remobilisation des résidus du compartiment "non extractible-1". Les résidus non extractibles formés après la deuxième application semblent provenir uniquement des résidus du compartiment "difficilement extractible-2". Le modèle met en évidence une remobilisation des résidus non extractibles d'isoproturon : ceux formés après la deuxième application se remobilisent vers des résidus facilement extractibles ( $k_{Non\ ext.2 \rightarrow Fac\ ext.2} = 4,85.10^{-3} j^{-1}$ ) et difficilement extractibles ( $k_{Non\ ext.2 \rightarrow Dif\ ext.2} = 2,47.10^{-3} j^{-1}$ ).

Après la troisième application d'atrazine dans le sol GM (fig. 5.2), il y a confirmation de la tendance de la localisation des résidus et des ordres de grandeurs et de direction des flux entre compartiments, en particulier pour la description des cinétiques de minéralisation. En effet, il y a une accélération des flux entre les compartiments "facilement extractible-3" et "minéralisé" ( $k_{Fac\ ext.3 \rightarrow Mine\ 3} = 0,96 j^{-1}$ ). Néanmoins, la taille du compartiment minéralisé n'augmente pas, diminuant même par rapport à celle atteinte au cours des deux premières applications. La minéralisation serait toujours contrôlée par les résidus facilement extractibles ; mais ces résidus de la troisième application sont en compétition pour la minéralisation et la formation des résidus non extractibles. Les résidus non extractibles formés après la troisième application d'atrazine continuent à être alimentés par des compartiments des applications précédentes, des compartiments "facilement extractible-3" et "difficilement extractible-3" et par la remobilisation des résidus non extractibles de la deuxième application ; les compartiments "facilement extractible-3" et "difficilement extractible-3" étant, pour leur part, alimentés par les résidus formés après les deux premières applications. L'analyse compartimentale montre un équilibre entre les fractions facilement extractibles et non extractibles, avec un déplacement rapide des flux vers la formation des résidus non extractibles. Néanmoins, la remobilisation des résidus non extractibles, mise en évidence lors des deux applications précédentes, semble continuer au-delà de la troisième application, la taille du compartiment "non extractible-3" diminuant progressivement jusqu'à la fin des incubations (fig. 5.2).

La troisième application d'isoproturon dans le sol GM augmente relativement la valeur du flux entre les compartiments "facilement extractible-3" et "minéralisé". Ceci induit une forte minéralisation des résidus facilement extractibles de la première application, la valeur du flux de minéralisation étant très élevée ( $k_{Fac\ ext.1 \rightarrow Mine\ 3} = 1,06 j^{-1}$ ). D'autre part, la troisième

application favorise l'augmentation de la taille du compartiment "non extractible-3". Cependant, d'après l'analyse compartimentale, il y a une diminution des résidus non extractibles à partir de 14  $j$  après la troisième application, traduisant ainsi la remobilisation des résidus du compartiment "non extractible-3" sous la forme de résidus facilement et difficilement extractibles. Mais cette remobilisation n'est pas observée à travers les cinétiques d'évolution des résidus non extractibles. Ceci suppose que la compétition entre les processus de minération et de formation des résidus non extractibles est à l'avantage de la minéralisation (fig. 5.3).

### **C3 - Dynamique de l'atrazine et de l'isoproturon dans le sol GB (sol brun calcique non adapté à la dégradation de l'atrazine)**

Les modèles obtenus ainsi que les résultats de l'analyse compartimentale sont présentés dans les figures 5.4 et 5.5 pour l'atrazine et l'isoproturon, respectivement. Les flux entre les compartiments du sol GB sont semblables après la première application d'atrazine et d'isoproturon : le compartiment "minéralisé" est alimenté par des résidus "facilement extractible" qui alimentent aussi le compartiment "difficilement extractible". Dans le cas de l'atrazine, le faible flux de minéralisation et la formation rapide des résidus non extractibles se traduisent par des valeurs des constantes  $k_{Fac\ ext. \rightarrow Mine} = 5,85.10^{-3} j^{-1}$  et  $k_{Dif. \rightarrow Non\ ext.} = 0,24 j^{-1}$  (tab. 5.3). La remobilisation des résidus non extractibles vers des résidus facilement extractibles est très faible ( $k_{Non\ ext./Fac.\ ext.} = 0,05 j^{-1}$ ), par rapport à la vitesse de leur formation (fig. 5.4).

Avec l'isoproturon, la vitesse de transformation des résidus difficilement extractibles en résidus non extractibles est 62 fois plus rapide que le flux inverse, le taux de résidus non extractibles atteignant un maximum après 28  $j$  d'incubation. Ensuite, ce taux décroît régulièrement jusqu'à la fin des incubations, traduisant une libération des résidus non extractibles suivie de leur remobilisation vers le compartiment "facilement extractible" où ils se minéralisent (fig. 5.5).

La deuxième application d'atrazine dans le sol GB induit une accélération de la minéralisation de l'atrazine, traduite par une très forte augmentation de la vitesse du flux de minéralisation : la constante de vitesse de flux de  $^{14}C$  entre les compartiments "facilement extractible" et "minéralisé" passant de  $5,85.10^{-3} j^{-1}$  à  $0,04 j^{-1}$  de la première à la deuxième application, respec-

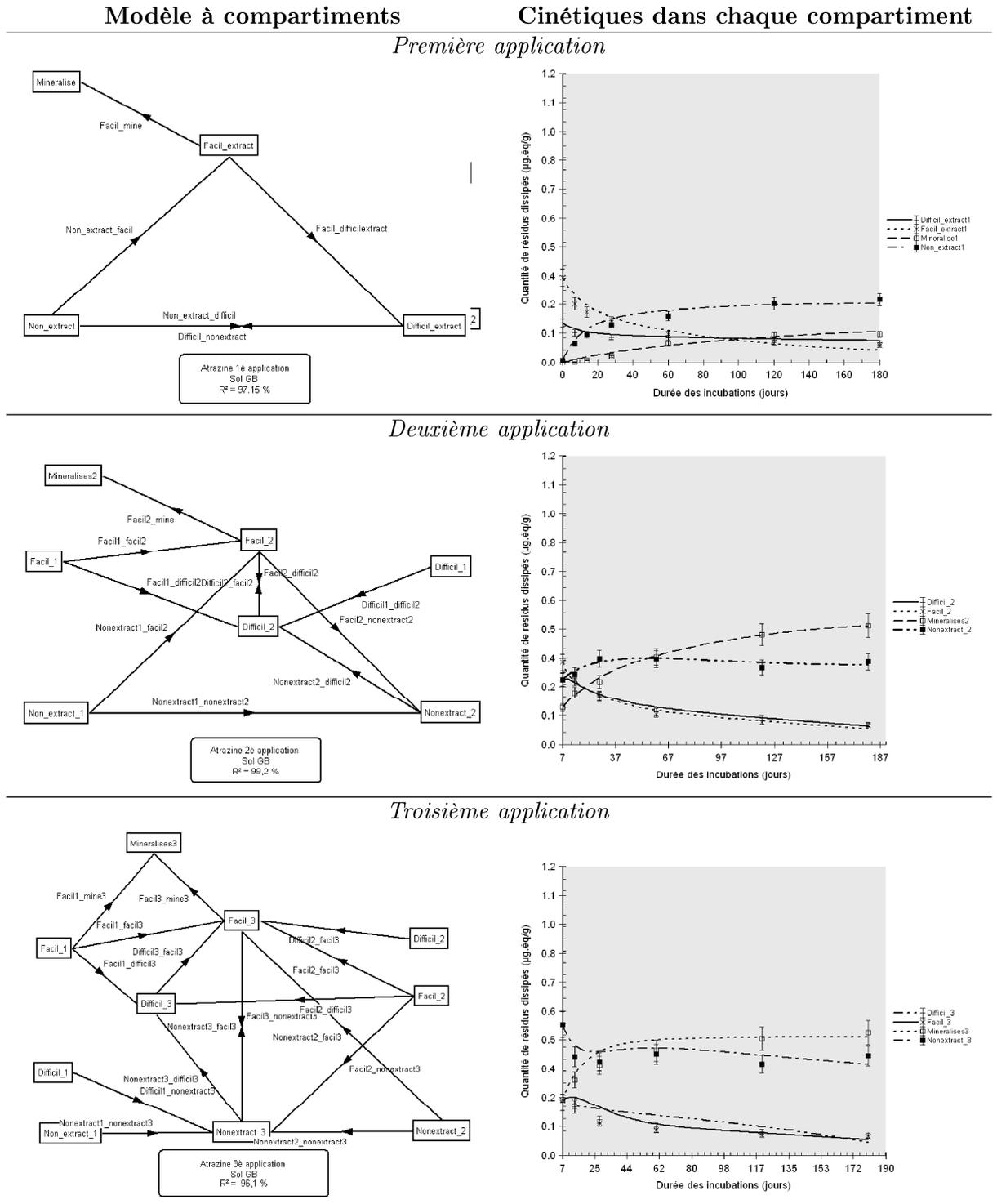
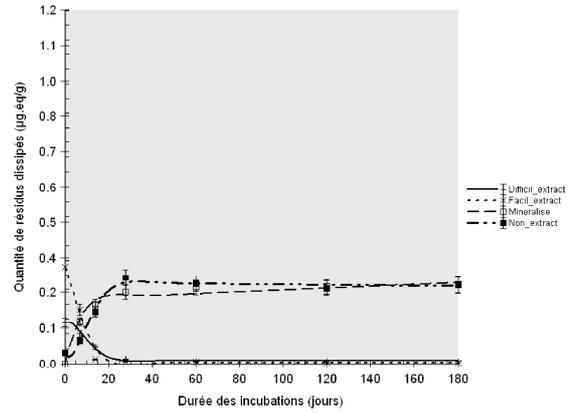
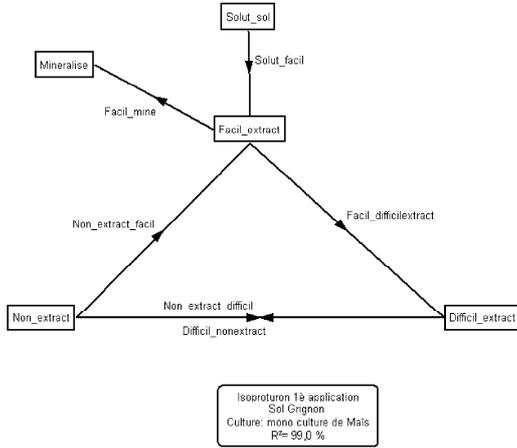


FIG. 5.4 – Modèles théoriques à compartiments décrivant la dynamique de l'atrazine lors des applications répétées dans le sol GB et ajustement aux données expérimentales.

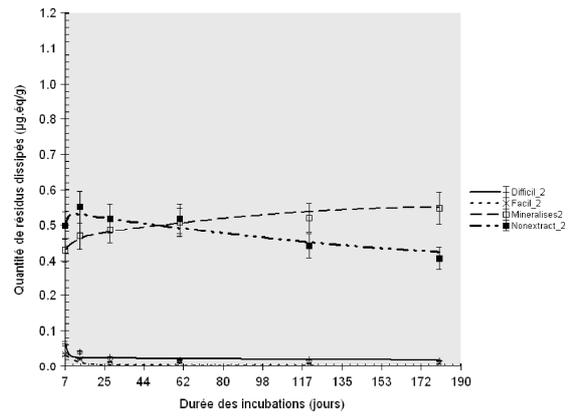
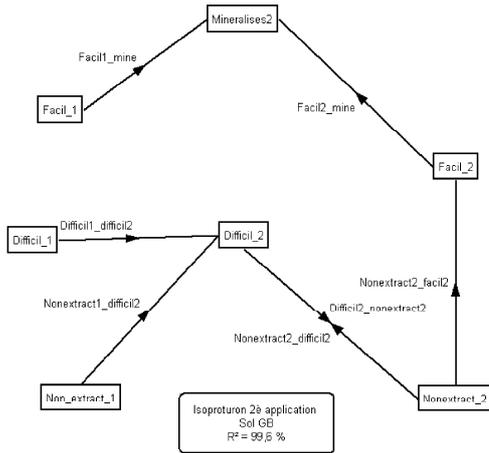
Modèle à compartiments

Cinétiques dans chaque compartiment

Première application



Deuxième application



Troisième application

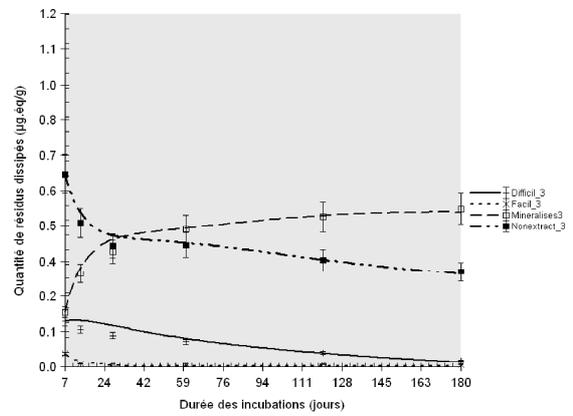
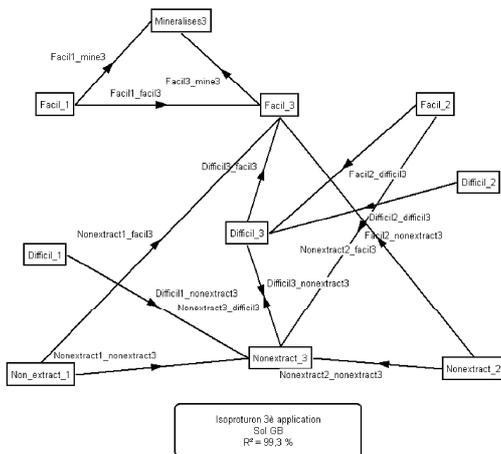


FIG. 5.5 – Modèles théoriques à compartiments décrivant la dynamique de l'isoproturon lors des applications répétées dans le sol GB et ajustement aux données expérimentales.

tivement (tab. 5.4). On observe que les résidus non extractibles de la deuxième application sont remobilisés puis libérés dans le compartiment "difficilement extractible-2" ( $k_{Nonext.2 \rightarrow Dif\ ext.2} = 0,02\ j^{-1}$ ). Ceci se traduit par une diminution de la taille du compartiment "non extractible-2" par rapport à celle du compartiment "non extractible-1" (fig. 5.4).

Dans le sol GB, la deuxième application d'isoproturon induit une augmentation des vitesses de minéralisation, avec, dans ce cas aussi, une accélération de la minéralisation des résidus facilement extractibles de la première application, se traduisant par une augmentation des constantes de flux de minéralisation, avec  $k_{Fac.1 \rightarrow Mine-2} = 0,30\ j^{-1}$  après la deuxième application et  $k_{Fac.1 \rightarrow Mine-1} = 0,09\ j^{-1}$  après la première application. D'autre part, d'après l'analyse compartimentale, il y a remobilisation des résidus du compartiment "non extractible-2" vers les compartiments "facilement extractible-2" ( $k_{Nonext.2 \rightarrow Fac\ ext.2} = 2,6 \cdot 10^{-3}\ j^{-1}$ ) et "difficilement extractibles-2" ( $k_{Nonext.2 \rightarrow Dif\ ext.2} = 0,04$ ), avec un équilibre déplacé vers la formation des résidus non extractibles. La minéralisation de ces résidus nécessite leur libération préalable sous la forme de résidus facilement extractibles (fig. 5.5).

La troisième application d'atrazine induit l'augmentation de la vitesse de flux de minéralisation des résidus d'atrazine facilement extractibles des applications précédentes. L'évolution du compartiment "non extractible-3" montre une remobilisation effective des résidus non extractibles relativement lente, mais progressive entre 60  $j$  et la fin des incubations (fig. 5.4).

En ce qui concerne l'isoproturon (fig. 5.5), la minéralisation se fait toujours à partir du compartiment "facilement extractible-3". Cette minéralisation des résidus d'isoproturon semble s'accélérer dans le sol GB après la troisième application, la constante du flux entre les compartiments "facilement extractible-3" et "minéralisé-3" passant de la deuxième à la troisième application de  $k_{Fac.2 \rightarrow Mine\ 2} = 0,20\ j^{-1}$  à  $k_{Fac.3 \rightarrow Mine\ 3} = 0,60\ j^{-1}$ , respectivement (tab. 5.4 et 5.5). D'après le modèle, les résidus non extractibles de la troisième application sont formés à partir de la transformation des résidus non extractibles formés après les première et deuxième applications, et par les résidus du compartiment "difficilement extractible-3". En revanche, leur remobilisation s'effectue vers le compartiment "difficilement extractible-3", les flux entre les deux compartiments étant caractérisés par un équilibre dont la constante ( $\frac{k_{Non\ ext.3/Dif\ ext.3}}{k_{Dif\ ext.3/Non\ ext.3}} = 0,9$ ) montre un déplacement des flux vers la formation des résidus non extractibles. À partir de 28  $j$  d'incubation, les

taux de résidus non extractibles diminuent régulièrement jusqu'à la fin des incubations, traduisant par ce comportement la libération des résidus non extractibles dont la vitesse augmente lors des applications répétées.

#### C4 - Dynamique de l'atrazine et de l'isoproturon dans le sol NB (sol brun acide non adapté à la dégradation de l'atrazine)

L'application de la modélisation au sol NB a permis de retenir les modèles présentés dans les figures 5.6 et 5.7 après les trois applications successives d'atrazine et d'isoproturon. Lors de la première application de l'atrazine dans la sol NB, les résidus facilement extractibles alimentent à la fois les compartiments "difficilement extractible" ( $k_{Fac. \rightarrow Dif. ext.} = 0,15 j^{-1}$ ) et "non extractible" ( $k_{Fac. ext. \rightarrow Non ext.} = 0,05 j^{-1}$ ). Le diagramme des flux montre une remobilisation des résidus du compartiment "non extractible", libérés sous forme de résidus difficilement extractibles, avec une constante de flux  $k_{Non ext. \rightarrow Dif. ext.} = 0,03 j^{-1}$  (tab. 5.3). Mais il y a accumulation des résidus dans le compartiment "non extractible", il n'y a pas de diminution de la taille du compartiment "non extractible" avec le temps.

Avec l'isoproturon (fig. 5.7), la minéralisation est toujours assurée par le compartiment "facilement extractible" avec une constante de flux  $k_{Fac. \rightarrow Mine} = 0,04 j^{-1}$ , comparable au flux de minéralisation des résidus facilement extractibles du sol GM (tab. 5.3). Toutefois, les résidus hydrosolubles sont soumis à une compétition entre la minéralisation et la transformation sous forme de résidus non extractibles : la constante de vitesse de flux vers des résidus non extractibles étant plus élevée ( $k_{Fac. ext \rightarrow Non ext.} = 0,33 j^{-1}$ ) et entraînant une augmentation plus rapide de la taille du compartiment "non extractible". Le diagramme des flux montre une libération des résidus non extractibles vers les compartiments "facilement extractible" et "difficilement extractible", mais avec des flux faibles ( $3,13 \cdot 10^{-3}$  et  $1,48 \cdot 10^{-3} j^{-1}$ , respectivement). Ceci est traduit dans la cinétique de stabilisation des résidus d'isoproturon par une augmentation rapide des taux de résidus non extractibles durant les 28 premiers jours, suivie d'un ralentissement entre 28 et 60  $j$  et d'une diminution faible mais régulière jusqu'à la fin des incubations (fig. 5.7).

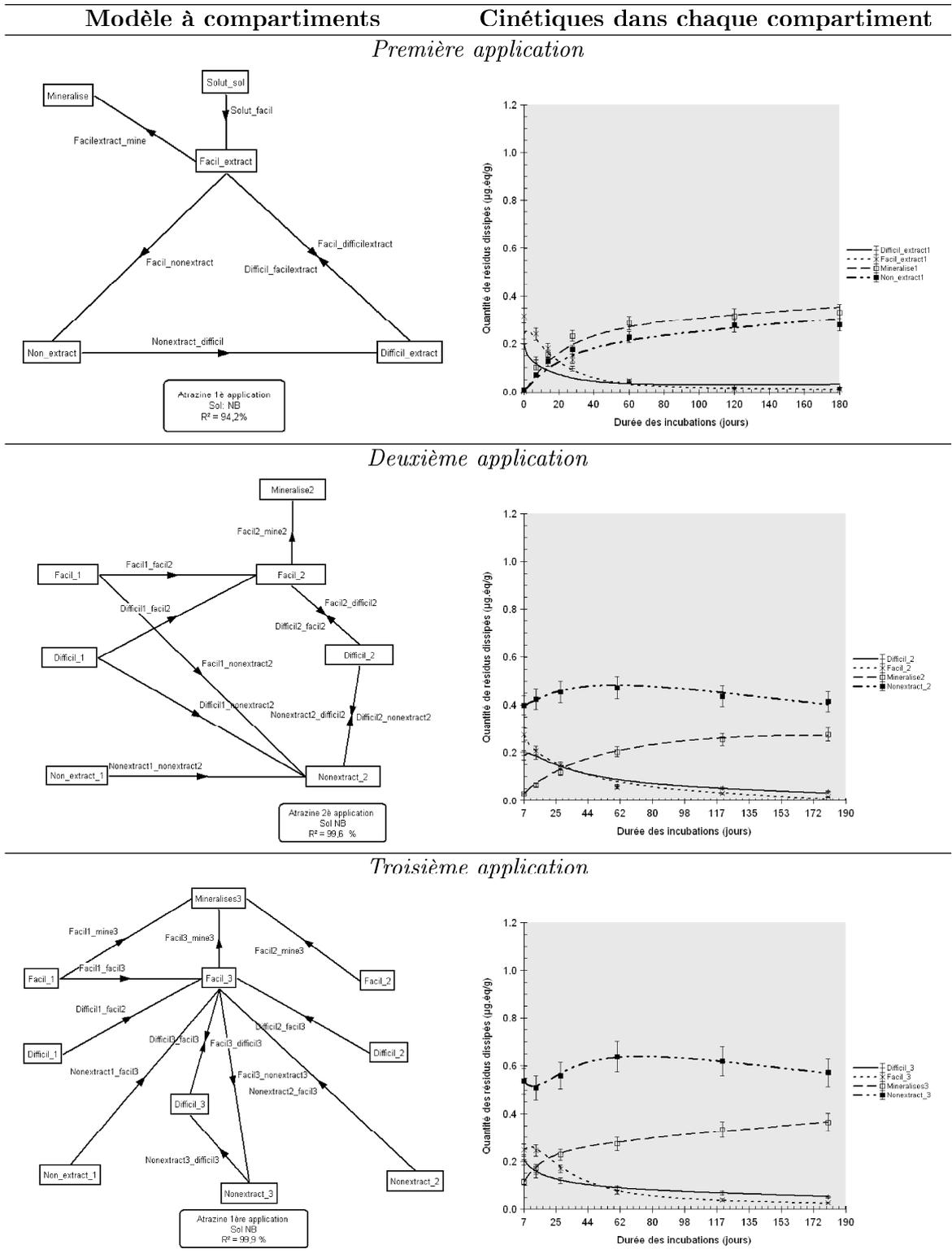


FIG. 5.6 – Modèles théoriques à compartiments décrivant la dynamique de l'atrazine lors des applications répétées dans le sol NB et ajustement aux données expérimentales.

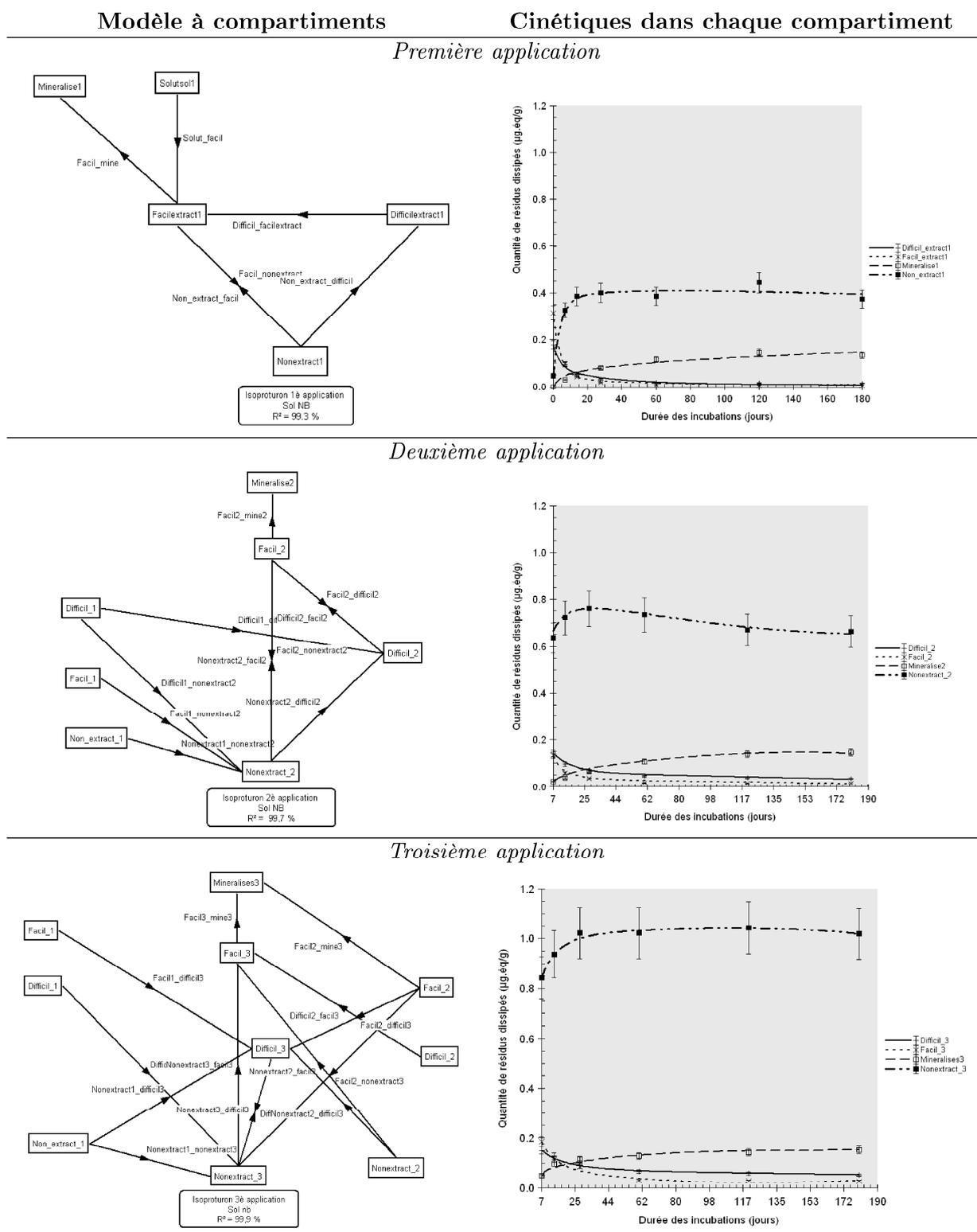


FIG. 5.7 – Modèles théoriques à compartiments décrivant la dynamique de l'isoproteron lors des applications répétées dans le sol NB et ajustement aux données expérimentales.

TAB. 5.3 – Paramètres d'évolution des résidus d'atrazine et d'isoproturon dans les trois sols en conditions contrôlées de laboratoire après la 1<sup>re</sup> application (les constantes de flux  $k_{i \rightarrow j}$  sont en  $j^{-1}$ , les demi-vie  $DT_{50}$  sont en jours).

Paramètres	Sol GM		Sol GB		sol NB	
	ATRA	IPU	ATRA	IPU	ATRA	IPU
<b>Constantes de dissipation dans la matrice de sol</b>						
$k_{Pest \rightarrow sol}$	-	$0,81.10^{-3}$	-	$0,50.10^{-3}$	$3,5.10^{-3}$	$0,18.10^{-3}$
$DT_{50}$	-	856	-	1386	1980	3851
<b>Constantes de Minéralisation</b>						
$k_{Fac \rightarrow mine}$	0,29	0,04	$5,85.10^{-3}$	0,09	0,04	0,04
$DT_{50}$	2,4	17	1185	8	17	17
<b>Constantes de perte de disponibilité</b>						
$k_{Fac \rightarrow dif}$	-	$2,12.10^{-3}$	0,02	0,15	0,15	-
<b>Constantes de regain de disponibilité</b>						
$k_{Dif \rightarrow fac}$	-	0,25	-	-	0,39	0,13
<b>Constantes de stabilisation sous forme de résidus liés</b>						
$k_{Fac \rightarrow nonext}$	0,08	0,32	-	-	0,05	0,33
$k_{Dif \rightarrow nonext}$	0,20	-	0,24	0,68	0,30	-
<b>Constantes de rémobilité des résidus liés</b>						
$k_{Nonext \rightarrow fac}$	0,06	-	0,05	0,013	-	$3,13.10^{-3}$
$DT_{50}$	12	-	14	53	-	221,4
$k_{Nonext \rightarrow dif}$	0,03	$2,02.10^{-3}$	0,02	0,011	0,03	$1,48.10^{-3}$
$DT_{50}$	23	343	35	63	23	468

Lors de la deuxième application d'atrazine, les constantes de flux  $k_{Fac. ext.2 \rightarrow Mine.2} = 0,03 j^{-1}$  et  $k_{Fac. ext.2 \rightarrow Dif.ext.2} = 0,17 j^{-1}$ ) indiquent que les processus de minéralisation sont plus lents que la formation de résidus difficilement extractibles. Par ailleurs, la deuxième application fait diminuer la vitesse des flux entre les compartiments "facilement extractible" et "non extractible". En revanche, on observe une augmentation de la taille du compartiment "facilement extractible-2" à partir des résidus non extractibles de la deuxième application, traduisant une libération des résidus non extractibles. Le compartiment "non extractible-2" augmente durant les 40  $j$  qui suivent la deuxième application d'atrazine, puis la taille de ce compartiment diminue régulièrement jusqu'à la fin des incubations avec une constante de flux  $k_{Non. ext.2 \rightarrow Dif.ext.2} = 0,02 j^{-1}$  (tab. 5.4).

Après la deuxième application d'isoproturon, la minéralisation s'effectue avec une constante  $k_{Fac ext.2 \rightarrow Mine.2} = 0,04 j^{-1}$ ; les résidus "facilement extractible-2" se dégradent dans les compartiments "difficilement extractible-2" et "non extractible-2" La vitesse du flux des résidus du compartiment "facilement extractibles-2" vers le compartiment "non extractible-2" est plus éle-

TAB. 5.4 – Paramètres d'évolution des résidus d'atrazine et d'isoproturon dans les trois sols en conditions contrôlées de laboratoire après la 2<sup>e</sup> application (les constantes de flux  $k_{i \rightarrow j}$  sont en  $j^{-1}$ , les demi-vie  $DT_{50}$  sont en jours).

Paramètres	Sol GM		Sol GB		sol NB	
	ATRA	IPU	ATRA	IPU	ATRA	IPU
<b>Constantes de dissipation dans la matrice de sol</b>						
$k_{Pest \rightarrow sol}$	-	$1,33 \cdot 10^{-3}$	-	-	-	-
$DT_{50}$	-	521	-	-	-	-
<b>Constante de minéralisation</b>						
$k_{Fac.ext.1 \rightarrow mine.2}$	0,82	-	-	0,28	-	-
$DT_{50}$	1	-	-	-	-	-
$k_{Fac.ext.2 \rightarrow mine.2}$	0,24	0,05	0,04	0,18	0,03	0,04
$DT_{50}$	3	14	17	4	23,1	17,3
<b>Constantes de perte de disponibilité</b>						
$k_{Fac.ext.1 \rightarrow fac.ext.2}$	-	-	0,05	-	0,10	-
$k_{Fac.ext.1 \rightarrow dif.ext.2}$	-	0,14	0,03	-	-	-
$k_{Fac.ext.2 \rightarrow dif.ext.2}$	0,47	0,04	0,20	-	0,17	0,04
<b>Constantes de regain de disponibilité</b>						
$k_{Dif.ext.1 \rightarrow fac.ext.2}$	-	0,06	-	-	0,02	-
$k_{Dif.ext.1 \rightarrow dif.ext.2}$	0,07	-	0,11	0,01	-	$2,80 \cdot 10^{-3}$
$k_{Dif.ext.2 \rightarrow fac.ext.2}$	0,09	-	0,28	-	0,16	0,14
<b>Constantes de stabilisation sous forme de résidus liés</b>						
$k_{Fac.ext.1 \rightarrow non ext.2}$	-	-	-	-	$9,32 \cdot 10^{-3}$	0,13
$k_{Dif.ext.1 \rightarrow non ext.2}$	0,07	-	-	-	0,02	$0,34 \cdot 10^{-3}$
$k_{Non ext.1 \rightarrow non ext.2}$	-	-	0,01	-	$6,56 \cdot 10^{-3}$	$2,26 \cdot 10^{-3}$
$k_{Fac.ext.2 \rightarrow non ext.2}$	0,38	-	0,05	-	-	0,19
$k_{Dif.ext.2 \rightarrow non ext.2}$	0,24	0,12	-	0,69	0,06	-
<b>Constantes de rémobilitation des résidus liés</b>						
$k_{Non ext.1 \rightarrow dif.ext.2}$	-	$0,12 \cdot 10^{-3}$	-	$1,60 \cdot 10^{-3}$	-	-
$DT_{50}$	-	5776	-	433	-	-
$k_{Non ext.1 \rightarrow fac.ext.2}$	0,19	$0,19 \cdot 10^{-3}$	0,01	-	-	-
$DT_{50}$	2,4	3648,1	69	-	-	-
$k_{Non ext.2 \rightarrow fac.ext.2}$	$6,43 \cdot 10^{-3}$	$4,85 \cdot 10^{-3}$	-	$2,60 \cdot 10^{-3}$	-	$2,03 \cdot 10^{-3}$
$DT_{50}$	108	143	-	267	-	341,5
$k_{Non ext.2 \rightarrow dif.ext.2}$	0,02	$2,47 \cdot 10^{-3}$	0,02	0,04	0,02	$7,57 \cdot 10^{-3}$
$DT_{50}$	35	281	35	17	35	92

TAB. 5.5 – Paramètres d'évolution des résidus d'atrazine et d'isoproturon dans les trois sols en conditions contrôlées de laboratoire après la 3<sup>e</sup> application (les constantes de flux  $k_{i \rightarrow j}$  sont en  $j^{-1}$ , les demi-vie  $DT_{50}$  sont en jours).

Paramètres	Sol GM		Sol GB		sol NB	
	ATRA	IPU	ATRA	IPU	ATRA	IPU
<b>Constantes de dissipation</b>						
$k_{Pest \rightarrow sol}$	-	$0,12 \cdot 10^{-3}$	-	-	-	-
$DT_{50}$	-	578	-	-	-	-
<b>Constantes de minéralisation</b>						
$k_{Fac.ext.1 \rightarrow mine.3}$	-	1,06	0,23	0,12	0,76	-
$DT_{50}$	-	1	3	6	1	-
$k_{Fac.ext.2 \rightarrow mine.3}$	0,05	-	-	-	0,01	0,68
$DT_{50}$	14	-	-	-	-	-
$k_{Fac.ext.3 \rightarrow mine.3}$	0,96	0,06	$8,80 \cdot 10^{-3}$	0,60	$3,16 \cdot 10^{-3}$	0,02
$DT_{50}$	1	12	79	1	219	35
<b>Constantes de perte de disponibilité</b>						
$k_{Fac.ext.1 \rightarrow fac.ext.3}$	0,09	-	0,13	0,07	0,32	-
$k_{Fac.ext.1 \rightarrow dif.ext.3}$	0,60	-	0,01	-	-	$1,41 \cdot 10^{-3}$
$k_{Fac.ext.2 \rightarrow fac.ext.3}$	-	0,01	$8,25 \cdot 10^{-3}$	-	-	-
$k_{Fac.ext.2 \rightarrow dif.ext.3}$	0,13	0,03	$0,14 \cdot 10^{-3}$	0,07	-	0,05
$k_{Fac.ext.3 \rightarrow dif.ext.3}$	-	-	-	-	0,03	-
<b>Constantes de regain de disponibilité</b>						
$k_{Dif.ext.1 \rightarrow fac.ext.3}$	$1,35 \cdot 10^{-3}$	0,38	-	-	$9,38 \cdot 10^{-3}$	-
$k_{Dif.ext.1 \rightarrow dif.ext.3}$	-	0,28	-	-	-	-
$k_{Dif.ext.2 \rightarrow fac.ext.3}$	0,09	-	$6,55 \cdot 10^{-3}$	-	$9,49 \cdot 10^{-3}$	0,02
$k_{Dif.ext.2 \rightarrow dif.ext.3}$	0,02	0,04	-	$4,70 \cdot 10^{-3}$	-	-
$k_{Dif.ext.3 \rightarrow fac.ext.3}$	-	-	$1,32 \cdot 10^{-3}$	$1,08 \cdot 10^{-3}$	0,21	-

TAB. 5.6 – Paramètres d'évolution des résidus d'atrazine et d'isoproturon dans les trois sols en conditions contrôlées de laboratoire après la 3<sup>e</sup> application (les constantes de flux  $k_{i \rightarrow j}$  sont en  $j^{-1}$ , les demi-vie  $DT_{50}$  sont en jours).

Paramètres	Sol GM		Sol GB		sol NB	
	ATRA	IPU	ATRA	IPU	ATRA	IPU
<b>Constante de stabilisation sous forme de résidus liés</b>						
$k_{Fac.ext.1 \rightarrow non\ ext.3}$	0,07	-	-	-	-	-
$k_{Dif.ext.1 \rightarrow non\ ext.3}$	0,01	-	0,01	0,01	-	1,02
$k_{Non\ ext.1 \rightarrow non\ ext.3}$	-	-	$4,74 \cdot 10^{-3}$	0,02	-	$6,04 \cdot 10^{-3}$
$k_{Fac.ext.2 \rightarrow non\ ext.3}$	0,54	0,02	$2,13 \cdot 10^{-3}$	$0,51 \cdot 10^{-3}$	-	0,15
$k_{Dif.ext.2 \rightarrow non\ ext.3}$	0,04	-	-	-	-	-
$k_{Non\ ext.2 \rightarrow non\ ext.3}$	0,02	-	$0,84 \cdot 10^{-3}$	0,02	-	-
$k_{Fac.ext.3 \rightarrow non\ ext.3}$	0,86	0,22	0,06	-	0,09	-
$k_{Dif.ext.3 \rightarrow non\ ext.3}$	$7,10 \cdot 10^{-3}$	0,13	-	0,05	-	0,04
<b>Constante de rémobilitation des résidus liés</b>						
$k_{Non\ ext.1 \rightarrow fac.ext.3}$	0,68	$6,60 \cdot 10^{-3}$	-	$2,43 \cdot 10^{-3}$	$9,00 \cdot 10^{-3}$	-
$DT_{50}$	1	105	-	285,2	77	-
$k_{Non\ ext.1 \rightarrow dif.ext.3}$	-	-	-	-	-	$2,31 \cdot 10^{-3}$
$DT_{50}$	-	-	-	-	-	300
$k_{Non\ ext.2 \rightarrow fac.ext.3}$	-	$3,10 \cdot 10^{-3}$	$0,41 \cdot 10^{-3}$	$1,90 \cdot 10^{-3}$	$7,41 \cdot 10^{-3}$	$0,80 \cdot 10^{-3}$
$DT_{50}$	-	224	1691	365	94	866,4
$k_{Non\ ext.2 \rightarrow dif.ext.3}$	0,02	-	-	-	-	$2,73 \cdot 10^{-3}$
$DT_{50}$	35	-	-	-	-	254
$k_{Non\ ext.3 \rightarrow fac.ext.3}$	$8,67 \cdot 10^{-3}$	$8,70 \cdot 10^{-3}$	0,02	-	-	$1,30 \cdot 10^{-3}$
$DT_{50}$	80	80	35	-	-	533,2
$k_{Non\ ext.3 \rightarrow dif.ext.3}$	-	0,02	$2,56 \cdot 10^{-3}$	0,05	0,02	$0,45 \cdot 10^{-3}$
$DT_{50}$	-	35	271	14	35	1540,3

vée ( $k_{Fac\ ext.2 \rightarrow Non\ ext.2} = 0,19\ j^{-1}$ ), indiquant que les résidus non extractibles se forment plus rapidement que les résidus difficilement extractibles ou minéralisés. Une diminution de la concentration des résidus non extractibles est observée avec le temps, entre 28  $j$  et la fin des incubations. Cette diminution serait due à la remobilisation des résidus non extractibles vers les compartiments "facilement extractible-2" ( $k_{Non\ ext.-2 \rightarrow Fac\ ext.-2} = 2,03.10^{-3}\ j^{-1}$ ) et "difficilement extractible-2" ( $k_{Non\ ext.-2 \rightarrow Dif\ ext.2} = 7,57.10^{-3}\ j^{-1}$ ).

Lors de la troisième application d'atrazine, la minéralisation des résidus facilement extractibles, après la troisième application, est très faible ( $k_{Fac\ 3 \rightarrow Mine\ 3} = 3,16.10^{-3}j^{-1}$ ). D'autre part, l'analyse compartimentale montre une libération des résidus du compartiment "non extractible-3" et leur transformation sous forme de résidus difficilement extractibles, avec une constante de flux élevée ( $k_{Nonext.\ 3 \rightarrow Dif\ ext.3} = 0,02\ j^{-1}$ , tab. 5.6). On observe ainsi une diminution de la taille du compartiment "non extractible-3" entre 44  $j$  et la fin des incubations (fig. 5.6). Parallèlement, il y a induction de la remobilisation des résidus non extractibles de la deuxième application vers le compartiments "facilement extractible-3" ( $k_{Nonext.\ 2 \rightarrow Fac\ ext.3} = 7,41.10^{-3}\ j^{-1}$ ).

Lors de la troisième application de l'isoproturon, la taille du compartiment "minéralisé", restée au même niveau qu'après la deuxième application, est assurée par les résidus facilement extractibles formés de la deuxième application ( $k_{Fac\ ext.2 \rightarrow Mine\ 3} = 0,68\ j^{-1}$ ). Le diagramme de flux montre que la troisième application induit la remobilisation des résidus non extractibles des première et deuxième applications, les résidus du compartiment "non extractible-1" étant transférés dans le compartiment "difficilement extractible-3" ( $k_{Non\ ext.\ 1 \rightarrow Dif\ ext.3} = 2,31.10^{-3}\ j^{-1}$ ) et ceux du compartiment "non extractible-2" l'étant dans les compartiments "facilement extractible-3" ( $k_{Non\ ext.\ 2 \rightarrow Fac\ ext.\ 3} = 0,80.10^{-3}\ j^{-1}$ ) et "difficilement extractible-3" ( $k_{Non\ ext.\ 2 \rightarrow Dif\ ext.3} = 2,73.10^{-3}j^{-1}$ ). On observe également une remobilisation des résidus du compartiment "non extractibles-3" vers les compartiments "facilement extractible-3" et "difficilement extractible-3", les constantes de flux étant respectivement  $k_{Non\ ext.3 \rightarrow Fac\ ext.3} = 1,30.10^{-3}\ j^{-1}$  et  $k_{Non\ ext.3 \rightarrow Dif\ ext.3} = 0,45.10^{-3}\ j^{-1}$  (tab. 5.6). La cinétique qui décrit l'évolution de la concentration des résidus non extractibles formés après la troisième application montre une augmentation de la taille du compartiment "non extractible-3" par rapport à la taille atteinte après la deuxième application ("non extractible-2"). Néanmoins, on observe une très faible diminution de la taille du compartiment "non extractible-3" à partir de 120  $j$  d'incubation, suggérant

une remobilisation effective, mais faible des résidus non extractibles avec le temps.

## **C5 - Modélisation de la dynamique de $^{14}\text{C}$ -atrazine dans les colonnes des sols en conditions de plein champ**

L'analyse compartimentale de la dissipation de la  $^{14}\text{C}$ -atrazine en conditions de plein champ a été réalisée à partir de la description des données obtenues pendant 12 mois après une seule application d'atrazine dans les micro-lysimètres des sols GM, GB et NB installés sur les deux sites d'expérimentation, à Grignon et à Nancy.

### **1 - Flux de dissipation de la $^{14}\text{C}$ -atrazine dans l'horizon labouré des sols :**

Pour l'élaboration du modèle, nous avons conservé le même nombre de couches de sol correspondant au nombre de couches expérimentales retenues et analysées précédemment, à savoir, 0–5, 5–10, 10–15 et 15–20 *cm*, de même que la couche 20–25 *cm* correspondant à l'horizon tassé provenant de la semelle de labour. Quatre hypothèses ont été testées (fig. 5.8). Le choix du modèle à compartiments adéquat a été fait :

- en éliminant les flux autocorrélés issus de la modélisation d'un sol, la matrice de corrélation, obtenue lors de l'analyse compartimentale mettant en évidence ces flux, permettant leur élimination ;
- en prenant en compte la valeur du critère de convergence  $\chi^2$  : plus  $\chi^2$  est proche de 0, moins il y a des corrélations entre les flux  $k_{i \rightarrow j}$  reliant différents compartiments ; et plus le coefficient de régression  $r^2$  est élevé, traduisant ainsi de meilleurs ajustements ;
- en prenant en compte la valeur du coefficient de régression  $r^2$ , les cinétiques expérimentales étant correctement ajustées au modèle lorsque  $r^2 \approx 100$ . Ce paramètre traduit la performance du modèle.

Le modèle à compartiments décrit par la 4<sup>e</sup> hypothèse (fig. 5.8) s'est avéré le plus pertinent, car il respecte les conditions d'adéquation énumérées plus haut et rend mieux compte de l'évolution du pesticide dans le sol. Ce modèle conserve, pour chaque couche du lysimètre de sol, la structure des compartiments utilisée dans la partie précédente pour la description des données

obtenues en conditions contrôlées de laboratoire. Chaque compartiment est relié à d'autres compartiments de la même couche ou de la couche située immédiatement en dessous, les connexions se faisant au travers des flux de  $^{14}C$  entre les compartiments. Les résidus de la couche de surface peuvent être transportés en profondeur et, par la suite, subir dans les couches inférieures des transformations caractérisées par le passage des résidus de  $^{14}C$  d'un compartiment à un autre.

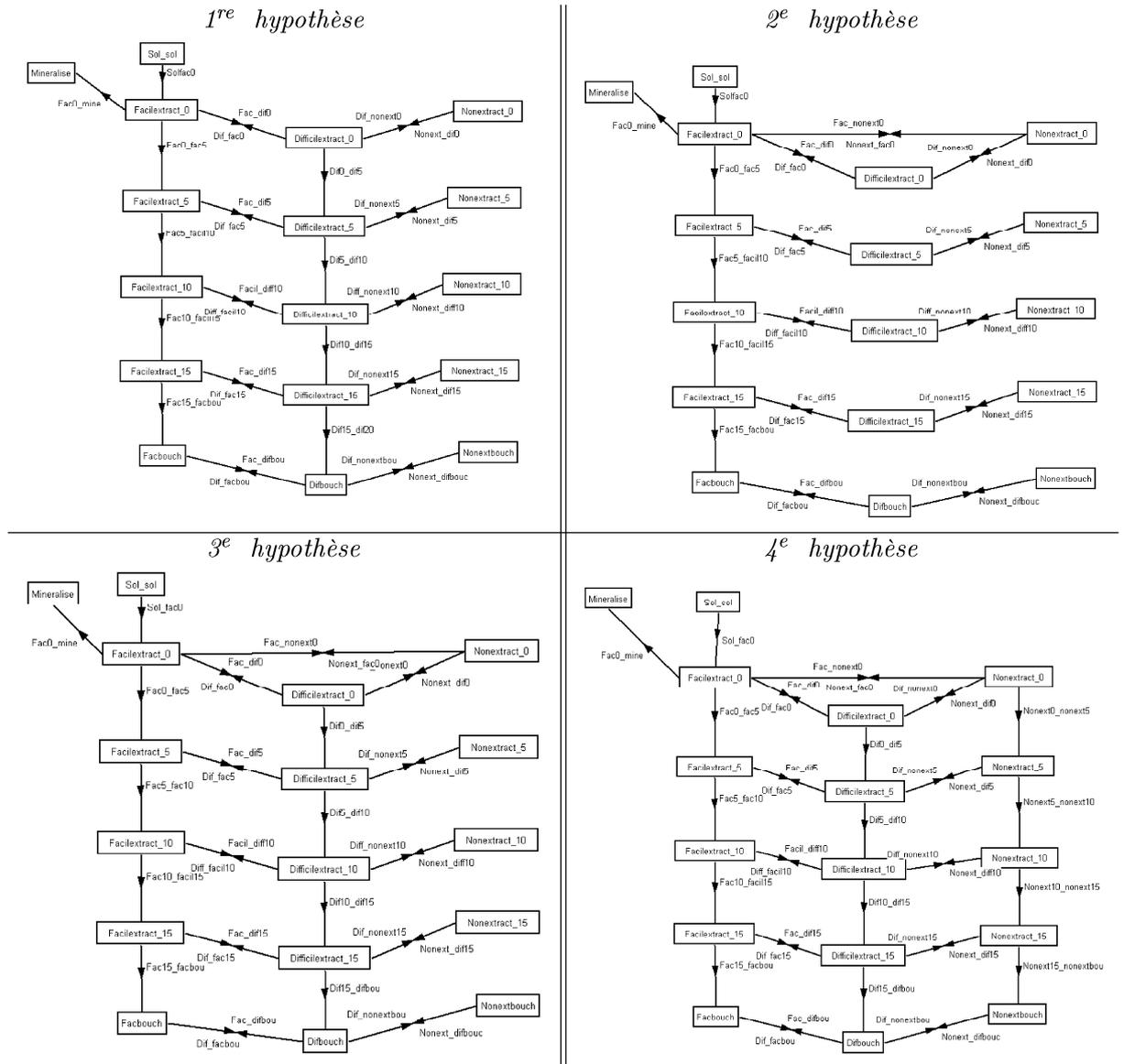


FIG. 5.8 – Structure des hypothèses pour réaliser les modèles à compartiments pour la description de la dynamique des pesticides dans l'horizon labouré simulé par les lysimètres de sols. Identification des compartiments et définition des flux (voies de dissipation).

Le modèle a été ajusté aux données expérimentales selon une démarche progressive, en ne retenant que les flux ayant des constantes de vitesse les plus significatives, sans forçage du système sur des flux prédéterminés. En comparaison au jeu des données obtenu au cours des expérimentations en conditions contrôlées de laboratoire, on ne dispose pas de cinétiques de minéralisation en raison de la conception du dispositif ne permettant pas la récupération du  $^{14}\text{C} - \text{CO}_2$ . Dans le modèle, la minéralisation est supposée être assurée par le compartiment facilement extractible de la couche de surface.

## **2 - Dynamique des résidus de $^{14}\text{C}$ -atrazine dans les compartiments des couches des sols en conditions de plein champ :**

Les figures 5.9, 5.11, 5.13 et 5.15 présentent les flux retenus, après avoir négligé ceux qui avaient des constantes très faibles. Ces flux caractérisent les échanges entre les compartiments d'une même couche ou entre les compartiments des couches contiguës des lysimètres de sols. Les résultats des ajustements aux cinétiques représentant l'évolution des résidus d'atrazine à l'intérieur des compartiments des couches des lysimètres sont représentées dans les figures 5.10, 5.12, 5.14 et 5.16. Les échanges entre compartiments d'une même couche sont caractérisés par des constantes  $k_{i \rightarrow j}$  (i et j étant les compartiments); alors que entre deux couches contiguës, les échanges sont caractérisés par des constantes spécifiques de transfert notées  $k_{X \rightarrow Y}$  (X et Y étant des couches contiguës). Les constantes  $k_{i \rightarrow j}$  et  $k_{X \rightarrow Y}$  traduisent, pour les résidus extractibles d'atrazine, la baisse de disponibilité, la dégradation ou la stabilisation sous forme de résidus non extractibles; et pour les résidus non extractibles, la remobilisation vers les compartiments "facilement extractible" ou "difficilement extractible". Aucun flux n'est exclu à priori. Les valeurs des constantes estimées par ajustement aux données expérimentales sont données dans les tableaux 5.8 à 5.10 pour les micro-lysimètres des sols installés aussi bien à Grignon qu'à Nancy.

### **2<sub>1</sub> – Dynamique du $^{14}\text{C}$ dans les micro-lysimètres des sols GM et GB installés à Grignon**

Le modèle optimisé et les ajustements correspondants sont présentés dans les figures 5.9 et 5.10. Au regard des flux effectifs de  $^{14}\text{C}$ -atrazine circulant entre les compartiments du sol GM (fig. 5.9), dans la couche 0 – 5 cm, il y a une compétition des flux à partir du compartiment "facilement extractible 0-5" vers les compartiments "minéralisé" et "non extractible "0 – 5" ou un transfert en profondeur dans le compartiment "facilement extractible 5-10" de la couche

sous-jacente. Avec une constante de flux  $k_{Fac.ext.0-5 \rightarrow mine} = 7,5.10^{-2} j^{-1}$  (tab. 5.8), la minéralisation est la plus rapide; alors que la constante vers les résidus non extractibles est la moins élevée ( $k_{Fac. 0-5 \rightarrow non.ext.0-5} = 0,10.10^{-2} j^{-1}$ ). Le transport en profondeur des résidus facilement extractibles de la couche de surface se fait aussi avec une constante de flux relativement faible ( $k_{Fac.ext. 0-5 \rightarrow fac.ext.5-10} = 0,32.10^{-2} j^{-1}$ ). Ceci s'explique en raison de l'existence, dans le sol GM, d'une population microbienne adaptée à la dégradation de l'atrazine. En effet, au cours des expérimentations en conditions contrôlées de laboratoire, 68% de la radioactivité appliquée a été minéralisée 180  $j$  après une application d'atrazine. Les résidus non extractibles formés dans la couche 0 – 5 cm se remobilisent en redevenant lentement facilement extractibles ( $k_{Non ext \rightarrow fac.0-5} = 0,21.10^{-2} j^{-1}$  (l'équilibre entre les deux compartiments est déplacé vers la formation des résidus non extractibles) et difficilement extractibles ( $k_{Non ext. \rightarrow dif. 0-5} = 0,43.10^{-2} j^{-1}$ ). Ainsi, les résidus facilement extractibles de la couche de surface jouent un rôle central dans la régulation des flux dans les autres compartiments des couches plus profondes. En effet, la régulation des flux de résidus d'atrazine des couches inférieures du microlysimètre de sol GM est assurée principalement par le compartiment "facilement extractible 0-5".

Dans la couche 5 – 10 cm, les résidus facilement extractibles proviennent du compartiment "facilement extractible 0-5", mais aussi du compartiment "difficilement extractibles 5-10" ( $k_{Dif.ext.5-10 \rightarrow fac.ext.5-10} = 0,2.10^{-3} j^{-1}$ ); celui-ci alimentant également, mais plus rapidement, le compartiment "non extractible 5-10" ( $k_{Dif.ext.5-10 \rightarrow non.ext.5-10} = 2,3.10^{-2} j^{-1}$ ). Les résidus non extractibles ainsi formés sont remobilisés ( $k_{Non.ext.5-10 \rightarrow dif.ext.5-10} = 0,23.10^{-2} j^{-1}$ ). Dans les couches 10 – 15 à 20 – 25 cm, tous les résidus difficilement extractibles proviennent de la dégradation de résidus facilement extractibles issus d'une même couche; les résidus non extractibles provenant, soit de la dégradation des résidus difficilement extractibles d'une même couche de sol (cas des couches 10 – 15 et 15 – 20 cm), soit d'une remobilisation suivie d'une stabilisation vers les couches plus profondes, les flux de remobilisation augmentant avec la profondeur ( $k_{Non.ext.10-15 \rightarrow non.ext.15-20} = 1,70 .10^{-2} j^{-1}$ , dans la couche 15 – 20 cm, et  $k_{Non.ext.15-20 \rightarrow non.ext.20-25} = 5,20.10^{-2} j^{-1}$  dans la couche 20 – 25 cm, tableau 5.7).

L'analyse compartimentale du devenir de l'atrazine dans le sol GB a donné le modèle optimisé et les ajustements correspondants, représentés dans les figures 5.11 et 5.12. La dynamique des résidus de  $^{14}C$ -atrazine et leur transfert dans les couches profondes du sol GB semble être

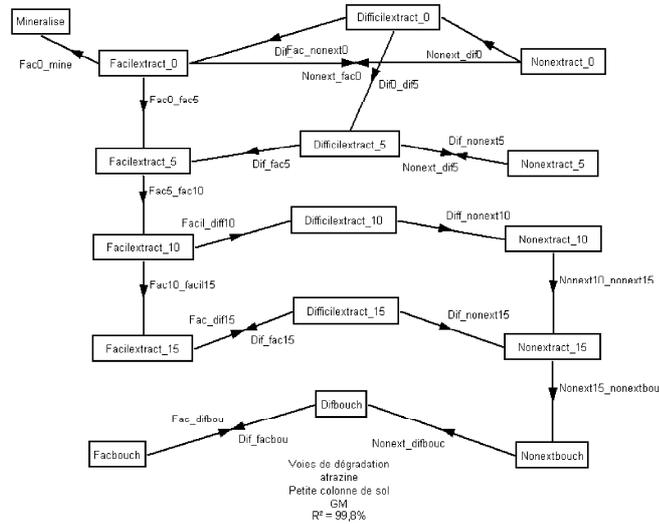


FIG. 5.9 – Flux effectifs (non négligeables) entre les compartiments du modèle décrivant la dynamique de l'atrazine dans les couches de l'horizon de labour des micro-lysimètres du sol GM installés à Grignon.

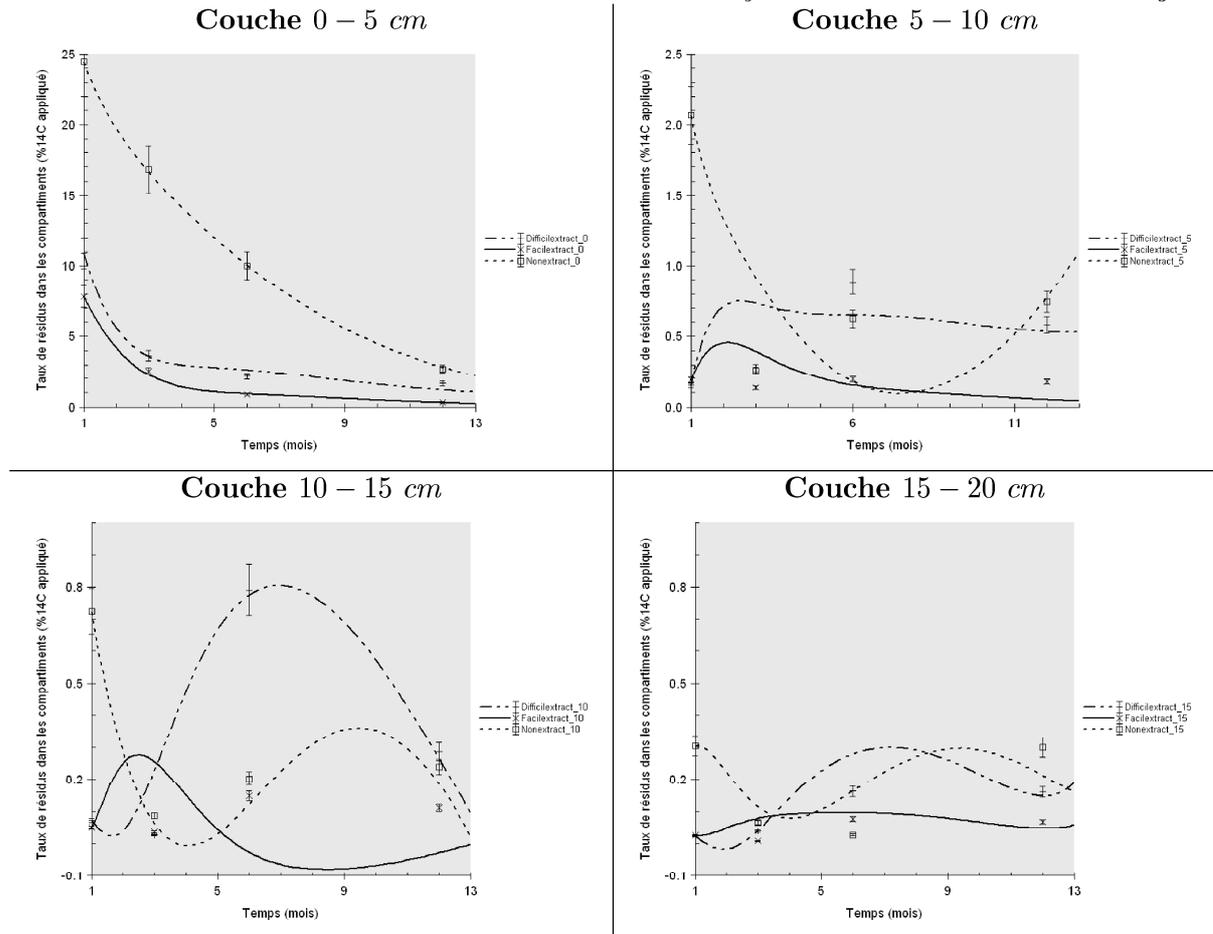


FIG. 5.10 – Résultats des ajustement du modèle à compartiments pour l'estimation des paramètres décrivant l'évolution de la dynamique des résidus d'atrazine dans les micro-lysimètres du sol GM installés à Grignon pendant 12 mois après la 1<sup>re</sup> application.

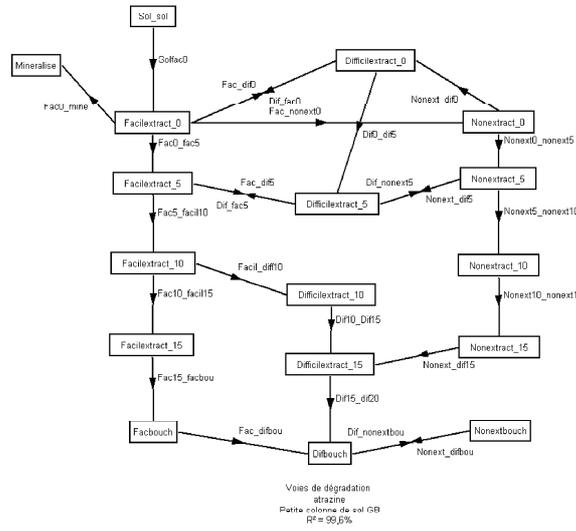


FIG. 5.11 – Flux effectifs (non négligeables) entre les compartiments du modèle décrivant la dynamique de l'atrazine dans les couches de l'horizon de labour des micro-lysimètres du sol GB installés à Grignon.

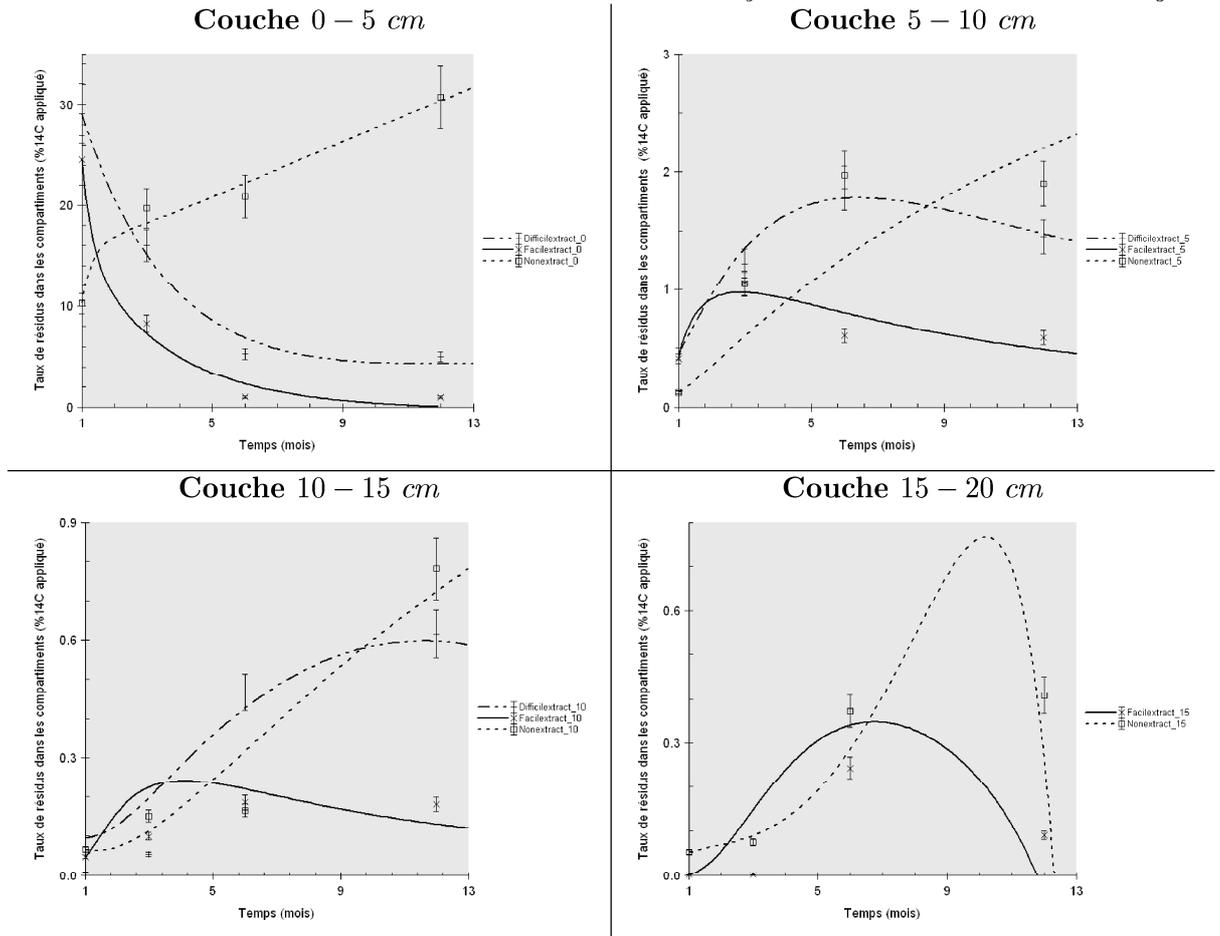


FIG. 5.12 – Résultats des ajustement du modèle à compartiments pour l'estimation des paramètres décrivant l'évolution de la dynamique des résidus d'atrazine dans les micro-lysimètres du sol GB installés à Grignon pendant 12 mois après la 1<sup>re</sup> application.

régulés par leur concentration dans le compartiment "facilement extractible" de la couche de surface (0 – 5 cm). Les résidus facilement extractibles alimentent simultanément le compartiment "minéralisé", les compartiments "difficilement extractible 0-5" et "non extractible 0-5" appartenant à la même couche, et "facilement extractible 5-10" de la couche contiguë. D'après les constantes de vitesse des flux caractérisant ces échanges (respectivement  $k_{Fac.ext.0-5 \rightarrow mine.} = 3,40.10^{-2} j^{-1}$ ,  $k_{Fac.ext.0-5 \rightarrow dif.ext.0-5} = 0,17.10^{-2} j^{-1}$ ,  $k_{Fac.ext.0-5 \rightarrow non.ext.0-5} = 0,9.10^{-2} j^{-1}$  et  $k_{Fac.ext.0-5 \rightarrow fac.ext.5-10} = 0,19.10^{-2} j^{-1}$ , tableaux 5.8 et 5.7)). La stabilisation des résidus d'atrazine sous forme de résidus non extractibles se déroule plus rapidement que la minéralisation ou le transfert vers les couches profondes. On observe la présence des résidus non extractibles dans toutes les couches du lysimètre, y compris dans l'horizon tassé correspondant à la semelle de labour. On observe également une remobilisation des résidus non extractibles vers les compartiment "difficilement extractibles" appartenant à une même couche dans tout le profil du lysimètre de sol GB, mais avec des vitesses plus lentes :  $k_{Non ext. 0-5 \rightarrow dif.ext.} = 0,19.10^{-2} j^{-1}$  dans la couche 0 – 5 cm ;  $k_{Non ext. 5-10 \rightarrow dif.ext.5-10} = 0,2.10^{-2} j^{-1}$  (couche 5 – 10 cm) ;  $k_{Non ext. 15-20 \rightarrow dif.ext.15-20} = 0,08.10^{-3} j^{-1}$  (couche 15 – 20 cm) et  $k_{Non ext. 20-25 \rightarrow ext.dif.20-25} = 0,1.10^{-3} j^{-1}$  (couche 20 – 25 cm). D'autre part, dans toutes les couches de l'horizon labouré, il y a une remobilisation des résidus non extractibles suivie d'une nouvelle stabilisation dans les couches profondes ; les vitesses des flux augmentant avec la profondeur ( $k_{Non ext. 0-5 \rightarrow non ext. 5-10} = 0,05.10^{-2} j^{-1}$  de la couche 0 – 5 à la couche 5 – 10 cm et  $k_{Non ext. 10-15 \rightarrow non ext. 15-20} = 1,9.10^{-2} j^{-1}$  de la couche 10-15 à la couche 15 – 20 cm, tableau 5.7). Mais dans ce sol GB, les proportions de résidus d'atrazine impliqués dans les flux diminuent très rapidement avec la profondeur.

TAB. 5.7 – Constantes de vitesse des flux de transfert des résidus d'atrazine entre couches contiguës des micro-lysimètres des sols GM et GB installées à Grignon.

Transfert entre couches contiguës								
$k_{X \rightarrow Y}$ ( $j^{-1}$ )	0-5 à 5-10 cm		5-10 à 10-15 cm		10-15 à 15-20 cm		20-25 cm	
	GM	GB	GM	GB	GM	GB	GM	GB
Flux de transfert								
$k_{Fac \rightarrow Fac}$	0,3.10 <sup>-2</sup>	0,2.10 <sup>-2</sup>	5,3.10 <sup>-2</sup>	1,1.10 <sup>-2</sup>	2,2.10 <sup>-2</sup>	2,3.10 <sup>-2</sup>	-	9,4.10 <sup>-2</sup>
$k_{Dif \rightarrow Dif}$	3,7.10 <sup>-2</sup>	1,4.10 <sup>-2</sup>	-	-	-	1,8.10 <sup>-2</sup>	-	1,41.10 <sup>-2</sup>
Flux de remobilisation/stabilisation des résidus non extractibles								
$k_{Nonext \rightarrow Nonext}$	-	0,5.10 <sup>-3</sup>	-	0,7.10 <sup>-2</sup>	1,7.10 <sup>-2</sup>	1,9.10 <sup>-2</sup>	5,2.10 <sup>-2</sup>	-

TAB. 5.8 – Paramètres d'évolution des flux de  $^{14}\text{C}$ -atrazine entre les compartiments d'une même couche des micro-lysimètres des sols GM et GB installés à Grignon (les constantes de vitesse de flux  $k_{i \rightarrow j}$  sont en  $j^{-1}$  et les temps de demi-vie  $DT_{50}$  en jours).

Paramètres	Couche de sol (cm)									
	0-5		5-10		10-15		15-20		20-25	
	GM	GB	GM	GB	GM	GB	GM	GB	GM	GB
<b>Flux de dissipation dans la matrice de sol</b>										
$k_{\rightarrow}$										
$k_{Pest \rightarrow sol}$	-	$7,4 \cdot 10^{-3}$	-	-	-	-	-	-	-	-
$DT_{50}$	-	1733	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Flux de minéralisation</b>										
$k_{Fac \rightarrow mine}$	$7,5 \cdot 10^{-2}$	$3,4 \cdot 10^{-2}$	-	-	-	-	-	-	-	-
$DT_{50}$	9	20	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Flux de perte de disponibilité</b>										
$k_{Fac \rightarrow dif}$	-	$0,2 \cdot 10^{-2}$	-	$1,4 \cdot 10^{-2}$	$5,7 \cdot 10^{-2}$	$0,2 \cdot 10^{-2}$	$7,9 \cdot 10^{-2}$	-	$0,5 \cdot 10^{-2}$	$2,4 \cdot 10^{-2}$
<b>Flux de regain de disponibilité</b>										
$k_{Dif \rightarrow fac}$	$0,1 \cdot 10^{-2}$	$5,2 \cdot 10^{-2}$	$0,2 \cdot 10^{-3}$	$0,8 \cdot 10^{-2}$	-	-	$2,3 \cdot 10^{-2}$	-	$0,16 \cdot 10^{-2}$	-
<b>Flux de stabilisation</b>										
$k_{Fac \rightarrow non\ ext}$	$0,1 \cdot 10^{-2}$	$0,9 \cdot 10^{-2}$	-	-	-	-	-	-	-	-
$k_{Dif \rightarrow non\ ext}$	-	-	$2,3 \cdot 10^{-2}$	$0,2 \cdot 10^{-2}$	$0,7 \cdot 10^{-2}$	-	$2,3 \cdot 10^{-2}$	-	-	-
<b>Flux de remobilisation des résidus liés</b>										
$k_{Non\ ext \rightarrow fac}$	$0,2 \cdot 10^{-2}$	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$DT_{50}$ (en j)	330	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$k_{Non\ ext \rightarrow dif}$	$0,4 \cdot 10^{-2}$	$0,2 \cdot 10^{-2}$	$0,2 \cdot 10^{-2}$	$0,2 \cdot 10^{-3}$	-	-	-	$0,1 \cdot 10^{-3}$	$9,4 \cdot 10^{-2}$	$0,1 \cdot 10^{-2}$
$DT_{50}$ (en j)	16	365	301	2888	-	-	-	6932	7	6931

## 2<sub>2</sub> – Dynamique du $^{14}\text{C}$ dans les micro-lysimètres des sols GB et NB installés à Nancy :

Les résultats de l'analyse compartimentale de la dynamique de l'atrazine dans les micro-lysimètres installés à Nancy, à partir des résultats fournis par M. Schiavon (ENSAIA, Nancy) sont représentés dans les figures 5.13 à 5.16. Comme sur le site d'expérimentation de Grignon, à Nancy, dans le sol GB, la solution du sol constitue le compartiment d'alimentation du système avec une vitesse de flux ( $k_{Pest.sol \rightarrow fac.ext. 0-5} = 0,6 \cdot 10^{-2} j^{-1}$ ), il en est de même avec le sol NB ne possédant pas, comme le sol GB, de microorganismes adaptés à la dégradation de l'atrazine.

Dans les micro-lysimètres de sol GB installés à Nancy, la dynamique des résidus de  $^{14}\text{C}$ -atrazine semble être contrôlée à partir de la couche de surface par les résidus du compartiment "difficilement extractible 0-5". Une partie des résidus facilement extractibles se dégrade en se minéralisant avec une constante de flux  $k_{Fac.ext.0-5 \rightarrow mine.} = 4,3 \cdot 10^{-2} j^{-1}$ , l'autre partie se transformant en résidus non extractibles ( $k_{Fac.ext.0-5 \rightarrow non.ext.0-5} = 5,1 \cdot 10^{-2} j^{-1}$ ). Comme dans

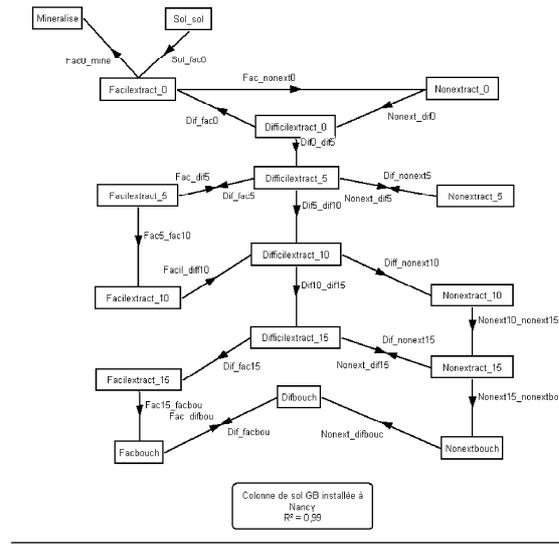


FIG. 5.13 – Flux effectifs (non négligeables) entre les compartiments du modèle décrivant la dynamique de l'atrazine dans les couches de l'horizon de labour des micro-lysismètres du sol GB installés à Nancy.

les micro-lysismètres de sol GB installés à Grignon, à Nancy, la formation des résidus non extractibles est également un processus plus rapide que la minéralisation de l'atrazine. Mais pour ce sol, le flux de minéralisation est plus important à Nancy qu'à Grignon ; le flux de stabilisation sous forme de résidus non extractibles étant plus important à Grignon. Ce résultat est le même que celui qui a été obtenu lors des extractions des lysismètres. Cette différence pourrait être uniquement imputée aux conditions climatiques différentes. La pluviométrie, plus importante et entraînant une humidité plus élevée dans les lysismètres placés à Nancy, favoriserait une minéralisation et un lessivage plus élevés ; alors que les conditions moins humides à Grignon seraient la cause d'une stabilisation plus rapide. Par opposition aux résultats obtenus avec ce même sol dans les lysismètres installés à Grignon, le meilleur ajustement est obtenu en considérant que le compartiment "difficilement extractible 0-5" est le compartiment relais, assurant le transfert des résidus dans les couches profondes du sol. Une partie de ces résidus proviennent de la remobilisation des résidus du compartiment "non extractible 0-5" de la couche de surface (0 – 5 cm), avec une constante de vitesse de flux de  $k_{Non;ext.0-5 \rightarrow ext.dif.0-5} = 0,26 \cdot 10^{-2} j^{-1}$  (tab. 5.10). Comme dans les lysismètres installés à Grignon, les résidus non extractibles se retrouvent dans toutes les couches des micro-lysismètres de sol GB. Les compartiments "non extractible" sont alimentés par des résidus du compartiment "difficilement extractible" d'une même couche, et/ou de la remobilisation suivie d'une stabilisation des résidus non extractibles du compartiment contigu, ce transfert vertical se faisant essentiellement dans les couches les plus profondes (fig. 5.14).

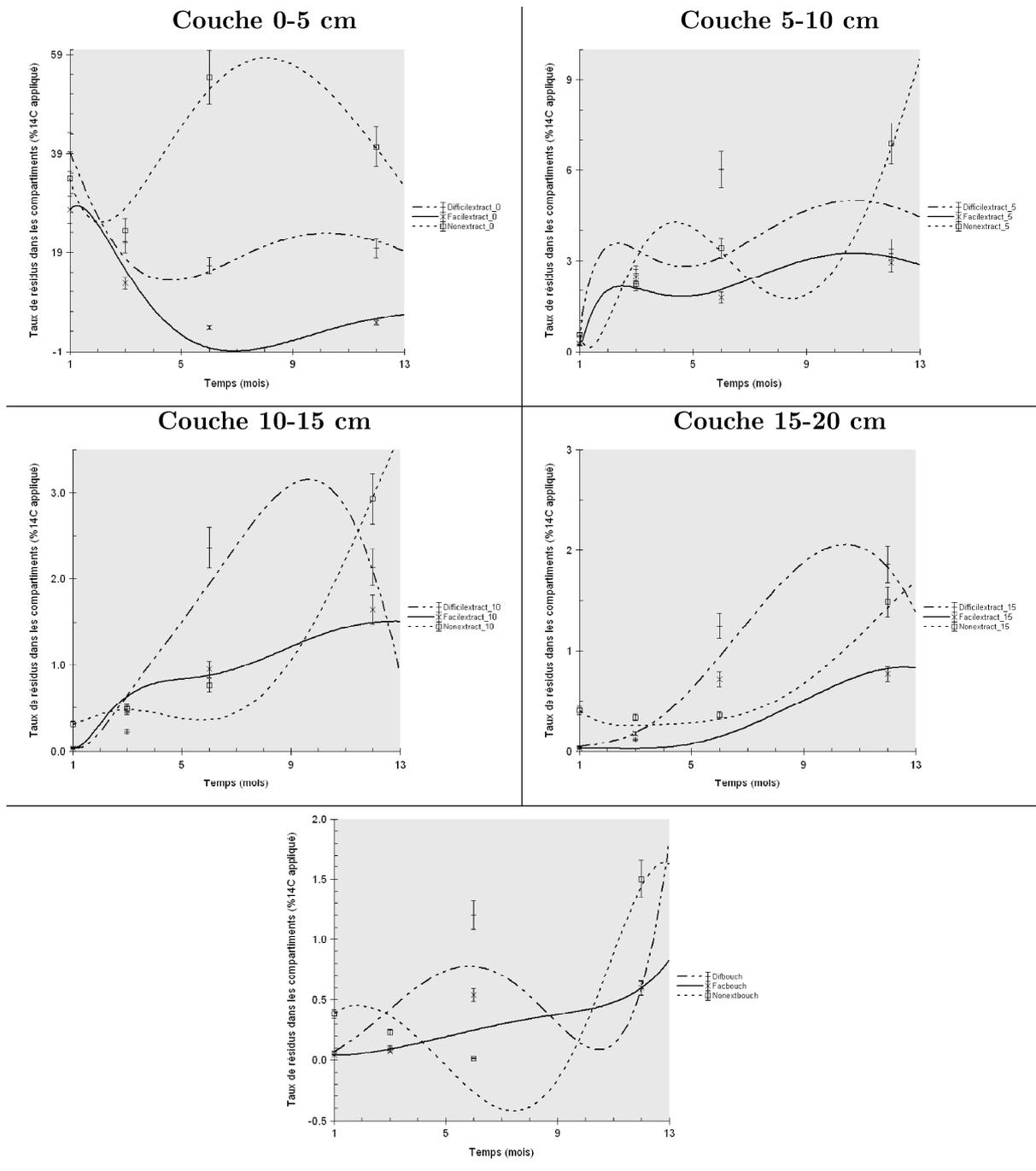


FIG. 5.14 – Résultats des ajustement du modèle à compartiments pour l'estimation des paramètres décrivant l'évolution de la dynamique des résidus d'atrazine dans les micro-lysmètres du sol GB installés à Nancy pendant 12 mois après la 1<sup>re</sup> application.

### Microlysimètre de Sol NB installé à Nancy

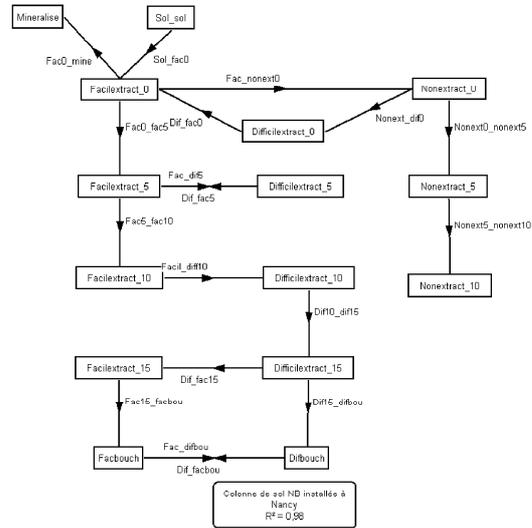


FIG. 5.15 – Flux effectifs (non négligeables) entre les compartiments du modèle décrivant la dynamique de l'atrazine dans les couches de l'horizon de labour des micro-lysismètres du sol NB installés à Nancy.

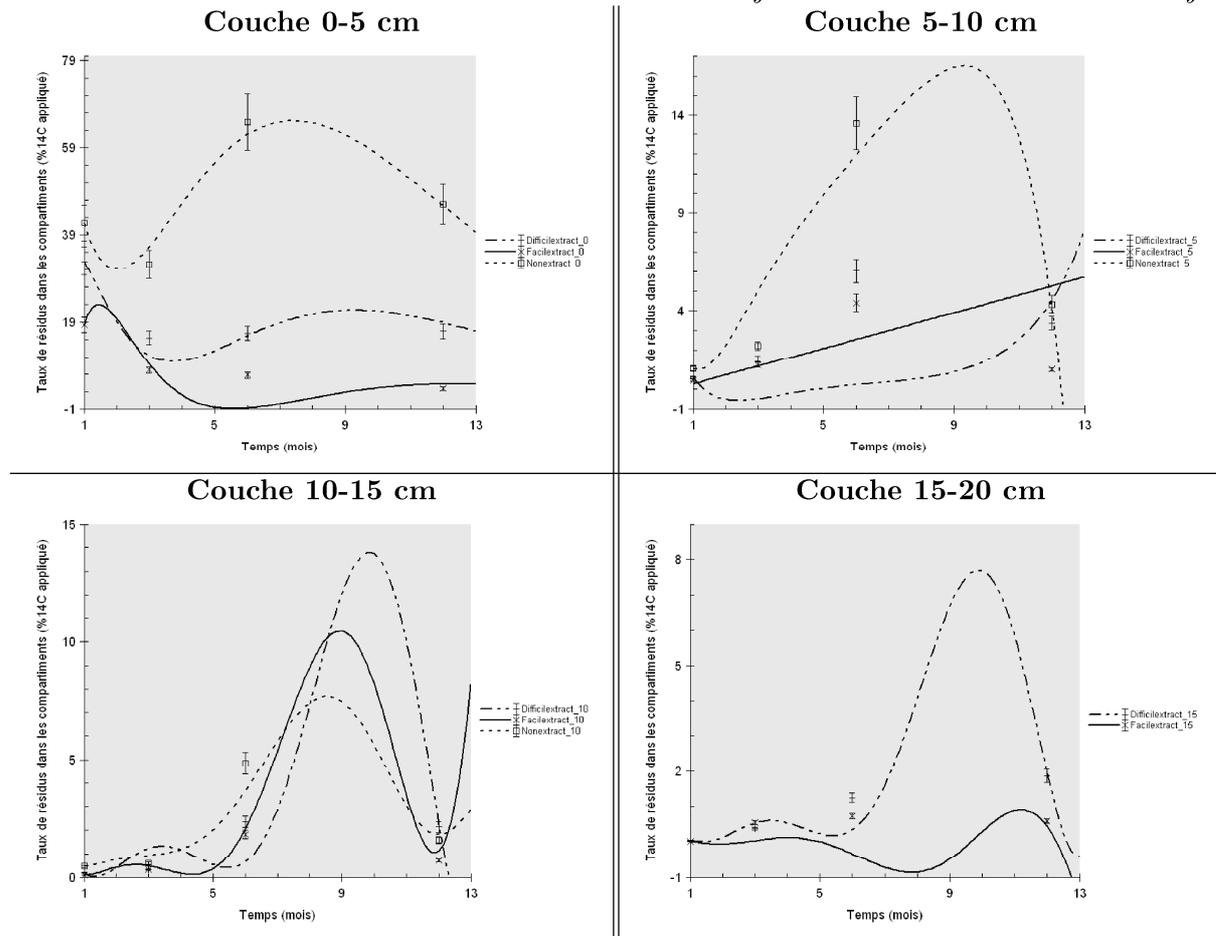


FIG. 5.16 – Résultats des ajustement du modèle à compartiments pour l'estimation des paramètres décrivant l'évolution de la dynamique des résidus d'atrazine dans les micro-lysismètres du sol NB installés à Nancy pendant 12 mois après la 1<sup>re</sup> application.

TAB. 5.9 – Constantes de vitesse des flux de transfert des résidus d'atrazine entre couches contiguës des micro-lysime'tres des sols NB et GB installées à Nancy.

Transfert entre couches contiguës								
$k_{X \rightarrow Y}$ ( $j^{-1}$ )	0 – 5 à 5 – 10 cm		5 – 10 à 10 – 15 cm		10 – 15 à 15 – 20 cm		20 – 25 cm	
	GB	NB	GB	NB	GB	NB	GB	NB
<b>Flux de transfert</b>								
$k_{Fac \rightarrow Fac}$	-	$3,5 \cdot 10^{-2}$	$0,9 \cdot 10^{-2}$	$1,7 \cdot 10^{-2}$	-	-	$6,7 \cdot 10^{-2}$	$4,6 \cdot 10^{-1}$
$k_{Dif \rightarrow Dif}$	$1,3 \cdot 10^{-2}$	-	$0,5 \cdot 10^{-2}$	-	$0,3 \cdot 10^{-2}$	$6,9 \cdot 10^{-2}$	-	$1,6 \cdot 10^{-2}$
<b>Flux de remobilisation/stabilisation des résidus liés</b>								
$k_{Non\ ext \rightarrow Non\ ext}$	-	$0,7 \cdot 10^{-3}$	-	$0,2 \cdot 10^{-2}$	$1,4 \cdot 10^{-2}$	-	$2,5 \cdot 10^{-2}$	-

TAB. 5.10 – Paramètres d'évolution des flux de  $^{14}C$ -atrazine entre les compartiments d'une même couche des micro-lysime'tres des sols GB et NB installés à Nancy (les constantes de vitesse de flux  $k_{i \rightarrow j}$  sont en  $j^{-1}$  et les temps de demi-vie  $DT_{50}$  en jours).

Paramètres	Couche de sol (cm)									
	0-5		5-10		10-15		15-20		20-25	
	GB	NB	GB	NB	GB	NB	GB	NB	GB	NB
<b>Flux de dissipation dans la matrice de sol</b>										
$k_{i \rightarrow j}$										
$k_{Pest \rightarrow sol}$	$0,6 \cdot 10^{-2}$	$0,8 \cdot 10^{-2}$	-	-	-	-	-	-	-	-
$DT_{50}$	116	87	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Flux de minéralisation</b>										
$k_{Fac \rightarrow mine}$	$4,30 \cdot 10^{-2}$	$3,51 \cdot 10^{-2}$	-	-	-	-	-	-	-	-
$DT_{50}$	16	20	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Flux de perte de disponibilité</b>										
$k_{Fac \rightarrow dif}$	-	-	$4,1 \cdot 10^{-1}$	$4,4 \cdot 10^{-2}$	$1,9 \cdot 10^{-2}$	$4,7 \cdot 10^{-2}$	-	-	$1,6 \cdot 10^{-2}$	$0,4 \cdot 10^{-2}$
<b>Flux de regain de disponibilité</b>										
$k_{Dif \rightarrow fac}$	$6,5 \cdot 10^{-2}$	$7,8 \cdot 10^{-2}$	$3,2 \cdot 10^{-1}$	$1,7 \cdot 10^{-1}$	-	$1,0 \cdot 10^{-1}$	$0,5 \cdot 10^{-2}$	-	$2,4 \cdot 10^{-2}$	$0,6 \cdot 10^{-2}$
<b>Flux de stabilisation</b>										
$k_{Fac \rightarrow non\ ext}$	$5,1 \cdot 10^{-2}$	$3,5 \cdot 10^{-2}$	-	-	-	-	-	-	-	-
$k_{Dif \rightarrow non\ ext}$	-	-	$1,3 \cdot 10^{-2}$	-	$0,2 \cdot 10^{-2}$	-	$0,7 \cdot 10^{-2}$	-	-	-
<b>Flux de remobilisation des résidus non extractibles</b>										
$k_{Non\ ext \rightarrow dif}$	$0,3 \cdot 10^{-2}$	$0,3 \cdot 10^{-2}$	$0,3 \cdot 10^{-3}$	-	-	-	$0,6 \cdot 10^{-2}$	-	-	-
$DT_{50}$	231	231	2310	-	-	-	116	-	-	-

La dynamique des résidus de  $^{14}\text{C}$ -atrazine dans les micro-lysimètres du sol NB installés à Nancy est étudiée à titre comparatif. La régulation des flux se fait à partir du compartiment "facilement extractible" de la couche de surface. Celui-ci assure la minéralisation des résidus de l'atrazine, leur stabilisation sous forme de résidus non extractibles et leur transfert vers les couches profondes. Ces transferts de flux se font avec des constantes de vitesse de flux comparables ( $k_{Fac.ext.0-5 \rightarrow mine} = 3,5 \cdot 10^{-2} j^{-1}$ ,  $k_{Fac.ext.0-5 \rightarrow non\ ext.\ 0-5} = 3,5 \cdot 10^{-2} j^{-1}$  et  $k_{Fac.ext.\ 0-5 \rightarrow fac.\ ext.\ 5-10} = 3,5 \cdot 10^{-2} j^{-1}$ , tab. 5.9 et 5.10). La remobilisation des résidus non extractibles semble non négligeable dans la couche de surface, les résidus du compartiment "non extractible 0-5" devenant difficilement extractibles avec une constante de flux  $k_{Non\ ext \rightarrow dif.0-5} = 0,29 \cdot 10^{-2} j^{-1}$ . En revanche, il y aurait une accumulation des résidus non extractibles dans les couches plus profondes, en particulier dans la couche 10 – 15 cm où le compartiment "non extractible" n'échange avec aucun autre compartiment (fig. 5.16).

## C6 - Discussion

Les résultats de l'analyse compartimentale montrent que les ajustements entre les données expérimentales obtenues aussi bien en conditions contrôlées qu'en conditions naturelles et le modèle ont été déterminés avec des coefficients de régression  $r^2$  très élevés. Cette approche compartimentale permet donc de décrire les données, les étapes intermédiaires d'élimination des flux permettent de ne garder que les flux et les compartiments les plus représentatifs. La modélisation des résultats obtenus en laboratoire et en conditions naturelles met en évidence le rôle des propriétés des sols, des populations microbiennes et du climat sur la dynamique de l'atrazine dans les sols, en particulier leur influence sur les constantes de vitesse des flux de  $^{14}\text{C}$ . C'est ainsi que pour les mêmes compartiments d'un même sol, les constantes de flux sont plus élevées en conditions naturelles qu'en conditions contrôlées de laboratoire. Ce genre de constat avait déjà été fait par Berge et Haitefuss (1990) en étudiant l'influence de la température sur la dissipation des pesticides. Ces auteurs ont constaté que l'augmentation de la température, un des facteurs conditionnant l'activité biologique dans les sols, provoquait une diminution de la demi-vie de l'isoproturon en conditions de laboratoire.

Les flux de minéralisation sont relativement plus élevés lorsque l'incubation du sol se fait

dans des conditions climatiques correspondant au site de Nancy, les constantes des flux de minéralisation étant  $k_{Fac.ext. \rightarrow mine.} = 3,4 \cdot 10^{-2} j^{-1}$ , lorsque le sol GB se trouve à Grignon, et  $k_{Fac.ext. \rightarrow mine.} = 4,26 \cdot 10^{-2} j^{-1}$ , à Nancy. Il en est de même de la perte de disponibilité des résidus extractibles, leurs constantes de flux de transfert vers les couches contigües ou vers les compartiments "non extractibles" étant plus élevées dans les micro-lysimètres des sols installés à Nancy qu'à Grignon. Dans la couche 5 – 10 cm, par exemple, la perte de disponibilité des résidus facilement extractibles du sol GB est très rapide et se traduit par leur transformation en résidus difficilement extractibles, avec une constante de flux  $k_{Fac.ext. \rightarrow dif.ext.} = 0,41 j^{-1}$ , cette constante étant plus faible à Grignon ( $k_{Fac.ext. \rightarrow dif.ext.} = 1,4 \cdot 10^{-2} j^{-1}$ ). Les résidus difficilement extractibles sont transportés de la couche 0 – 5 à la couche 5 – 10 cm, avec une vitesse plus élevée à Nancy qu'à Grignon. Ces résultats sont dus aux conditions d'humidité plus élevée à Nancy au moment des expériences. Müller *et al.* (2003), en étudiant la variabilité spatiale de la dissipation de l'atrazine, ont montré que l'efficacité de la transformation de l'atrazine dans les sols, résultant en grande partie des microorganismes, dépendait de la température, de l'humidité et du pH (Houot *et al.*, 2000). Cependant, pour Berger et Heitefuss (1990), l'humidité aurait une influence mineure sur la dégradation de l'isoproturon ; alors que Kulshrestha (1982) trouve que la dégradation de l'isoproturon est deux fois plus élevée lorsque le sol a une humidité correspondant à 30% de sa capacité de rétention que lorsque celle-ci est à 100% ; mais le sol étudié double sa capacité de dégradation lorsqu'il se trouve en situation de saturation en eau (200% de la capacité de rétention). Ceci serait dû, selon le cas, soit à un regain d'activité des microorganismes dégradants, soit à une hydrolyse de la molécule mère.

D'autre part, le climat influerait aussi la stabilisation des résidus de l'atrazine sous forme de résidus non extractibles, l'analyse compartimentale donnant pour le sol GB, des constantes de vitesse de flux de stabilisation plus élevées lorsque ce sol se trouve à Grignon qu'à Nancy. Mais dans toutes les couches des micro-lysimètres du sol GB, la persistance des résidus non extractibles d'atrazine est plus élevée dans les micro-lysimètres installés à Nancy. Ceci se traduit par des constantes de flux de remobilisation des résidus non extractibles vers des résidus difficilement extractibles, plus élevées à Nancy ( $0,3 \cdot 10^{-2} j^{-1}$ ) qu'à Grignon ( $0,2 \cdot 10^{-2} j^{-1}$ ). De plus cette persistance augmente considérablement avec la profondeur. Des valeurs de demi-vie ( $DT_{50}$ ) plus élevées avaient été trouvées par Armstrong et Chester (1968), lors de l'étude de l'adsorption de

l'atrazine catalysée par une hydrolyse chimique. Ces auteurs avaient démontré que les valeurs de  $DT_{50}$  pouvaient atteindre 1800 ans. On pourrait penser, a priori, que la pollution des eaux souterraines par l'atrazine serait due à l'effet conjugué de la persistance des résidus non extractibles dans les couches profondes du sol et de leur remobilisation. Ce résultat montre également l'intervention des microorganismes dans la dégradation des résidus non extractibles d'atrazine, l'augmentation de la persistance des résidus non extractibles d'atrazine étant en relation avec la diminution des populations microbiennes dégradantes avec la profondeur dans l'ensemble des sols, comme cela a été démontré précédemment, lors de l'étude de l'évolution de la biomasse microbienne dans les couches des lysimètres des sols. La dégradation microbienne est le principal mécanisme responsable de la dégradation des résidus d'atrazine (Kaufman et Kearney, 1970). Celle-ci implique l'intervention des bactéries ou des champignons (Kaufman et Kearney, 1970; Mougin *et al.*, 1994; Nagy *et al.*, 1994; Barriuso *et al.*, 2004).

Enfin, l'analyse compartimentale a mis en évidence la remobilisation des résidus non extractibles et leur transformation, soit sous forme de résidus difficilement extractibles de la même couche de sol, soit sous forme de résidus non extractibles après une nouvelle stabilisation dans la couche contiguë. Néanmoins dans les couches des sols où cette remobilisation est mise en évidence, les flux de remobilisation sont plus élevés dans le sol GM que dans les sols GB et NB, en relation probablement avec la présence des microorganismes adaptés à la dégradation de l'atrazine. La capacité à métaboliser les résidus non extractibles a été montrée par Barriuso *et al.* (2004) lors des expériences d'incubation des sols avec les bactéries *ADP*. Mais la remobilisation des résidus non extractibles se fait de manière semblable dans les couches de dégradation du sol GB, sur les deux sites d'expérimentation, les mêmes compartiments participant à la remobilisation des résidus non extractibles, avec des vitesses de constantes de flux relativement plus élevées à Nancy. À Grignon, les faibles vitesses de remobilisation pourraient expliquer l'accumulation des résidus non extractibles observée à travers la cinétique d'évolution du compartiment "non extractible". Selon Liebich *et al.* (1999), la remobilisation serait provoquée par une rupture des liaisons, due aux microorganismes dégradants, entre les pesticides et les constituants du sol. Cette affirmation étant mitigée par Khan et Iverson (1982) pour qui l'influence des microorganismes sur la remobilisation des résidus non extractibles est secondaire.

## D Conclusions

La modélisation dynamique des pesticides dans les sols, par l'analyse compartimentale du système sol-pesticide, a été réalisée à l'aide d'un modèle numérique à compartiments. Dans le sol, le pesticide se présente sous différents états de disponibilité à l'extraction. Chacun de ces états de disponibilité à l'extraction est considéré comme un compartiment. Ce sont les échanges entre compartiments qui sont considérés, dans la mesure où ils expriment l'évolution de l'état du pesticide et sa stabilisation.

L'analyse compartimentale permet de préciser les flux non négligeables entre les compartiments considérés. La représentation du système avec les compartiments définis permet de décrire les données expérimentales. Ainsi, les modèles retenus ont permis de préciser la compétition entre la minéralisation, les résidus extractibles et la stabilisation des résidus de pesticides. Par exemple, lorsque la taille du compartiment minéralisé augmente, on observe une diminution de la taille du compartiment "non extractible" avec le temps. En revanche, lorsque c'est la taille du compartiment non extractible qui augmente avec le temps, il y a ralentissement du processus de minéralisation. Cette compétition peut être caractérisée par des constantes de flux, en rapport aux équilibres supposés entre compartiments, mais ces constantes sont modifiées lors des applications répétées du même pesticide.

La modélisation du devenir de l'atrazine et de l'isoproturon dans les sols a permis d'estimer, d'une part les constantes de flux de libération des résidus non extractibles, et d'autre part de classer par ordre d'importance les flux les plus significatifs entre les compartiments identifiés. Les résidus non extractibles se forment à partir des résidus difficilement extractibles (ou extractibles au méthanol), mais une formation des résidus non extractibles à partir des résidus hydrosolubles, a priori les plus disponibles dans le sol, est également mise en évidence. Ce point serait probablement en relation avec le rôle de la biomasse microbienne du sol qui constitue en soi un compartiment de stockage des résidus non extractibles. Mais cette biomasse est aussi un compartiment de transit et d'activation chimique par la formation des métabolites, intermédiaires souvent plus réactifs que la molécule mère (cas de l'isoproturon).

Il est mis en évidence que les effets conjugués des applications répétées et de la durée des

incubations conduisent à une remobilisation partielle des résidus non extractibles. Dans les lysimètres, quelque soit le sol et la couche considérée, les résidus non extractibles sont toujours mobilisables. Pour chaque sol, les constantes de remobilisation estimées sont plus élevées pour l'atrazine que pour l'isoproturon ; elles sont systématiquement plus faibles dans le sol acide que dans les sols calciques. Dans les sols calciques, l'induction d'une activité biologique spécifique, capable de dégrader l'atrazine ou l'isoproturon se traduit par une augmentation des constantes de mobilisation de leurs résidus non extractibles, ce qui traduit la capacité des microorganismes ainsi activés de s'attaquer à des résidus, a priori, peu ou non disponibles.

En outre, les constantes de vitesse de remobilisation peuvent être converties, en première approximation, en demi-vies ( $DT_{50}$ ). Ainsi, les demi-vies des résidus non extractibles peuvent être relativement faibles dans les sols possédant une activité biologique spécifique de dégradation des pesticides. Dans les autres sols, et surtout pour l'isoproturon, les demi-vies des résidus non extractibles sont plus élevées.

L'utilisation du modèle à compartiments présente l'avantage de décrire et quantifier les échanges entre compartiments, y compris ceux difficilement mesurables par l'expérimentation, comme la contribution du "compartiment non extractible" à la minéralisation. La modélisation ainsi réalisée a permis, d'une part de valoriser les résultats expérimentaux obtenus en conditions contrôlées de laboratoire et en conditions de plein champ ; et d'autre part de mieux cerner la dynamique des résidus de pesticides dans le sol. Il est nécessaire qu'une attention particulière soit portée sur la modélisation des processus de transport des pesticides dans les sols.

Deuxième partie

Conclusions générales



## Conclusions générales et perspectives

Tous les pesticides forment dans le sol des résidus non extractibles dans des pourcentages variables en fonction de leur nature chimique et des conditions expérimentales d'incubation. La non extractibilité des résidus des pesticides fait intervenir des mécanismes d'interaction entre les pesticides ou leurs produits de dégradation et les matières organiques des sols. Ces interactions peuvent être regroupées en deux grandes catégories : celles qui font appel à l'établissement de liaisons chimiques et celles qui correspondent au piégeage physique dans les microporosités colloïdales des composés humiques. Par ailleurs, la biomasse microbienne des sols constitue un compartiment supplémentaire à considérer, car elle est un lieu de production et de stockage de résidus non extractibles et elle intervient, pour partie, dans la régulation des flux entre les autres compartiments et dans le remobilisation des résidus non extractibles.

Pour un pesticide donné, de nombreux résultats, dans la littérature, montrent qu'il y a une relation directe entre l'activité microbienne des sols et les taux de formation des résidus non extractibles. Nous avons montré, pour deux pesticides étudiés, que la répartition de la radioactivité provenant des fractions séparées en fonction de leur extractibilité évolue très rapidement : une diminution de la disponibilité des résidus est mise en évidence par la diminution de la proportion des résidus extractibles, avec une augmentation progressive de la part des résidus non extractibles.

La contribution quantitative du compartiment biomasse microbienne aux résidus non extractibles est estimée à l'aide des techniques de fumigation utilisées pour la mesure du carbone et de l'azote total de la biomasse. L'application de ces techniques à des sols ayant été incubés avec des  $^{14}\text{C}$ -pesticides permet d'estimer le pourcentage de  $^{14}\text{C}$  incorporé dans la biomasse microbienne des sols. Les résultats ont montré que dans le cas de l'atrazine et de l'isoproturon, la part du  $^{14}\text{C}$  incorporé varie entre 1 et 6% de la radioactivité initiale apportée. En supposant que le  $^{14}\text{C}$  incorporé dans la biomasse microbienne constitue la composante microbienne des résidus non extractibles, on peut évaluer que les résidus associés à la biomasse microbienne contribuent pour 3 à 14% aux résidus non extractibles.

Toute pratique agricole qui modifie les facteurs intervenant directement ou indirectement dans le devenir des pesticides aura une incidence dans la formation des résidus non extractibles dans les sols. Il peut s'agir des modifications de l'activité biologique impliquée dans la transformation

des pesticides, ou des modifications de la matière organique des sols. Un exemple de modification d'une activité biologique spécifique intéressant la dégradation des pesticides est souvent rencontré lors d'applications répétées d'un pesticide sur un même sol. Cela peut provoquer l'induction d'activités microbiennes spécifiques, capables de dégrader rapidement le pesticide. Dans des sols traités annuellement avec de l'atrazine (monoculture de maïs), sa minéralisation est très rapide et le taux de résidus non extractibles est très bas. Au contraire, dans les sols ne recevant pas cet herbicide (monoculture de blé et jachère), l'atrazine se minéralise lentement, mais les proportions de résidus non extractibles formés sont plus importantes. Les concentrations d'atrazine sont toujours plus importantes dans les sols issus des parcelles non traitées avec ce pesticide, mais la différence la plus significative, par rapport à la parcelle sous monoculture de maïs, est l'apparente compétition entre les deux voies de dissipation : la minéralisation et la formation des résidus non extractibles. L'adaptation d'un sol à la dégradation d'un pesticide apparaît avec la multiplication des applications de ce pesticide. Elle reste caractérisée d'une part, par l'augmentation des taux de résidus de ce pesticide minéralisés, ce qui traduit une stimulation des processus de minéralisation, et par la diminution des taux de résidus non extractibles ; ce qui traduit, soit une inhibition des processus de formation des résidus non extractibles, soit une remobilisation de ces résidus, soit la manifestation concomitantes des deux phénomènes.

L'évaluation des risques associés aux résidus non extractibles passe par l'acquisition de trois types d'informations : (i) quantité de résidus, (ii) nature chimique des résidus et (iii) cinétiques d'évolution pour rendre compte d'une éventuelle remobilisation. Nous avons mis en évidence, comme d'autres auteurs, qu'une partie des résidus non extractibles correspond bien à la molécule mère et à des métabolites proches. Ce type d'information avait été acquis pour l'atrazine, il en est de même pour l'isoproturon. On sait, par ailleurs pour cet herbicide, que les mécanismes de formation de ses résidus non extractibles impliquent une contribution importante de la réactivité chimique des métabolites (anilines). La composante "réactivité chimique" dans la formation des résidus non extractibles d'isoproturon sera beaucoup plus importante que pour l'atrazine, dont la composante physico- chimique, dans la formation des résidus non extractibles, avait été estimée, dans des travaux précédents, entre 50 et 60% des résidus. C'est cela qui peut expliquer que les constantes de vitesse caractérisant les flux de remobilisation de ces résidus non extractibles d'isoproturon estimées à partir des modèles à compartiments sont toujours plus faibles que les constantes correspondantes de l'atrazine dans les mêmes sols.

Dans un contexte d'applications répétées, et sans modification de la dynamique propre des

résidus non extractibles, il faut s'attendre à l'accumulation des résidus non extractibles jusqu'à une limite (plateau) dont le niveau de concentration sera la résultante de l'équilibre cinétique entre la formation et la dégradation des résidus non extractibles. Néanmoins, la conséquence la plus significative des applications répétées de pesticides est, pour certains d'entre eux, l'induction d'une activité biologique des sols, spécialisée dans leur dégradation. Le résultat est une dégradation rapide du pesticide allant jusqu'à sa minéralisation poussée, avec une diminution importante de sa persistance et du nombre d'intermédiaires (métabolites) restant dans le sol. Cette dégradation rapide rentre en compétition avec des phénomènes souvent plus lents, responsables de la formation des résidus non extractibles. Ainsi, les résidus minéralisés ne participeront pas à la formation des résidus non extractibles, en conséquence leur taux diminuera.

L'approche compartimentale de la modélisation du devenir des pesticides dans le sol nous a permis d'identifier et de classer, par importance relative, les flux les plus significatifs. C'est ainsi que nous avons pu constater que les résidus non extractibles se forment à partir des résidus extractibles. Mais l'interprétation des données expérimentales, au travers de la modélisation, met en évidence une formation rapide de résidus non extractibles à partir des résidus hydrosolubles, à priori les plus disponibles dans les sols. Ce point est probablement en connexion avec le rôle de la biomasse microbienne du sol qui constitue en soi un compartiment de stockage de résidus non extractibles (de 3 à 14% des résidus non extractibles totaux). Mais cette biomasse microbienne constitue aussi un compartiment de transit et d'activation chimique par la formation des métabolites, intermédiaires souvent plus réactifs que la molécule mère. Les meilleurs ajustements des modèles aux données expérimentales sont obtenus en considérant négligeable la minéralisation directe des résidus non extractibles.

Les modèles à compartiments utilisés permettent d'estimer les constantes de vitesse des flux de remobilisation des résidus non extractibles. Il s'agit de l'ensemble des flux partant des compartiments "résidus non extractibles" vers d'autres compartiments du système. Les constantes ainsi estimées sont plus élevées pour l'atrazine que pour l'isoproturon. Cela voudrait dire que les résidus non extractibles de l'atrazine sont plus facilement remobilisables que ceux de l'isoproturon. Ces constantes sont systématiquement plus faibles dans le sol acide (NB) que dans les sols calciques (GM et GB). Dans les sols calciques, l'induction d'une activité biologique spécifique, capable de dégrader rapidement l'atrazine se traduit par une augmentation des constantes de remobilisation des résidus non extractibles d'atrazine. Cela voudrait aussi dire que les microorganismes ainsi activés sont capables de s'attaquer à des résidus, a priori, peu ou non disponibles.

Les constantes de vitesse de remobilisation peuvent être converties en première approximation en valeurs de durée de demi-vie ( $DT_{50}$ ). On montre ainsi que dans la couche superficielle des sols, les  $DT_{50}$  des résidus non extractibles d'atrazine peuvent être relativement faibles dans les sols calcaïques possédant une activité biologique spécifique de dégradation des pesticides ( $DT_{50} \leq 20 j$ ). Mais dans ces sols, la quantité totale des résidus non extractibles est limitée et les  $DT_{50}$  des résidus non extractibles d'atrazine diminuent avec la profondeur. Dans les sols ne possédant pas d'activité spécifique, les  $DT_{50}$  sont plus élevées dans la couche de surface et augmentent plus avec la profondeur du sol dans les sols calcaïques (GB) que dans les sols acides (NB). Pour l'isoproturon appliqué en conditions de laboratoire dans le sol brun acide (NB), les  $DT_{50}$  de remobilisation des résidus non extractibles sont supérieures à un an. Cette persistance élevée explique les risques d'accumulation de ce type de résidus. Les valeurs des constantes de vitesse de remobilisation calculées peuvent être utilisées pour réaliser des estimations de risque de remobilisation en faisant des hypothèses de stock de résidus non extractibles en fonction du nombre d'applications répétées d'un pesticide donné, et selon des scénarii d'application à définir. Néanmoins, l'utilisation de ces résultats se trouve confrontée à la difficulté de généralisation des données acquises pour un pesticide, à leur application à d'autres pesticides et/ou d'autres sols.

## Troisième partie

# Références bibliographiques



# 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 de Paris-Grignon, 1998. 201 pp.
- [2] ACTA. *Les herbicides et le sol*. In *Évolution des herbicides dans les sols*. COLUMA, 1977. 137 pp.
- [3] M. Alexander. *Biodegradation and bioremediation*. In *Academic Press, San Diego, CA.*, 1994.
- [4] M. Alexander. *How toxic are toxic chemicals in soil?* *Environ. Sci. Technol.*, 29 :2713–2717., 1995.
- [5] D. Ambrosini, P.P. Kearney, and J.A. Macchia. *Persistence and metabolism of oxydiazinon in soils*. *J. Agric. Food Chem.*, 25 :868–872., 1977.
- [6] F. Andreux, I. Scheunert, M. Schiavon, and G. Bertin. *The binding of pesticide residues to natural organic matter, their movement and their bioavailability*. In *Fate and prediction of environmental chemicals.*, pages 133–148. Lewis, 1993.
- [7] D.E. Armstrong and G. Chesters. *Adsorption-catalysed chemical hydrolysis of atrazine*. *Environ. Sci. Technol.*, 2(9) :683–689., 1968.
- [8] C. Artom, G. Sarzana, and E. Segre. *Influence des graisses alimentaires sur la formation des phospholipides dans les tissus animaux*. *Archs Int. Physiol.*, 47 :245., 1938.
- [9] G.L. Atkins. *Modèles à compartiments multiples pour les systèmes biologiques*. Methuen and Co. Ltd., 1973. 182 pp.
- [10] G.W. Bailey and J.L. White. *Factors influencing the adsorption, desorption, and movement of pesticides in soils*. *Res. Reviews*, 32 :29–92., 1970.
- [11] H.U. Baluch, L. Somasundaram, R.S. Kanvar, and J.R. Coats. *Fate of major degradation products of atrazine in Iowa soils*. *J. Environ. Sci. Health*, B28 :127–149., 1993.
- [12] E. Barriuso. *Pesticide pollution of soils : analytical aspects*. *Analysis*, 22 :13–15., 1994.
- [13] E. Barriuso. *Estimation des risques environnementaux des pesticides*. Un point sur..., INRA Editions, 2003. 130 pp.
- [14] E. Barriuso, F. Andreux, M. Schiavon, and J.M. Portal. *Intérêts et limitations des méthodes de séparation des micropolluants organiques des sols*. *Science du sol*, 29 :301–320., 1991.
- [15] E. Barriuso, P. Bénétoit, and V. Bergheaud. *Role of soil fractions retention and stabilisation of pesticides in soils*. . In A. Copin, G. Houins, L. Pussemmer, and J.F. Salembier, editors, *Environmental Behaviour of Pesticides and Regulatory Aspects*, pages 138–143. COST, European Study Service, Rixensart, Belgique., 1994.
- [16] E. Barriuso and R. Calvet. *Soil type and herbicides adsorption*. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, 46 :117–128., 1992.

- [17] E. Barriuso and S. Houot. *Rapid mineralization of the s-atrazine ring in soil in relation to soil management. Soil Biol. Biochem.*, 28 :1341–1348., 1996.
- [18] E. Barriuso, S. Houot, and C. Serra-Wittling. *Influence of compost addition to soil on the behaviour of herbicides. Pest. Sci.*, 49 :65–75, 1997.
- [19] E. Barriuso and W.C. Koskinen. *Incorporation of non-extractable atrazine residues into soil size fractions as a function of time. Soil Sci. Soc. Am. J.*, 60 :150–157., 1996.
- [20] E Barriuso, W.C. Koskinen, and M.J. Sadowsky. *Solvent Extraction Characterization of Bioavailability of Atrazine Residues in Soils. J. Agric. Food Chem.*, 52(21) :6552–6556., 2004.
- [21] E. Barriuso, G. Soulas, and M. Schiavon. *Adsorption-désorption et dégradation des pesticides dans les sols. Journal Européen d’Hydrologie*, 2000.
- [22] G.W. Baykey and J.L. White. Review of adsorption and desorption of organic pesticides by soil colloids with implication concerning pesticide bioactivity. *J. Agric. Food Chem.*, 12 :324–347., 1964.
- [23] G.W. Bayley and J.L. White. Factors influencing the adsorption, desorption and movement of pesticides in soil. *Res. Rev.*, 32 :29–92., 1970.
- [24] R.M. Behki and S.U. Khan. *Degradation of atrazine by Pseudomas : N-dealkylation and dehalogenation of atrazine of atrazine and its metabolites. J. Agric. Food Chem.*, 34 :746–749., 1986.
- [25] R.M. Behki and S.U Khan. *Degradation of Atrazine by psuedomonas : N-dealkylation and dehalogenation of atrazine and its metabolites. J. Agric. Food Chem.*, 34 :746–749, 1986.
- [26] R.M. Behki and S.U Khan. *Degradation of atrazine, propazine and simazine by Rhodococcus strain B-30. J. Agric. Food Chem.*, 42 :1237–1241., 1994.
- [27] G.D. Bending, E. Shaw, and A. Walker. *Spatial heterogeneity in the metabolism and dynamics of isoproturon degrading microbial communities in soil. Biol. Fertil. Soils*, 33 :484–489., 2001.
- [28] P. Benoit. *Rôle de la nature des matières organiques dans la stabilisation des résidus de polluants organiques dans les sols.* PhD thesis, Institut Agronomique de Paris-Grignon, 1994. 209 pp.
- [29] P ; Benoit, E. Barriuso, and R. Houot, Calvet. *Influence of the nature of soil organic matter on the sorption-desorption of 4 - chlorophenol, 2,4 - dichlorophenol and the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D). 1996, 47 :567–578., Eur. J. Soil Sci.*
- [30] P. Benoit, E. Barriuso, Ph. Vidon, and B. Réal. *Isoproturon Sorption and Degradation in a Soil Grassed Buffer Strip. J. Environ. Qual.*, 28 :121–129., 1999.
- [31] B. Berger and R. Heitefuss. *Determination of the herbicide isoproturon and its possible degradation products in soil by high performance liquide chromatography. Fresenius Z. Anal. Chem.*, 334 :360–362., 1990.
- [32] M. Bernoux. *Contribution expérimentale à l’étude de la stabilité des résidus liés d’atrazine.* D.e.a., INPL, Nancy, France., 1991.
- [33] D.F. Berry and S.A. Boyd. *Decontamination of soil through enhanced formation of bound residues. Environ. Sci. Technol.*, 19 :1132–1133., 1985.
- [34] G. Bertin and M. Schiavon. *Les résidus non extractibles de produits phytosanitaires dans les sols. Agronomie*, 9 :117–124., 1989.
- [35] G. Bertin and M; Schiavon. *les résidus non extractibles de produits phytosanitaires dans les sols. Agronomie*, 9 :117–124., 1989.

- [36] J.A. Best and J.B. Weber. *Disappearance of s-triazines as affected by soil pH using a balance-sheet approach. Weed Sci.*, 22 :364–373., 1974.
- [37] A.M. Blair, T.D. Martin, and S.J. Walker, A. Welch. *Measurement and prediction of isoproturon movement and persistence in three soils. Crop Protect.*, 9 :289–294., 1990.
- [38] J. Bollag. *Decontaminating soil with enzymes : An in situ method using phenolic and anilic compounds. Environ. Sci. Technol.*, 26 :1876–1881., 1992.
- [39] J.M. Bollag. *Enzymatic binding of pesticide degradation products to soil organic matter and their possible release. ACS*, 459 :122–132., 1991.
- [40] J.M. Bollag and C.J. Myers. *Detoxification of aquatic and terrestrial sites through binding of pollutants to humic substances. Sci. Total Environ.*, 123/124 :205–217., 1992.
- [41] J.M. Bollag, C.J. Myers, and R.D. Minard. *Biological and chemical interactions of pesticides with soils. Sci. Total Environ.*, 123/124 :205–217., 1992.
- [42] K.H. Bowner. *Atrazine persistence and toxicity in two irrigated soils of Australia. Austral. J. Soil Res.*, 29 :339–350., 1991.
- [43] W.D. Burgos, J.T. Novak, and D.F. Berry. *Reversible sorption and irreversible binding of naphthalene and *a*-naphthol to soil : elucidation of processes. Environ. Sci. Technol.*, 30 :1205–1211., 1996.
- [44] I.G. Burns, H.B. Hahey, and M. Stacey. *Some physico-chemical interactions of paraquat with soil organic materials and model compounds II. Adsorption and desorption equilibria in aqueous suspension. Weed Res.*, 13 :79–90., 1973.
- [45] A. Calderbank. *The occurrence and significance of bound residues in soil. Rev. Environ. Contam. Toxicol.*, 108 :71–103., 1989.
- [46] R. Calvet. *Adsorption of organic chemicals in soils. Envir. Health Perspect.*, 183 :145–177, 1989.
- [47] P. Capriel, A. Haaisch, and S.U. Khan. *Distribution and nature of bound (nonextractable) residues of atrazine in a mineral soil nine years after herbicide application. J. Agric. Food Chem.*, 33 :567–569., 1985.
- [48] P. Capriel, A. Haisch, and S.U. Khan. *Supercritical methanol : an efficacious technique for extraction of bound pesticide residues from soil and plant samples. J. Agric. Food Chem.*, 34 :70–73., 1986.
- [49] R.F. Carsel, P.R. Imhoff, J.M. Cheplick, and A.S. Donigan. *PRZM-3, A model for predicting pesticide and nitrogen fate in the crop root and unsaturated soil zones : Users manual for release 3.0. Technical report, USEPA, Athens, GA.*, 1998.
- [50] M-P. Charnay, S. Tius, Y. Coquet, and E. Barriuso. *Spatial variability in <sup>14</sup>C-herbicide degradation in surface and subsurface soils. Pest. Manag. Sci.*, in press :1–13, 2005.
- [51] R. Chaussod, B. Nicolardot, and G. Catroux. *Mesure en routine de la biomasse microbienne des sols par la méthode de fumigation au chloroforme. Science du Sol*, 2 :201–211., 1986.
- [52] CIRAD and INRA. *Modélisation des agroécosystèmes et aide à la décision. Repères.*, 2001. 447 pp.
- [53] S.A. Clay, C. Koskinen, R.R. Allmaras, and Dowdy R.H. *Differences in herbicide adsorption on soil using several soil pH modification techniques. J. Environ. Sci. Health*, B23 (6) :559–573., 1988.
- [54] A.M. Cook and R. Hütter. *Biodegradation of s-triazine as nitrogen sources for bacteria. J. Agric. Food Chem.*, 29 :1135–1143., 1981.
- [55] R.W. Couch, J.V. Gramlich, D.E. Davis, and H.H. Funderburk. *The metabolism of atrazine and simazine by soil fungi. Suth. Weed Cont. Conf. Proc.*, 18 :1135–1143., 1965.

- [56] L. Cox, M.C. Hermosin, and J. Cornejo. *Mobility of thiaziafluron as related to sorption and porosity properties of soils*. In *Proc. 5<sup>th</sup> Int. Workshop - Brussels*, pages 244–247., 1994.
- [57] E. Cullington and A. Walter. *Rapid biodegradation of diuron and other phenylurea herbicides by a soil bacterium*. *Soil Biol. Biochem.*, 31 :677–686., 1999.
- [58] E. Dabène, F. Marié, and C. Smith. *Caractéristiques utiles pour l'évaluation du comportement de quelques substances actives dans l'environnement*. Ministère de l'Agriculture, de la Pêche et de l'Alimentation, Paris, France., 1996.
- [59] T.H. Dao, T.L. Lavy, and R.C. Sorensen. *Atrazine degradation and residue distribution in soil*. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 43 :1129–1134., 1979.
- [60] J. Dec and J. M. Bollag. *Determination of covalent and non-covalent binding interactions between xenobiotic chemicals and soil*. *Soil Sci.*, 162 :858–874., 1997.
- [61] 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.
- [62] J. Dec and J.M. Bollag. *Determination of covalent and non-covalent binding interactions between xenobiotic chemicals and soil*. *Soil Sci.*, 162 :858–874, 1997.
- [63] J. Dec, K. Haider, A. Schaffer, E. Fernandes, and J.M. Bollag. *Use of silylation procedure and <sup>13</sup>C-NMR spectroscopy to characterize bound and sequestered residues of cyprodinil in soil*. *Environ. Sci. Technol.*, 31 :2991–2997., 1997.
- [64] J. Dec, K.L. Shuttleworth, and J.M. Bollag. *Microbial release of 2,4-dichlorophenol bound to humic acid or incorporated during humification*. *J. Environ. Qual.*, 19 :546–551., 1990.
- [65] W.A. Dekkers and F. Barbera. *Effect of aggregate size on leaching of herbicide in soil column*. *Weed Res.*, 17 :315–319., 1977.
- [66] A. A. M. Del Re and M. Trevisan. *Selection criteria of xenobiotic dissipation models in soil*. In *Proceedings of International Workshop Modelling the fate of Agrochemicals and Fertilizers in the Environment*, pages 421–435., Venice, 3-5 March 1994. European Society of Agronomy.
- [67] S. Doucet, C. Mouvet, and M. Schiavon. *Sorption of terbutylazine and atrazine in relation to the physico-chemical properties of three soils*. *Chemosphere*, 28(3) :1459–1464., 1994.
- [68] A. Farriugia. *Rôle de la microflore du sol dans le processus de formation de résidus non extractibles. Mise en évidence des compartiments biochimiques d'incorporation du carbone dans la biomasse microbienne*. Rapport de DEA, INA P-G. - INRA Grignon, INRA - Univ. Paris VI - École normale Supérieure - INA P-G., 2002.
- [69] K.J. Fermanich and T.C. Daniel. *Pesticide mobility and persistence in microlysimeters soil columns from tilled and no-tilled plot*. *J. Environ. Qual.*, 20, :195–202., 1991.
- [70] K.J. Fermanich, T.C. Daniel, and B. Lowery. *Microlysimeters soil columns for evaluating pesticide movement through the root zone*. *J. Environ. Qual.*, 20 :189–195., 1991.
- [71] K.J. Fermanich and T.C. Daniel. *Pesticide mobility and persistence in microlysimeters soil columns from a tilled and no-tilled plot*. *J. Environ. Qual.*, 20 :195–202., 1991.
- [72] K.J. Fermanich, T.C. Daniel, and B. Lowery. *Microlysimeters soil columns for evaluating pesticide movement through the root zone*. *J. Environ. Qual.*, 20 :189–195., 1991.
- [73] F. Führ. *Application of <sup>14</sup>C-labeled herbicides in lysimeters studies*. *Weed Sci.*, 33(2) :11–17., 1985.
- [74] F. Führ, H. Ophoff, P. Burauel, U. Wanner, and K. Haider. *Modification of the definition of bound residues*. In DFG, editor, *Pesticide bound residue in soil.*, volume 2, pages 175–176. Wiley-VCH, 1996.

- [75] F. Fhur, H. Ophoff, P. Burauel, U. Wanner, and K. Haider. Modification of definition of bound residues. *Pesticide Bound Residues in Soil.*, pages 175–176., 1996. Bonn.
- [76] J.C. Fournier and G Cartroux. *Mise au point d'épreuves de biodégradabilité de pesticides.* . In *Contamination des chaînes biologiques.*, Toulouse, France, 1975. Les journées du Comité Scientifique.
- [77] J.C. Fournier and G Cartroux. L'utilisation de souches de microorganismes de collection pour l'étude de la biodégradabilité des pesticides. *Chemosphere*, 9 :33–38., 1980.
- [78] T.W. Fürman and E.P. Lichtenstein. Release of soil-bound methyl  $^{14}\text{C}$ –parathion residues and their uptake by earthworms and oats plants. *J. Agric. Food Chem.*, 26 :605–610, 1978.
- [79] P. Gaillardon, R. Calvet, Rougetet E., and J.C. Gaudry. Adsorption de quelques phénylures herbicides par des acides humiques. *Weed Res.*, 20 :201–204., 1980.
- [80] D. Garfinkel. Digital computer simulation of systems apparently compartmented at the cellular level. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 108 :293., 1963.
- [81] D. Garfinkel. The digital computer as a biochemical instrument : simulation of multi-enzyme systems. *Biochem. Soc. Symp.*, 26 :81., 1966.
- [82] B. Gevao, K.T. Semple, and K.C. Jones. Bound pesticide in soils :a review. *Environ. Pollut.*, 108 :3–14., 2000.
- [83] M.C. Giardina, M.T. Giardi, and G. Filacchioni. 4-amino-2-choloro-1, 3, 5-triazine : a new metabolite of atrazine by soil bacterium. *J. Agric. Biol. Chem.*, 44 :2067–2072., 1982.
- [84] T. Golab, C.E. Bishop, A.L. Donoho, J.A. Manthey, and L.L. Zornes. Behaviour of  $^{14}\text{C}$  –oryzalin in soil and plants. *Pest. Biochem. Physiol.*, 5(5) :426–429, 1975.
- [85] A. Gong, C. Ye, X. Wang, Z. Lei, and J. Liu. Dynamics and mechanism of ultraviolet photolysis on soil surface. *Pest. Manag. Sci.*, 57 :380–385., 2001.
- [86] B. Gottesbüren. Estimation of pesticide parameters from lysimeters studies using an inverse modelling approach. In *Abstract n° 6B-015. Ninth IUPAC International Congress, 2-7 August 1998*, The Royal Society of Chemistry, London, 1998.
- [87] D.I. Gustafson. Groundwater ubiquity score : a simple method for assessing pesticide mobility. *Environ. Toxicol. Chem.*, 8 :339–357., 1989.
- [88] D.I. Gustafson and L.R. Holden. Nonlinear pesticide dissipation in soils : A new model based on spatial variability. *Environ. Sci. Technol.*, 24 :1032–1038., 1990.
- [89] J.A. Guth. Chemical structure of crop protection products and formation of non-extractable radioactivity in soil. In *Pesticide Bound Residues in Soil*. DFG Senate Commission for Assessment of Chemicals used in Agriculture., 3-4 september 1996. edition, 1996.
- [90] J.W. Hamaker and C.A.I. Göring. Turnover of pesticide residues in soil. In D.D. Kaufman, G.G. Still, G.D. Paulson, and S.K. (eds) Bandal, editors, *Bound and conjugated pesticide residues*, volume ACS symp. of 29, 1976.
- [91] R.J. Hance, S.J. Embling, D. Hill, I.J. Graham-Bryce, and P. Nicholls. Movement of fluometuron, simazine,  $^{36}\text{Cl}^-$  and  $^{144}\text{Ce}^{3+}$  in soil under field conditions : qualitative aspects. *Weed Res.*, 21 :289–297., 1981.
- [92] P.B. Hatzinger and M. Alexander. Effects of aging of chemicals in soils on their biodegradability and extractability. *Environ. Sci. Technol.*, 29 :537–545., 1995.
- [93] G. Havesey and E. Hofer. Der Austach des wassers im Fischkörper.. *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.*, 225 :28., 1934.
- [94] G. Havesey and E. Hofer. Die Verweilzeit des wassers im menschlichen Körper, untersucht mit Hilfe von "schweren" Wasser als Indicator. *Klin. Wschr.*, 13 :1524., 1934.

- [95] M.B.H. Hayes, M. Stacey, and S.M. Thompson. *Adsorption of s – triazine herbicides by soil organic matter preparations*. In I.A.E.A. Symposium, editor, *The Use of Isotope and Radiation in Soil Organic Matter Studies.*, Vienna, Austria., 15-19 July, 1968.
- [96] C. Helling and A. Krivonak. *Biological characteristics of bound dinitroaniline herbicides in soils*. *J. Agric. Food Chem.*, 26 :1164–1172, 1978.
- [97] C. Helling and A. Krivonak. *Physicochemical characteristics of bound dinitroaniline herbicides in soils*. *J. Agric. Food Chem.*, 26 :1156–1163, 1978.
- [98] G. Hevesey. *The adsorption and translocation of lead by plants*. *Biochem. J.*, 17 :439., 1923.
- [99] F. Hickey and G.L. Brownell. *Dynamic analysis of iodine metabolism in four normal subjects*. *J. Clin. Endocr. Metab.*, 14 :1423., 1954.
- [100] D. Hillel. *Computer Simulatin of Soil-Water Dynamics : a Compendium of Recent Work*. *International development Research Centre, Ottawa*, 1977.
- [101] A.G. Hornsby, R.D. Wauchope, and A.E. Herner. *Pesticides properties in the environment*. Springer-Verlag, New York Inc., 1996. 227 p.
- [102] 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.
- [103] T.S. Hsu and R. Bartha. *Hydrolysable and non hydrolysable 3,4–dichloroaniline–humus complexes and their respective rates of biodegradation*. *J. Agric. Food Chem.*, 24 :118–122., 1976.
- [104] T.S. Hsu and R. Bertha. *Hydrolysable and non hydrolysable 3,4-dichloroaniline – humus complexes and their respective rates of biodegradation*. *J. Agric. Food Chem.*, 24 :118–122., 1976.
- [105] W. Huang, M.A. Schlautman, and W.J. Weber Jr. *A distributed reactivity model for sorption by soils and sediments 5 : The influence of near-surface characteristics in mineral domains*. *Environ. Sci. Technol.*, 30, :2993–3000., 1996.
- [106] J.L. Hutson and R.J. Wagenet. *Leaching estimation and chemistry model Vers.3*. In Paris Association de Coordination Technique Agricole (ACTA), editor, *Index phytosanitaire*, 92-3, Cornell University, New York, 1992. 529 pp.
- [107] P. Jamet. *Dispersion des pesticides dans l'environnement*. In *Les produits phytosanitaires à usage agricole : conditions d'utilisation et toxicologie*. Fournier, E. and Boderf, J., technique et documentation, lavoisier edition, 1983. 189-199.
- [108] P. Jamet. *étude de la mobilité des produits phytosanitaires par chromatographie sur couche mince de sol*. In *21<sup>e</sup> Congrès du Groupe Français des Pesticides*, pages 307–310., 1991.
- [109] J.A. Jaquez. *Compartmental Analysis in Biology and Medecine*. *Elsevier Amsterdam.*, 1972.
- [110] N.J. Jarvis. *The MACRO model (version3.1). Technical description and sample simulations. Report and dissertation*. Technical Report 19, Swedish University of Agricultural Sciences, Department of Soil Science, Uppsala, Sweden, 1994.
- [111] B. Jene. *S.L.F.A. projektbericht : Weiterentwicklung des Simulationsmodells PELMO 2.01 zu PELMO 3.00*. S.L.F.A., Neustadt, Germany, 1998.
- [112] E. Jolivet. *Introduction aux modèles mathématiques en biologie*. Actualités scientifiques et agronomiques de l'INRA., 1983. 151 pp.
- [113] R.D. Jones, G.W. Black, and T.L. Estes. *Comparrison of computer model predictions with unsaturated zone field data for aldicarb and aldoxycarb*. *Env. Tox. Chem.*, 5 :1027–1037., 1986.

- [114] J.M. Jouany and E. Dabene. *Classement des substances actives phytosanitaires en vue de la surveillance de la qualité des eaux à l'échelle nationale*. In DERF, editor, *Rapport du groupe de travail Listes prioritaires du Comité de liaison*. Ministère de l'Agriculture, France, 1994. 48 pp.
- [115] J. Katan. *Binding of  $^{14}\text{C}$ parathion in soil : a reassessment of pesticide persistence*. *Science*, 193 :891., 1976.
- [116] J. Katan and E.P. Lichtenstein. *Mechanism of production of soil-bound residues of [ $^{14}\text{C}$ ]parathion by microorganisms*. *J. Agric. Food Chem.*, 25, :1404–1408., 1977.
- [117] D.D. Kaufman and J. Blake. *Degradation of atrazine by soil fungi*. *Soil Biol. Biochem.*, 2 :73–80, 1979.
- [118] D.D. Kaufman and P.C. Kearney. *Microbial degradation of s-triazine herbicides*. *Res. Rev.*, 32 :236–265, 1970.
- [119] D.D. Kaufman, G.G. Still, G.D. Paulson, and S.K. Bandal. *Bound and conjugated pesticide residues*. *Amer. Chem. Soc. Symp. Ser.*, 29, 1976.
- [120] J.W. Kelsey and M. Alexander. *Declining bioavailability and inappropriate estimation of risk persistence compounds*. *Environ. Toxicol. Chem.*, 16 :582–585., 1997.
- [121] .W. Kelsey, B.D. Kottler, and M. Alexander. *Selective chemical extractants to predict bioavailability of soil-aged organic chemicals*. *Environ. Sci. Technol.*, 31 :214–217., 1997.
- [122] K.C. Khan, S.U. Iverson. *Microbial release of unextractable (bound) residues from organic soil treated with prometryn*. *J. Agric. Food Chem.*, 1981.
- [123] S.U. Khan. *Equilibrium and finetic studies of the adsorption of 2,4-d and picloram on humic acid*. *Can. J. Soil Sci.*, 53 :429–434., 1973.
- [124] S.U. Khan. *Interactions of humic substances with chlorinated phenoxyacetic and benzoic acids*. *Environ. Letters*, 4 :141–148., 1973.
- [125] S.U. Khan. *Bound pesticide residues in soil and plants*. *Res. Rev.*, 84 :1–25, 1982.
- [126] S.U. Khan. *Distribution and characteristics of bound residues of prometryn in a agricultural soil*. *J. Agric. Food Chem.*, 30 :175–179, 1982.
- [127] S.U. Khan. *Soil organic matter. Chapitre 4 : The interaction of organic matter with pesticides.*, pages 137–171., 1994.
- [128] S.U. Khan and R.M. Behki. *Effects of Pseudomonas Species on the release of Bound – $^{14}\text{C}$  Residues from soil treated with  $^{14}\text{C}$  – atrazine*. *J. Agric. Food Chem.*, 28 :126–132., 1990.
- [129] S.U. Khan and R.M. Bekhi. *Effects of Pseudomonas species on the release on bound – $^{14}\text{C}$  residues from soil treated with  $^{14}\text{C}$  – atrazine*. *J. Agric. Food Chem.*, 38 :2090–2093., 1990.
- [130] S.U. Khan and H.A. Hamilton. *Extractable and bound (nonextractable) residues of prometryn and its metabolites in soil*. *J. Agric. Food Chem.*, 28 :126–132., 1980.
- [131] S.U. Khan and K.C. Ivarson. *Release of soil bound (non extractable) residues from organic soil treated with prometryn*. *J. Agric. Food Chem.*, 28 :126–132., 1981.
- [132] S.U. Khan and K.C. Ivarson. *Release of soil bound (nonextractable) residues by various physiological groups of microorganisms*. *J. Envir. Sci. Health*, B17(6) :737–749., 1982.
- [133] S.U. Khan and K.C. Iverson. *Release of soil (bound) residues by various physiological groups of microorganisms*. *J. Environ. Sci. Health Part B : Pest. Food Contam. Agric. Waste*, B17 :737–749., 1982.
- [134] S.U. Khan and S. Kacew. *Bound residues in corn plants treated with  $^{14}\text{C}$  – Atrazine and bioavailability to rats*. I.A.E.A, 1986.

- [135] S.U. Khan and R. Mazurkevich. *Adsorption of linuron on humic acids. Soil Sci.*, 118 :339–343., 1974.
- [136] S.U. Khan and W.J. Saidak. *Residues of atrazine and its metabolites after prolonged usage. Weed Res.*, 21 :9–12., 1981.
- [137] D. Kirkham and W. Powers. *Miscible displacement*. In Wiley Interscience, editor, *Advanced Soil physics*, New York, 1972. Kirkham, D. and Powers, W.
- [138] W. Klein and I. Scheunert. *Bound residues in soil, plant and food with particular emphasis on the application of nuclear techniques*. In International Atomic Energy Agency, editor, *Agrochemicals : fate in food and environment.*, 1982.
- [139] F.-D. Kopinke, J. Pörschmann, I. Lebelt, and U. Stottmeister. Reversible and irreversible interactions between organic pollutants dissolved in humic substances. In *Pesticide Bound Residues in Soil*. DFG Senate Commission for Assessment of Chemicals used in Agriculture, 3-4 september 1996. edition, 1996.
- [140] W.C. Koskinen, N.N. Cheng, L.J. Jarvis, and B.A. Sorensen. *Characterization of mechanisms of pesticide retention in soils using the supercritical fluid extraction technique. Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, 58 :379–385., 1995.
- [141] J. Kozak. *Adsorption of prometryn and metholachlor by selected soil organic matter fractions. Soil Sci.*, 136 :94–101., 1983.
- [142] W. Kördel, M. Heerchen, and W. Klein. Experimental assesment of pesticide leaching using undisturbed lysimeters. *Pestic. Sci.*, 31 :337–348, 1991.
- [143] W. Kördel, M. Herrchen, and W. Klein. *Experimental assessmeny of pesticide leaching using undisturbed lysimeters. Pest. Sci.*, 31 :337–348., 1991.
- [144] E.L. Kruger, L. Somasundaram, R.S. Kanwar, and J.R. Coats. *Movement and degradation of <sup>14</sup>C – atrazine in undistributed soil columns. Environ. Toxicol. Chem.*, 12 :1969–1975, 1993.
- [145] R. Kubiak, F. Führ, , W. Mittelstaedt, M. Hansper, and W.. Steffens. *Transferability of lysimeters results to actual fields situations. Wedd Sci.*, 36 :514–518., 1988.
- [146] G. Kulshrestha. *Persistence of the herbicide isoproturon in soil. Asp. Appl. Biol.*, 4 :413–422., 1982.
- [147] G. Kulshrestha and S.K. Mukerjee. *The photochemical decomposition of the herbicide isoproturon. Pest. Sci.*, 17 :489–494., 1986.
- [148] C.R. Leake. *Lysimeter studies. Pestic. Sci.*, 31 :363–399., 1991.
- [149] C.R Leake, S.P. Humphreys, and D.J. Austin. *Factors influencing the modelling of pesticide degradation in soil and the estimation of half-life (DT-50) and DT-90 values*. In A. et al. WALKER, editor, *BCPC monograph*, volume 62, pages 217–222., British Crop Protection Council, Farnham, Surrey, U.K., 1995.
- [150] J .M. Legay. *Introduction à l'étude des modèles à compartiments. Informatique et Biophèsre. Paris.*, 1973.
- [151] R.G. Lehman, J.R. Miller, and D.A Laskowski. Fate of fluroxypyr in soil : li desorption as function of incubation time. *Weed Res.*, 30, 1990.
- [152] S. Lehr, I. Scheunert, and F. Beese. *Mineralization of free and cell-wall-bound isoproturon in soils in relation to soil microbial parameters. Soil Biol. Biochem.*, 28 :1–8., 1996.
- [153] J.A. Lenheer and J. Aldrichs. *A kinetic and equilibrium study of the adsorption of carbaryl and parathion upon soil organic matter surfaces. Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 35 :700–705., 1971.

- [154] D. Levanon. Roles of fungi and bacteria in the mineralization of the pesticide atrazine, alachlor, malathion, and carbofuran in soil. *Soil Biol. Chem.*, 25(8), 1991.
- [155] J. Lhoste and P. Grison. *La Phytopharmacie Française, Chronique historique*. INRA, page 279 pp., 1989.
- [156] E.P. Lichtenstein, J. Katan, and B.N. Anderegg. Binding of "persistence" and "non persistence"  $^{14}\text{C}$  - labeled insecticides in an agricultural soil. *J. Agric. Food Chem.*, 25 :43-47., 1977.
- [157] E.P. Lichtenstein, J. Katan, and B.N. Anderegg. Binding of "persistent" and "nonpersistent"  $^{14}\text{C}$ -labeled insecticides in an agricultural soil. *J. Agric. Food Chem.*, 25 :43-47., 1977.
- [158] J. Liebich, P. Burauel, and F. Führ. Microbial transformation of nonextractable anilazine residues in liquid cultures. In *J. Agric. Food Chem.* 10<sup>e</sup>Symp. Pesticide Chemistry, 1999.
- [159] L.C. Liu, H. Cibes Viade, and F.K.S. Koo. Adsorption of atrazine and terbacil by soils. *J. Agric. Univ Puerto Rico.*, LV4 :451-460., 1971.
- [160] K. Loague and R.E. Green. Statistical and graphical methods for evaluating transport model : Overview and application. *J. Contam. Hydrol.*, 7 :51-73., 1991.
- [161] R.C. Loehr and M.T. Webster. Behaviour of fresh vs aged chemicals in soil. *J. Soil Contam.*, 5 :361-383., 1996.
- [162] L. Loiseau. *Processus de stabilisation des pesticides dans les sols : Mécanismes impliqués, caractérisation et bio-disponibilité des résidus liés (non-extractibles) de l'atrazine*. PhD thesis, Université Pierre et Marie Curie Paris-6, 2001. 165 pp.
- [163] 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.
- [164] V.H. Madhum, T.A. Freed. Degradation of the herbicides bromacil, diuron and chlortoluron in soil. *Chemosphere*, 16(5) :1003-1011, 1987.
- [165] R.T. Mandelbaum, L.P. Wackett, and D.L. Allan. Mineralization of the s-triazine ring of atrazine by stable bacterial mixed cultures. *Appl. Environ. Mic.*, 59(6) :1695-1701., 1993.
- [166] B. Marschner. Sorption von Polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen (PAK) und Polychlorierten Biphenylen im Boden. *J. Plant Nutr. Soil Sci.*, 162 :1-14., 1999.
- [167] S.P. Mathur and H.V. Morley. Incorporation of methoxychlor- $^{14}\text{C}$  in model acids prepared from hydroquinone. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 20 :268-275., 1978.
- [168] M.D. Mc Glamery and F.W. Slife. The adsorption of atrazine as affected by pH, Temperature and Concentration. *Weeds*, 14 (3) :237-239., 1996.
- [169] S.M. Melancon, J.E. Pollard, and S.C. Hern. Evaluation of S.E.S.O.I.L., P.R.Z.M., and P.E.S.T.A.N. in a laboratory column leaching experiment. *Env. Tox. Chem.*, 5 :865-878., 1986.
- [170] M. Mittelstaedt and F. Führ. residue formation in soil after repeated application of anilazine and bioavailability of the benzene ring carbonyl. In DFG Senate Commission for the Assessment of Chemicals Used in Agriculture, editor, *Pesticide Bound Residues in Soil*. Workshop organized by Führ, F. and Ophoff, H., 1996. 3-4 september 1996.
- [171] C. Müller. *Modelling Soil-Biosphere Interactions*. CABI Publishing, 10E 40<sup>th</sup> Street Suite 3203 New York, NY 10016SA, 2000. 354 pp.
- [172] J.L. Monteith and M.H. Unsworth. *Principles of Environmental Physics*. 2<sup>nd</sup> edn. Edward Arnold, London, 1990.

- [173] C. Mougin, C. Laugero, M. Asther, J. Dubroca, Frasse P., and M. Asther. *Biotransformation of the herbicide atrazine by the White Rot Fungus*. *Appl. Environ. Mic.*, 60(2) :705–708., 1994.
- [174] C. Mouvet. *La problématique du transfert des phytosanitaires vers les eaux souterraines*. In *Actes du séminaire national Produits phytosanitaires : processus de transfert et modélisation dans les bassins versants*, pages 141–149. CEMAGREF., 1996.
- [175] P.J. Mudd, R.J. Hance, and S.J.L. Wright. *The persistence and metabolism of isoproturon in soil*. *Weed Res.*, 23 :239–246., 1983.
- [176] T. Mueller, R.E Jones, P.B. Bush, and P.A. Banks. *Comparison of P.R.Z.M. and G.L.E.A.M.S. computer model predictions with field data alachlor, metribuzin and norfluzuron leaching*. *Env. Tox. Chem.*, 11 :427–436., 1992.
- [177] I. Nagy, F. Compernelle, K. Guys, J. Vanderleyden, and R. De Mot. *A single cytochrome P-450 system is involved in degradation of herbicide EPTC (s-ethyl dipropylthiocarbamate) and atrazine by Rhodococcus sp. Strain N186/21*. *Appl. Microbiol.*, 61 :2056–2060., 1995.
- [178] D.C. Nearpass. *Adsorption of picloram by humic acids and humin*. *Soil Sci.*, 121 :272–277., 1976.
- [179] G. Nicollier and B. Donzel. *Release of  $^{14}C$  – residues from plants and soil using microwave extraction*. In *8<sup>th</sup> IUPAC International Congress of Pesticide Chemistry.*, page 961., 1994.
- [180] D.L. Nofziger and A.G. Hornsby. *C.M.L.S. 94 Chemical Movement in Layered Soils*. Dir. of Agricultural Sciences and Natural Resources, Oklahoma State University, 1994. 76 pp.
- [181] H. Parlar. *Geochemical induced degradation of environmental chemicals*. *Anal. Chem.*, 319 :114–118., 1984.
- [182] R.S Parrish and C.N. Smith. *A method for testing whether model predictions fall within described factor of true values, with an application to pesticide leaching*. *Modelling*, 51 :59–72., 1990.
- [183] C. Perrin-Ganier. *Dispersion et transformation de l'isoproturon dans le sol et l'eau*. PhD thesis, Institut National Polytechnique de Lorraine - ENSAIA, 1995. 158 pp.
- [184] C Perrin-Ganier, M. Schiavon, J.M. Portal, and M. Babut. *Dégradation de l'isoproturon et disponibilité de ses résidus dans le sol*. *Weed Res.*, 34 :257–263., 1995.
- [185] W. Pestemer and P. Günter. *Use of an expert system for herbicide selection considering the leaching and degradation behaviour in soils*. *Proc. 9<sup>th</sup> Symp. Pestic. Chem., Lucca*, pages 755–767., 1993.
- [186] J.T. Peterson, R.S. Jr. Adams, and L.K. Cutkomp. *Soil properties influencing DDT bioactivity*. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 35 :72–78., 1971.
- [187] J.J. Pignatello and B. Xing. *Mechanisms of slow sorption of organic chemicals to natural particles*. *Environ. Sci. Technol.*, 30 :1–11., 1996.
- [188] N. Pons. *Effet de l'apport de matières organiques exogènes sur le devenir de l'atrazine dans un sol : rôle des différentes populations microbiennes*. Rapport de dea, Université de Metz - INRA Grignon, Centre des Sciences de l'Environnement, 1994.
- [189] H. Printz, P. Burauel, and F. Führ. *Effect of organic amendment on degradation and formation of bound residues of Methabenzthiazuron in soil under constant climatic conditions*. *J. Environ. Sci Health*, B30 :435–456., 1995.
- [190] S. Pätzold and W. Brümmer. *Influence of microbial activity and soil moisture on herbicide immobilization in soils*. *J. Plant Nutr. Soil Sci.*, 166 :336–244., 2003.

- [191] 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, 1997.
- [192] C.S. Ragle, R.R. Engebretson, and R. Von Wandruszka. The sequestration of hydrophobic micropollutants by dissolved humic acids. *Soil Sci.*, 162 :106–114., 1997.
- [193] S. Reuter and I. Scheunert. Formation and release of soil-bound residues of  $^{14}\text{C}$  – isoproturon during the humification of organic matter. In DFG Senate Commission for the Assessment of Chemicals Used in Agriculture., editor, *Pesticide Bound Residues in Soil*. Workshop organized by Führ, F. and Ophoff, H., 1996. 3-4 september 1996.
- [194] B.E. Richter, B.A. Jones, J.L. Ezzell, N.L. Porter, N. Avdalovic, and C. Pohl. Accelerated solvent extraction : a technique for sample preparation. *Anal. Chem.*, 68 :1033–1039, 1996.
- [195] T.R. Roberts, W. Klein, G.G. Still, P.C. Kearney, N. Dresher, J. Desmora, H.O. Esser, N. Aharonson, and J.W. Vonk. Non-extractable pesticide residues in soils and plants. *Pure Appl. Chem.*, 56 :945–956, 1984.
- [196] B. Robertson and M. Alexander. Sequestration of DDT and dieldrin in soil : Disappearance of acute toxicity but not compounds. *Environ. Toxicol. Chem.*, 17 :1038 –1043., 1998.
- [197] B. Robertson and J.N. Lester. Sequestration of DDT and dieldrin in soil : Disappearance of acute toxicity but not the compounds. *Environ. Toxicol. Chem.*, 17 :1038–1043., 1994.
- [198] A. Saxena and R. Bartha. Microbial mineralization of humic acid-3,4-dichloroaniline complexes. *Soil Biol. Biochem.*, 15 :59–62., 1983.
- [199] A. Saxena and R. Bartha. Modeling of covalent attachment of chloroaniline residues to quinoidal sites of humus. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 30 :485–492., 1983.
- [200] I. Scheunert and S. Reuter. Formation and release of residues of the  $^{14}\text{C}$  –labelled herbicide isoproturon and its metabolites bound in model polymers in soil. *Environ. Pollut.*, 108 :61–68., 2000.
- [201] I. Scheunert, J. Schmitzer, W. Klein, and F. Korte. Formation and fate of bound residues of  $^{14}\text{C}$  – benzene and  $^{14}\text{C}$  – chlorobenzene in soil and plants. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 9 :159–170., 1985.
- [202] I. Scheunert and P. Schröder. Formation, characterization and release of non-extractable residues of [ $^{14}\text{C}$ ]-labelled organic xenobiotics in soils. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 5 :236–244, 1998.
- [203] M. Schiavon. Contribution à l'étude du mouvement et de la dégradation de l'atrazine dans deux sols agricoles drainés. PhD thesis, Institut National Polytechnique de Lorraine-INPL, Nancy., 1980. Doctorat ès Sciences.
- [204] M. Schiavon. Studies of the movement and the formation of bound residues of atrazine, of its chlorinated derivatives, and of hydroxyatrazine in soil using  $^{14}\text{C}$  ring – labeled compounds under outdoor conditions. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 15 :55–61., 1988.
- [205] M. Schiavon, F. Jacquin, and C. Goussault. Blocage des molécules s-triaziniques par la matière organique. In *Soil Organic Matter Studies*, II, pages 327–332. I.A.E.A., 1977.
- [206] M. Schiavon, J.M. Portal, and F. Andreu. Blocage de molécules S-triaziniques par la matière organique. In *Rapport IAEA-SM*, volume 211/78, 1992. 327-332.
- [207] M. Schiavon and G. Soulas. Etude de la contamination des eaux de drainage et de la matière organique du sol par l'atrazine et ses dérivés de dégradation. In Ministère de l'Environnement, editor, *Convention n° 81398*, France, 1983.
- [208] Cherwell Scientific. *Model Maker. User Manual Version 3*. Cherwell Scientific Publishing Limited, The Magdalena Centre, Oxford Science Park, Oxford OX4 4GA GB, 1997.

- [209] K.M. Scow. *Effects of sorption-desorption and diffusion processes on the kinetics of biodegradation of organic chemicals in soil*. In *SSSA special publication*, volume 32, pages 73–114., SSSA, Madison, Wis., USA, 1993.
- [210] N. Senesi. *Binding mechanisms of pesticides to soil humic substances*. *Sci. Total Environ.*, 123/124 :63–76., 1992.
- [211] N. Senesi. *Organic pollutant migration in soils as affected by soil organic matter. Molecular and mechanistic aspects*. *NATO ASI Series*, 32, :47–74., 1993.
- [212] N. Senesi, G. Padovano, G. Loffredo, and C. Testini. *Interactions of amitrole, alachlor and cycloate with humic acids*. In *2<sup>nd</sup> International Conference on Environmental Contamination*, pages 169–171., 1986.
- [213] N. Senesi and C. Testini. *Physico-chemical investigations of interaction mechanisms between s – triazine herbicides and soil humic acids*. *Geoderma*, 28 :129–146., 1982.
- [214] C.W. Sheppard. *The theory of the study of transfers within a multi-compartment system using isotopic tracers*. *Appl. Phys.*, 19 :70., 1948.
- [215] C.W. Sheppard and A.S. Householder. *The mathematical basis of interpretation of tracer experiments in closed steady systems*. *J. Appl. Phys.*, 22 :510., 1951.
- [216] T.D.G. Siriwardana, A.M. Blair, and B.O. Barlett. *The leaching of chlortiluron, isoproturon and metoxyron as determined by bioassay of soil columns*, volume 309–317., chapter Theory and practice of the use of soil applied herbicides. Proc. EWRS Symp., 1981.
- [217] R.A. Smith, W.S. Belles, K.W. Shein, and W.G. Woods. *The degradation of ditriamine in soil*. *Pest. Biochem. Physiol.*, 3 :278–288., 1973.
- [218] S.R. Sorensen and J. Aamand. *Biodegradation of the phenylurea herbicide isoproturon and its metabolites in agricultural soils*. *Biodegradation*, 12 :67–77., 2001.
- [219] S.R. Sorensen, G.D. Bending, C.S. Jacobsen, A. Walker, and J. Aamand. *Microbial degradation of isoproturon and related phenylurea herbicides in and below agricultural fields*. *FEMS Microbiology Ecology*, 45 :1–11., 2003.
- [220] S.R. Sorensen, Z. Ronen, and J. Aamand. *Isolation from agricultural soil and characterization of a *Sphingomonas* sp. able to mineralize the phenylurea herbicide isoproturon*. *Environ. Microbiol.*, 67 :5403–5409., 2001.
- [221] G. Soulas, R. Chaussod, and A. Verguet. *Chloroform fumigation technique as a mean of determining the size of specialized soil microbial populations; application to pesticide-degrading microorganisms*. *Soil Biol. Biochem.*, 16 :497–501., 1984.
- [222] R. Steiman, F. Seigle-Murandi, J.L. Benoît-Guyot, G. Merlin, and M. Kadri. *Assesment of isoproturon degradation by soil fungi*. In *Proc. 5<sup>th</sup> Int. Workshop*, Brussels, Belgium, 1994.
- [223] STET. *Council directive 95/36/EC of July 1995 amending Council directive 91/414/EC concerning the placing of plant protection products on the markets*. *Off. J. L.*, pages 8–20., 1995.
- [224] G. Stucki, C.W. Yu, T. Baumgartner, and J.F. Gonzalez-Valero. *Microbial atrazine mineralization under carbon limited and denitrifying conditions*. *Wat. Res.*, 29 :291–296., 1994.
- [225] S. Thiele and G.W. Brümmer. *Influence of soil moisture on the remobilization of previously bound PAH residues in contaminated soils*. In DFG Senate Commission for the Assessment of Chemicals Used in Agriculture, editor, *Pesticide Bound Residues in Soil*. Workshop organized by Führ, F. and Ophoff, H., 1996. 3–4 september 1996.

- [226] A. Tiktak, A.M.A. van den Linden, and F.A. Swarjes. *PESTRAS : A one-dimensional model for assessing leaching and accumulation of pesticides in soil*. National Institute of Public Health and the Environment, Bilthoven, the Netherlands, 1994. Report n° : 715501003.
- [227] C. Tixier, P. Bogaerts, M. Sancelme, F. Bonnemoy, T. Twagilimana, A. Cuer, J. Bohatier, and H. Veschambre. *Fungal biodegradation of phenylurea herbicide, diuron : structure and toxicity of metabolites*. *Pest. Manag. Sci.*, 56 :455–462., 2000.
- [228] C. Tixier, M. Sancelme, S. Aït-Aïssa, P. Widehem, F. Bonnemoy, A. Cuer, N. Truffaut, and H. Veschambre. *Biotransformation of phenylurea herbicides by soil bacterial strain, Arthrobacter sp. N2 : structure, ecotoxicity and fate of diuron metabolite with soil fungi*. *Chemosphere*, 46 :519–526., 2002.
- [229] M. Trevisan, E. Capri, S.P. Evans, and A.A.M. Del Re. *Validation and comparison of pesticide soil transport models for field dissipation of metamiltron*. In *Proceedings of 5<sup>th</sup> Intern. Workshop on Environment Behaviour of Pesticides and Regulatory Aspects*, pages 501–508., Brussels, 26–29 april. 1994.
- [230] M. Trevisan and A.A.M. Capri, E. and Del Re. *Evaluation of pesticide leaching models using three italian datasets*. In *Pesticide Movement to Water*, volume 62, pages 269–274. BCPC Monograph, 1995.
- [231] C.C. Truman, R.A. Leonard, and F.M. Davis. *GLEAMS-TC : A two-compartment model for simulating temperature and soil water content effects on pesticide losses*. *Soil Sci.*, 163 :362–373, 1998.
- [232] K. Venkateswarlu and N. Sethunathan. *Longterm studies on the fate of 3,4 – dichloronikline<sup>14</sup>C in a plant-soil system unde outdoor conditions*. *Can. J. Soil Sci.*, 57 :243–259., 1979.
- [233] R. Viswanathan, I. Scheunert, W. Klein, and F. Korte. *Longterm studies on the fate of 3,4-dichloroaniline<sup>14</sup>C in a plant-soil system under outdoor conditions*. *J. Environ. Sci. Health Part B : Food Contam. Agric. Wastes*, 13 :243–259., 1978.
- [234] G.H. Wagner and K.S. Chahal. *Decomposition of carbon<sup>14</sup> labeled atrazine in soil samples from sanborn field*. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 30, 1966.
- [235] G.H. Wagner and K.S. Chahal. *Decomposition of <sup>14</sup>Carbon Labeled Atrazine in Soil Samples from Sanborn field*. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 30 :752–754., 1996.
- [236] A. Wais. *Non-extractable residues of organic xenobiotics in soil*. In Deutsche Forschungsgemeinschaft, editor, *Pesticide bound residues in soil.*, pages 5–35., 1998.
- [237] A. Wais, P. Burauel, and C. Roggelin. *Time-dependant formation of covalent bounds in model systems*. In DFG Senate Commission for the Assesment of Chemicals Used in Agriculture, editor, *Pesticide Bound Residues in Soil*. Workshop organized by Führ, F. and Ophoff, H., 1996. 3–4 september 1996.
- [238] A. Walker. *Simulation of herbicide persistence in soil : A revised computer model*. *Pestic. Sci.*, 12 :123–132, 1978.
- [239] A. Walker. *Evaluation of a simulation model for predicting of herbicide movement and persistence in soil*. *Weed Res.*, 27 :143–152., 1987.
- [240] A. Walker. *ModelMaker*. Cherwell Scientific Publishing, Oxford, 1997.
- [241] A. Walker and C.R. Austin. *Effect of recent cropping history and herbicide use on the degradation rates of isoproturon in soil*. *Weed Res.*, 44 :5–11., 2003.
- [242] A. Walker and A. Barnes. *Simulation of herbicide persistence in soil : A revised computer model*. *Pestic. Sci.*, 12 :123–132, February 1981.

- [243] A. Walker and D.V. Crowford. *The role of organic matter in adsorption of triazine herbicides by soil*. In International Atomic Energy Agency, editor, *Isotopes and Radiation in Soil Organic-Matter Studies.*, pages 91–108., Vienna, Austria., 1968.
- [244] A. Walker, A. Melancini, R. Calvet, U. Baer, A.A.M. Del Re, M. Trevisan, W. Pestemer, P. Guenther, J. Hollis, and C. Brown. *Evaluation and improvement of mathematical models of pesticide mobility in soil and assessment of their potential to predict contamination of water systems*. Technical report, Research Report for EC, 1995. Contrat EV5V-CT92-0226.
- [245] J.B. Weber. *Adsorption of s-triazines and montmorillonite as a function of pH and molecular structure*. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 34 :401–404., 1972.
- [246] J.B. Weber and S.B. Weed. *Adsorption and desorption of Diquat, Paraquat, and prometryne by montmorillonitic and kaolinitic clay minerals*. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 32 :485–487., 1969.
- [247] J.B. Weber, S.B. Weed, and T.M. Ward. *Adsorption of s-triazines by soil organic matter*. *Weed Sci.*, 17, :417–421., 1969.
- [248] J.C. White, J.W. Kelsey, P.B. Hatzinger, and M. Alexander. *Factors affecting sequestration and bioavailability of phenanthrene in soils*. *Environ. Sci. Technol.*, 16 :2040–2045., 1997.
- [249] P.G. Wisloski and A.Y.H. Liu. *Formation and biological evacuation of ronidale bound residues*. *Drug Metabolism reviews*, 22(6–8) :649–661, 1990.
- [250] D.C. Wolf and J.P. Martin. *Microbial decomposition of ring  $-^{14}C$  atrazine, Cyanuric acid, and 2-Chloro-4, diamino-s-triazine*. *J. Environ. Qual.*, 4(1) :134–139., 1975.
- [251] D.C. Wolf and J.P. Martin. *Decomposition of fungal mycelia and humic-type polymers containing carbon-14 from ring and side-chain labelled 2-D and chlorpropham*. *Soil Sci. Am. Proc.*, 40 :700–704., 1976.
- [252] B.L. Worobey and G.R.B. Wester. *Pyrolytic release of tightly complexed 4-chloroaniline from soils and soil humic acids*. *J. Agric. Food Chem.*, 30 :164–169., 1982.
- [253] H. Xie, T.F. Guetzloff, and J.A. Rice. *Fractionation of pesticide residues bound to humin*. *Soil Sci.*, 162(2) :421–429., 1997.
- [254] B. Xing and J.J. Pignatello. *Dual-mode sorption of low-polarity compounds in glass poly(vinyl chloride) and soil organic matter*. *Environ. Sci. Technol.*, 31 :792–799., 1997.
- [255] B. Yaron. *General principles of pesticide movement to ground water*. *J. Agric. Ecosyst. Environ.*, 26 :275–297, 1989.
- [256] D. Yee, P Weinberger, and Khan; S.U. *Release of soil-bound prometryn residues under different soil pH and nitrogen fertilizer regimes*. *Weed Sci.*, 33 :882–887., 1985.
- [257] I-S. You and R. Bartha. *évaluation of the blieidner technique for analysis of soil-bound 3,4-dichloroaniline residues*. *J. Agric. Food Chem.*, 30 :1143–1147., 1982.
- [258] D.B. Zilversmit, C. Entenman, and M.C. Fisher. *On the calculation of turnover time and turnover rate from experiments involving the use of labeling agents*. *J. Gen. Physiol.*, 26 :325., 1943.





## Annexe A

# Étude comparée des techniques d'extraction et possibilités d'automatisation

### Introduction

*Les techniques classiques d'extraction de polluants organiques du sol font appel à l'action de solvants le plus souvent organiques. D'autres techniques alternatives se développent et sont à l'étude pour diminuer les temps d'extraction, automatiser les différentes opérations, diminuer les volumes ou remplacer les solvants organiques. Nous avons voulu étudier la possibilité de remplacement de la technique par agitation ou batch, utilisée dans ce travail, par une autre technique pouvant être automatisable et permettant un traitement plus rapide des échantillons. Cette technique met en œuvre l'utilisation des solvants (aqueux ou organiques) à haute température et sous pression. Dionex a commercialisé un appareil (Dionex ASE 200) permettant l'automatisation des extractions, le but recherché étant d'adapter et de standardiser une méthode d'extraction combinant une bonne efficacité d'extraction (rendements d'extraction élevés) et une bonne reproductivité. Ce dernier point est fondamental pour pouvoir mettre en évidence des variations temporelles de concentration à long terme, en s'assurant d'une contribution minimale des techniques analytiques à la variance globale des résultats obtenus. Pour réaliser cela, les techniques d'extraction automatisables devraient permettre de se placer dans des conditions optimales de reproductivité.*

### Matériels et méthodes

#### - Sol et pesticide

*Nous avons utilisé deux échantillons du sol GB (Grignon, monoculture de blé) décrit précédemment dans ce travail (voir tableau 2.1) : un échantillon non incubé ( $GB_{ni}$ ) et un échantillon incubé ( $GB_{inc}$ ). De la  $^{14}C$ -atrazine (Sigma Chemical, USA, fig. 2.1) a été utilisée. Ses caractéristiques sont données dans le tableau 2.2.*

## - Les incubations

L'équivalent de 50 g de sol sec (62,15 g de sol frais) sont tamisés à 5 mm et placés dans des bocaux en verre hermétiquement fermés. On y ajoute  $1,8 \pm 0,2$  ml de solution aqueuse radioactive de  $^{14}\text{C}$ -atrazine ( $2,3 \text{ MBq.kg}^{-1}$ ) avant une incubation qui a duré une année (échantillon  $GB_{inc}$  Loiseau, 2001) en conditions contrôlées. Les incubations ont été menées dans les mêmes conditions que dans notre travail (voir chapitre 2, partie B). L'autre échantillon ( $GB_{ni}$ ) a reçu de la  $^{14}\text{C}$ -atrazine le jour des extractions.

## -Extraction par l'eau et par le méthanol à l'aide de la méthode A.S.E. (Accelerated Solvent Extraction)

L'extraction par l'eau est réalisée à une température qui varie de la température ambiante à  $200^\circ\text{C}$ , mais avec suffisamment de pression pour maintenir l'eau à l'état liquide. À  $25^\circ\text{C}$ , l'eau a une constante diélectrique de  $\varepsilon = 80$  qui fait d'elle un solvant extrêmement polaire. La solubilité des composés organiques non polaires est par conséquent très faible (Yang et al., 1997). La constante diélectrique est moins dépendante de la pression qu'elle ne l'est de la température (Yang et al., 1995). Plus la température est élevée, plus  $\varepsilon$  diminue comme l'indique l'équation ci-après (Akerlof et Oshry, 1950) :

$$\varepsilon = \frac{5321}{T} + 233.76 - 0.9297T + 1.417 \cdot 10^{-3}T^2 - 8.292 \cdot 10^{-7}T^3$$

Avec  $T$  : température (en  $^\circ\text{K}$ ).

D'après cette équation, la constante diélectrique ( $\varepsilon$ ) peut être diminuée par l'augmentation de la température. C'est pourquoi selon les résultats obtenus par Yang et al. (1995), elle est réduite de 80 à température ambiante à  $27$  à  $250^\circ\text{C}$  (pour des pressions variant de  $5,1 \cdot 10^6$  à  $3,5 \cdot 10^7 \text{ Pa}$ ). Cette valeur est comparable à celle des solvants organiques ( $\varepsilon = 33$  pour le méthanol et  $\varepsilon = 24$  pour l'éthanol).

Cette méthode d'extraction par l'eau subcritique a pour avantage de réduire, d'une part la haute énergie cohésive de l'eau, responsable de la faible solubilité des composés non polaires ; et d'autre part, la capacité de l'eau à établir des liaisons hydrogènes (Pawlowski et Pool, 1999). En conséquence, l'extraction à l'eau subcritique augmente considérablement la solubilité des composés organiques faiblement polaires. Pour la réaliser, nous avons eu recours à l'extracteur A.S.E. (Dionex ASE 200), qui a aussi été utilisé pour réaliser des extractions avec le méthanol.

### 1 - Extractions par A.S.E. et batch.

L'extracteur A.S.E. (Dionex ASE 200, fig. A.1) permet l'extraction des matrices solides à haute température et sous pression, de manière à permettre au solvant de rester à l'état liquide.

Il utilise un dispositif qui accélère les processus traditionnels d'extraction, permettant de faire des extractions successives sur le même échantillon d'une manière automatique. Les extractions sont effectuées en utilisant l'eau et/ou le méthanol comme solvants à des températures qui s'échelonnent de la température ambiante à  $200^\circ\text{C}$ , selon un processus d'extraction en plusieurs étapes :

1. dans la cellule d'extraction en acier de 22 ml, on introduit une quantité variable de sol (sol  $GB_{inc}$  ou  $GB_{ni}$ ) préalablement incubé ou fraîchement mélangé avec de la  $^{14}\text{C}$ -atrazine, et une quantité variable d'une silice appelée "hydromatrix" (pour favoriser l'extraction de la matière organique), de manière à avoir l'équivalent de 20 g (sol + hydromatrix) au maximum dans la cellule. Un filtre en fritté est posé sur chacune de ses extrémités avant fermeture de la cellule. Celle-ci est, par la suite, chargée dans l'extracteur où toutes les étapes ci-dessous se font automatiquement :
2. chargement de la cellule dans le four à la température programmée ;

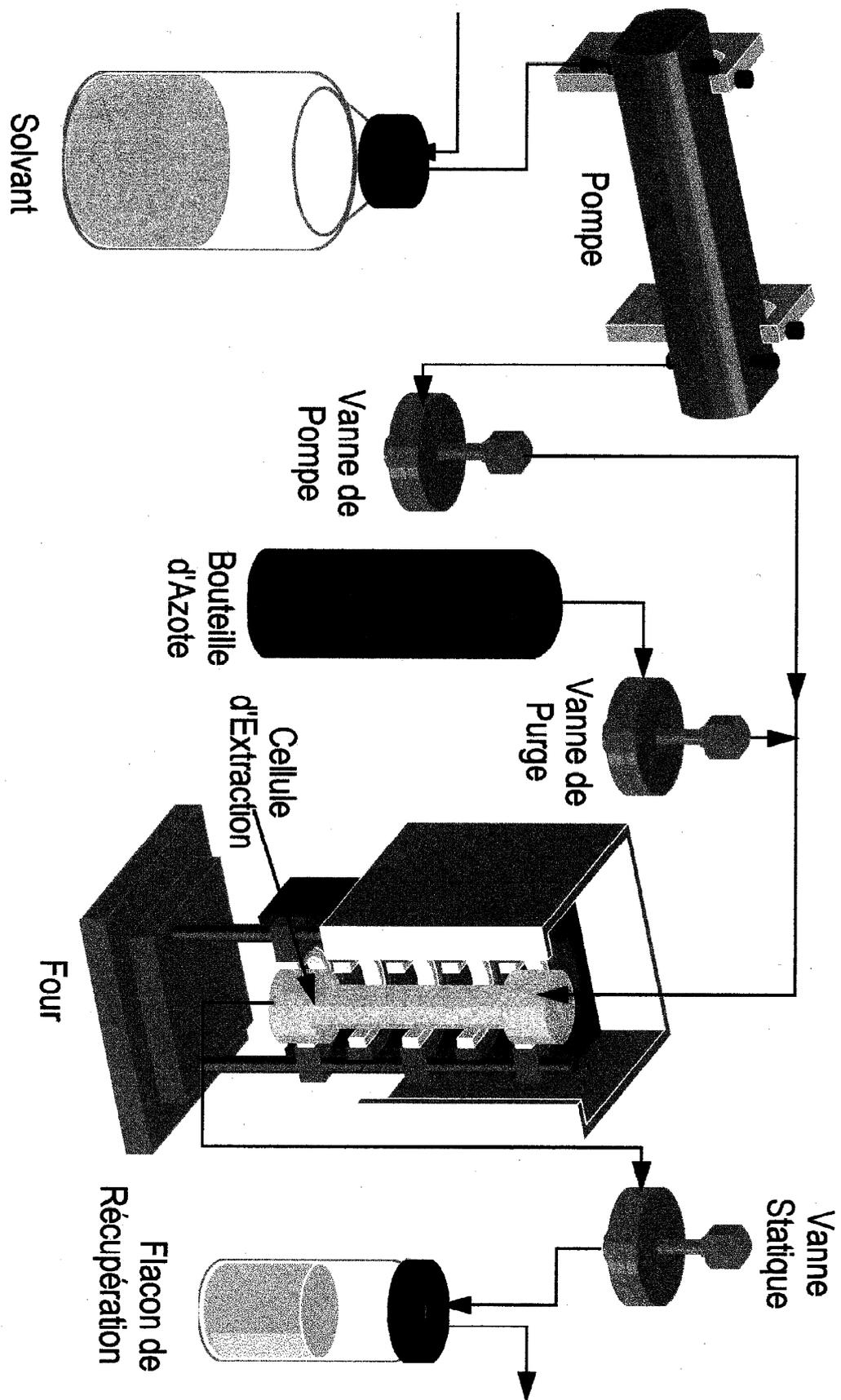


FIG. A.1 – Composants opérationnels de l'extracteur A.S.E.

3. remplissage de la cellule avec le solvant;
4. chauffage et mise sous pression de la cellule;
5. maintien de l'échantillon de sol dans des conditions de température et de pression (constantes) pendant un temps défini comme le "temps statique");
6. extraction par le solvant;
7. rinçage de la cellule avec un volume programmé du solvant d'extraction;
8. purge du solvant de la cellule et des circuits.

Le plateau de chargement automatique de l'extracteur A.S.E. peut contenir 30 cellules, chacune pouvant être programmée et paramétrée différemment. Les plages de variation des paramètres d'extraction devant être optimisés sont : la température, elle peut varier de la température ambiante à 200°C; la pression, de  $6,9 \cdot 10^6$  à  $2,07 \cdot 10^7$  Pa; le temps statique de 0 à 99 min et le nombre de cycles ou nombre de fois que les étapes de rinçage sont effectuées varie de 1 à 5. Le volume de solvant nécessaire au rinçage peut être de 1 à 100% du volume de la cellule, le temps de purge avec de l'azote sous pression variant de 20 à 300 s.

Trois répétitions sont effectuées pour chaque échantillon et pour chaque cellule, alors que chaque répétition d'échantillon d'un sol donné subit, selon le cas, des extractions à l'eau ou au méthanol ou à l'eau suivie du méthanol. Après le passage de la cellule dans le module d'extraction, autour de 30 ml d'extraits sont récupérés. En parallèle, et à titre comparatif, des extractions par agitation ont été réalisées comme décrits dans le chapitre 2 (partie D2) sur trois répétitions par échantillons.

## - Les analyses

Après extraction, le volume des extraits aqueux et méthanoliques est estimé par pesée. Trois aliquotes de 0,5 ml sont prélevées sur chaque répétition et leur radioactivité est mesurée par scintillation en milieu liquide à l'aide du compteur de  $^{14}\text{C}$  TriCarb 2100 TR Packard, utilisant 4 ml de l'Ultima Gold (Packard) comme liquide scintillant.

Les sols restant après extraction et rinçage de la cellule (pour les extractions A.S.E.), ou les culots d'extraction (extractions par batch), contenant les résidus de pesticides non extractibles, sont séchés à l'air sous une hotte pendant 5 j, puis finement broyés dans un mortier en agate. Leur teneur en  $^{14}\text{C}$  est mesurée sur des aliquotes de 200 mg après combustion à l'aide d'un oxidizer Packard model 307. Le  $^{14}\text{C} - \text{CO}_2$  dégagé est piégé par une solution de Carbosorb (Packard), puis mélangé à du Permafluor (Packard) utilisé comme liquide scintillant. Au moins 3 aliquotes sont analysées pour chaque échantillon.

La mesure du carbone organique total en solution a été faite sur les extraits aqueux pour apprécier la capacité de la méthode d'extraction à extraire la matière organique du sol. Une aliquote de 250  $\mu\text{l}$  d'extrait aqueux est automatiquement prélevée et analysée par un analyseur de carbone total (TOC-5050 A., Shimadzu).

Des analyses par chromatographie liquide (CLHP) ont été réalisées après concentration des extraits. Les extraits aqueux sont concentrés à l'aide des cartouches ENV<sup>+</sup> (IST Isolute<sup>®</sup>) de 3,0 ml contenant un adsorbant solide à base de polystyrène, selon la méthode mise au point par Loiseau (2001). Les extraits méthanoliques sont concentrés par évaporation sous vide jusqu'à un volume de 3 ml. Une aliquote de 0,5 ml de cette solution est prélevée puis filtrée à 0,45  $\mu\text{m}$  (filtres MSI Westbow). L'analyse chromatographique s'effectue selon la méthode discutée dans le chapitre 2 (partie D3) du présent travail.

## Résultats et discussion

### - Optimisation des paramètres d'extraction par A.S.E.

#### 1 - Préparation des échantillons de sol et conséquences sur l'extraction :

Tab. A.1 – Paramètres d'extraction au cours des premiers essais

Température ( ° C)	Pression (Pa)	Nb. cycles	Flush (% V)	Temps		
				Statique (mn)	Purge (s)	Chauffage (mn)
21	6, 9.10 <sup>6</sup>	1	100	10	140	1

L'application des paramètres standard d'extraction (tab. A.1) sur le sol GB<sub>ni</sub> provoque des problèmes liés à la perte de perméabilité de l'échantillon à l'intérieur de la cellule, par l'effet conjoint du gonflement du sol par hydratation et du tassement provoqué par la pression. La conséquence est un dysfonctionnement de l'extracteur, caractérisé par le colmatage et des fuites en tête de la cellule. Pour augmenter la porosité et rigidifier l'échantillon, différentes modifications de matrice ont été testées : célite, célite mélangé alternativement avec du sable, de sol ou de deux types de mélanges 50/50 sol/billes de verre ou sol/sable (1/3 et 2/3). Dans tous les cas, il n'y a pas eu de résultats concluants, indépendamment de la température d'extraction. On observe également, en fin d'extraction, un tassement du sol dans la cellule et la présence d'eau dans les vides laissé à l'intérieur de la cellule, au dessus du sol tassé. L'eau disparaît dès qu'on rallonge le temps de purge à 300 s, ou en conservant le même temps de purge, mais en fixant le pourcentage (flush) du volume de rinçage à 50%. Le phénomène de tassement est résolu avec des mélanges 50/50 de sable grossier ou de sable fin avec de la silice "hydromatrix" (Varian). Dans les proportions du mélange sol/sable fin, les mélanges favorisant des extractions optimales, après des essais, correspondent pour ce sol à : 1/2 ou 3/4, et pour le mélange sol/hydromatrix à 1/1, soit 6 g de sol et 6 g d'hydromatrix pour une cellule d'extraction.

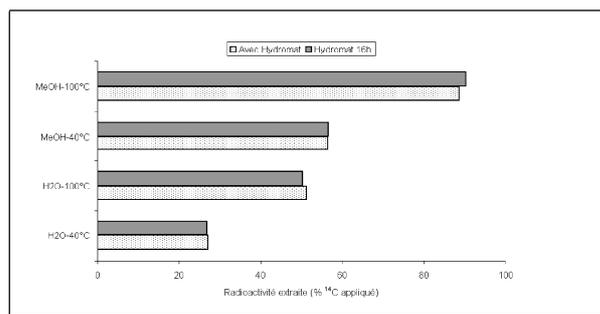


FIG. A.2 – Influence de la silice " hydromatrix " sur le dispositif d'extraction A.S.E.

L'usage de l'hydromatrix dans le dispositif d'extraction A.S.E. évite le tassement du sol dans la cellule, d'une part; et d'autre part, il réduit la quantité d'eau résiduelle et facilite le passage du solvant à travers la matrice du sol. Par ailleurs, ce produit semble ne pas influencer les rendements d'extraction. En effet, en comparant les extraits aqueux et méthanoliques d'un mélange sol/hydromatrix (1/1) additionné avec la <sup>14</sup>C-atrazine (cas-1) et ceux d'un sol avec la même quantité de <sup>14</sup>C-atrazine mais auquel on a ajouté une quantité équivalente d'hydromatrix 16 h après l'application (cas-2), on constate que les quantités de <sup>14</sup>C extraites sont les mêmes, les rendements étant comparables dans les deux cas : respectivement dans les deux cas, 27,1% et 26,8% de la radioactivité initiale sont extraits par l'eau à 40°C et 50,3 et 51,2% extraits par le méthanol à 100°C (fig. A.2).

L'influence de l'hydromatrix sur les extractions a été étudiée avec des échantillons sol/hydromatrix ou sol seul sans apport d'atrazine (tab. A.2). Le temps d'extraction et la quantité d'hydromatrix mélangée

avec le sol influent sur les quantités de carbone organique ( $C_{org}$ ) extraites. Plus ce temps augmente, plus les quantités de  $C_{org}$  extraites sont importantes, mais avec un meilleur rendement pour l'extraction de 15 g de sol seul pendant 15 min. Au delà de ce temps, les quantités de  $C_{org}$  extraites décroissent. Quelque soit le "temps statique", il est extrait plus de  $C_{org}$  dans les mélanges 6 g de sol et 6 g d'hydromatrix" (rapport 1/1, m/m) que dans tous les autres mélanges où le sol est seul. Mais quelque soit le cas, on n'observe ni fuites, ni colmatage des cellules.

TAB. A.2 – Rendements d'extraction du carbone organique ( $C_{org}$ ) dans les mélanges sol-hydromix. Effets du temps statique et de la quantité d'hydromatrix ajoutée sur l'extraction ( $C_{org}$  est donné en  $mg.l^{-1}$ ).

Temps statique (min)	Poids échantillon sol/Hydromatrix (g)	$C_{org}$
5	20/00	0,5
	15/00	0,7
	10/00	0,8
	6/6	1,0
10	20/00	0,3
	15/00	0,8
	10/00	0,1
	6/6	1,1
15	20/00	0,8
	15/00	1,3
	10/00	1,5
	6/6	2,2
20	20/00	0,8
	15/00	0,9
	10/00	1,2
	6/6	1,2

Le fait d'obtenir des rendements considérables sans utilisation d'hydromatrix a pour avantage de disposer d'échantillons de sol homogènes. La présence d'hydromatrix (ou d'autres additifs) pose le problème de récupération des échantillons après extraction, si l'on veut faire des études complémentaires sur les résidus non extractibles, par exemple. C'est pour quoi dans la suite de ce travail, nous n'avons plus utilisé cette silice.

## 2 - Optimisation des paramètres d'extraction :

Les premières extractions ont été faites, après des essais préliminaires, sur le sol  $GB_{ni}$ . Les meilleurs rendements d'extraction de  $^{14}C$  ont été obtenus pour des extractions effectuées, en un seul cycle, à une pression de 1000 Psi pour l'eau et 1450 Psi pour le méthanol, un "flush" égale à 50% du volume de la cellule, un temps de purge de 300 s et un temps de chauffage de cellule de 6 min. Avec ces conditions, des extractions dans les sols  $GB_{ni}$  et  $GB_{inc}$  ont été réalisées à différentes températures, à l'eau (MilliQ-MilliPore) et au méthanol. La figure A.3 montrent les taux de  $^{14}C$ -atrazine extraite.

L'augmentation de la température provoque l'augmentation des rendements d'extraction de  $^{14}C$  avec l'eau ou avec le méthanol. Pour tous les échantillons de sol, les quantités de résidus extraites atteignent un palier à partir de 125°C. À cette température, le taux maximum des résidus hydrosolubles atteint  $68,0 \pm 0,9\%$  de la radioactivité initiale, pour le sol  $GB_{ni}$  non incubé et  $16 \pm 1,4\%$  pour le sol  $GB_{inc}$  incubé, tandis que les résidus méthanoliques atteignent respectivement  $95,5 \pm 1,5\%$  et  $31 \pm 1,1\%$  de la quantité initiale de  $^{14}C$  pour les deux échantillons.

On constate également une coextraction de la matière organique dans des proportions qui augmentent

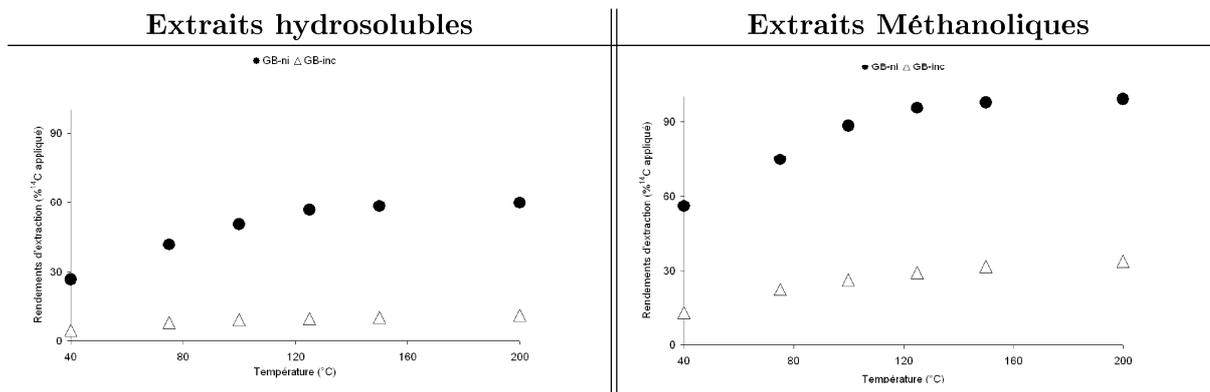


FIG. A.3 – Influence de la température sur les rendements d'extraction des résidus d'atrazine à l'eau et au méthanol dans les échantillons de sol incubé ( $GB_{ni}$ ) et non incubé ( $GB_{inc}$ ).

avec la température (fig. A.4). De 40 à 125°C, l'extraction de  $C_{org}$  est très faible : pour le sol  $GB_{ni}$ , il passe de  $0,3 \pm 0,02 \text{ mg.l}^{-1}$  à  $1,3 \pm 0,4 \text{ mg.l}^{-1}$  ; et pour l'échantillon  $GB_{inc}$  de  $0,5 \pm 0,02 \text{ mg.l}^{-1}$  à  $2,7 \pm 0,7 \text{ mg.l}^{-1}$ . À partir de 125 °C, l'augmentation des teneurs de  $C_{org}$  soluble est très rapide. Les extraits, à 200°C, contiennent  $806 \pm 66 \text{ mg.l}^{-1}$  de  $C_{org}$  dans le sol  $GB_{ni}$  et  $921 \pm 72 \text{ mg.l}^{-1}$  pour le sol  $GB_{inc}$ .

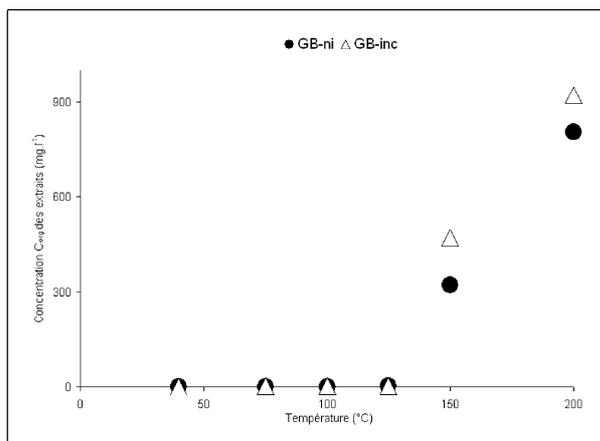


FIG. A.4 – Influence de la température sur l'extraction dans l'eau du carbone organique ( $C_{org}$ ) dans les échantillons de sol  $GB_{ni}$  et  $GB_{inc}$ .

La présence des quantités importantes de  $C_{org}$  dans les extraits peut être à l'origine des pertes d'efficacité dues à des phénomènes de quenching couleur lors de la mesure du  $^{14}\text{C}$  par scintillation en milieu liquide. En outre, des composés organiques extraits peuvent provoquer des interférences lors des analyses chromatographiques. Dans ces conditions d'utilisation, les extractions effectuées avec l'eau à 21°C, ont souvent provoqué des fuites dans les cellules d'extraction dues à leur colmatage. Ces difficultés sont réduites à partir d'une température de 40°C. En revanche pour les extractions au méthanol, des températures plus élevées (100°C) assurent un meilleur fonctionnement de l'extracteur.

L'influence de la pression sur les rendements d'extraction a été étudiée en utilisant l'eau et le méthanol dans une gamme de pression variant de 1000 Psi à 3000 Psi et pour les températures de 40°C et 125°C. La pression a très peu d'influence sur les quantités de résidus extractibles aussi bien à l'eau qu'au méthanol (fig. A.5).

L'influence du temps de contact entre l'échantillon de sol et le solvant a été étudiée en utilisant l'échantillon de sol  $GB_{ni}$ . Des extractions pendant 30, 60 et 90 min avec, cas-1 de l'eau à 20°C suivie de

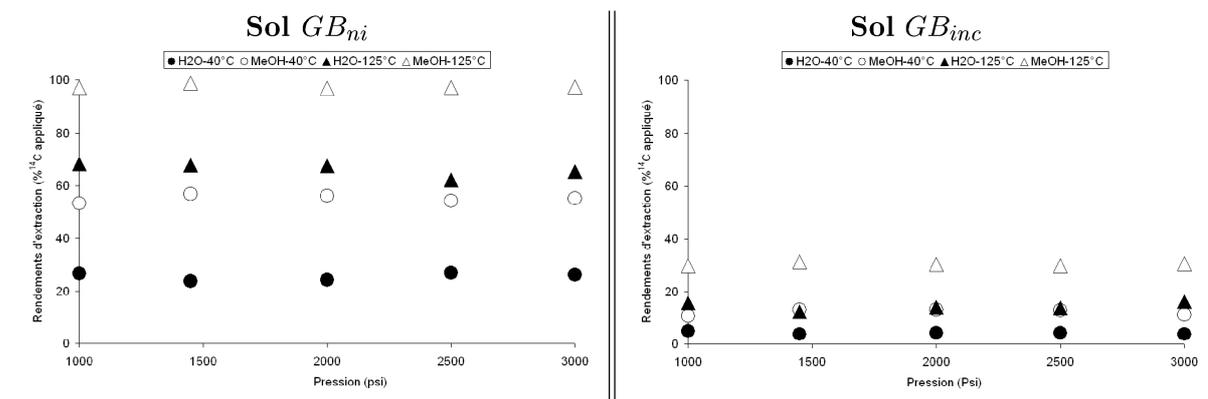


FIG. A.5 – Influence de la pression sur les rendements d'extraction aqueuse et méthanolique de  $^{14}\text{C}$ -atrazine dans les sols GB<sub>ni</sub> et GB<sub>inc</sub>.

deux extractions successives au méthanol à 125°C; ou (cas-2) eau à 125°C suivie de deux extractions au méthanol à 125°C. La répartition de la radioactivité mesurée est donnée dans la figure A.6.

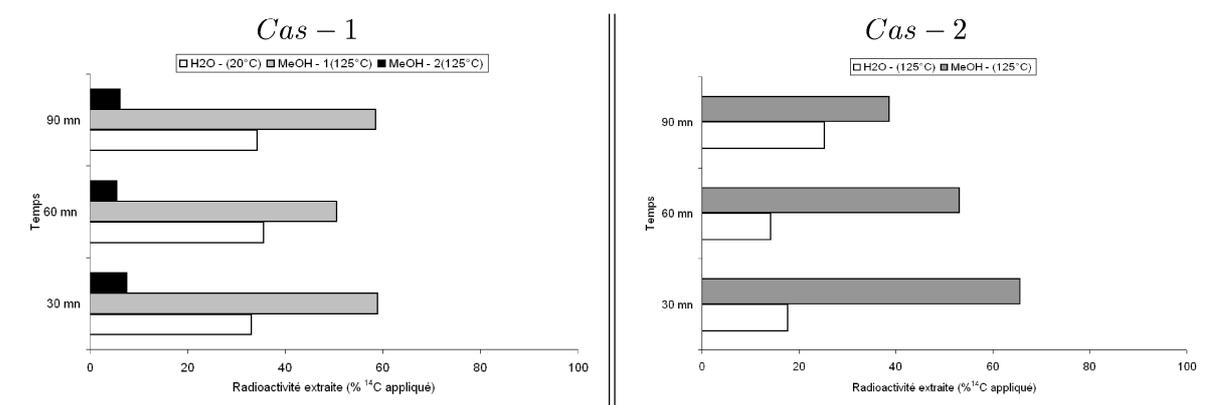


FIG. A.6 – Influence du temps de contact extractant/sol sur les rendements d'extraction dans le sol GB<sub>ni</sub>. Cas-1 : eau à 20°C suivie de deux extractions successives au méthanol à 125°C - Cas-2 : eau à 125°C suivie de deux extractions au méthanol à 125°C.

Les quantités de radioactivité extraite avec de l'eau à 20°C, dans le cas-1, sont sensiblement les mêmes pour les trois temps d'extraction :  $33 \pm 2,2\%$  en 30 min ;  $35,6 \pm 1,7\%$  en 60 min et  $34,3 \pm 1,8\%$  en 90 min. Par contre, pour les deux extractions au méthanol qui se suivent, l'extraction du  $^{14}\text{C}$  est plus élevée à 30 min ( $66,6\%$  pour la 1<sup>re</sup> et la 2<sup>e</sup> extractions), alors qu'elle ne représente que  $56,1\%$  à 60 min et  $64,7\%$  à 90 min. La radioactivité totale extraite demeure également plus élevée à 30 min ( $99,7\%$ ). Dans le cas-2, des variations des quantités de  $^{14}\text{C}$  extraites sont plus importants pour les trois temps, aussi bien pour l'eau ( $17,8$ ,  $14,2$  et  $25,3\%$  à 30, 60 et 90 min, respectivement) qu'avec le méthanol ( $65,6$ ,  $53,1$  et  $38,6\%$ , respectivement). C'est en 30 min de temps de contact qu'on extrait le maximum de radioactivité ( $83,4\%$ ).

Après ce travail d'optimisation, les conditions d'extraction retenus ont été : un temps de contact de 30 min, à des températures comprises entre 40 et 125°C, une pression de 1000 psi pour les extractions à l'eau et 1450 psi pour le méthanol, un temps de chauffage de la cellule de 6 min, un temps d'extraction de 10 min pour l'eau et 5 min pour le méthanol; un temps de purge de 300 s; rinçage : 50% du volume de la cellule et un seul cycle d'extraction.

- Évolution de la radioactivité dans les deux sols dans les conditions optimales d'extraction par A.S.E.

1 - Distribution de la radioactivité extractible :

Quatre types d'extractions sont réalisées pour évaluer la distribution de la radioactivité extraite par l'eau et par le méthanol. Une seule extraction à l'eau à 40°C (cas-1); trois extractions successives dont deux par l'eau à 40°C suivie d'une autre à 125°C et une extraction par le méthanol à 125°C (cas-2); une seule extraction à l'eau à 125°C (cas-3); et une extraction par le méthanol à 125°C (cas-4). La figure A.7 présente les rendements de chaque type d'extraction. Le cas-3 donne les rendements les plus élevés pour les extractions aqueuses, pour lesquelles la quantité de résidus d'atrazine hydrosolubles représente 57% pour le sol  $GB_{ni}$ ; et 18% pour l'échantillon  $GB_{inc}$ . Les rendements les plus importants sont obtenus lors de l'extraction avec le cas - 4 où le méthanol est utilisé comme seul extractant.

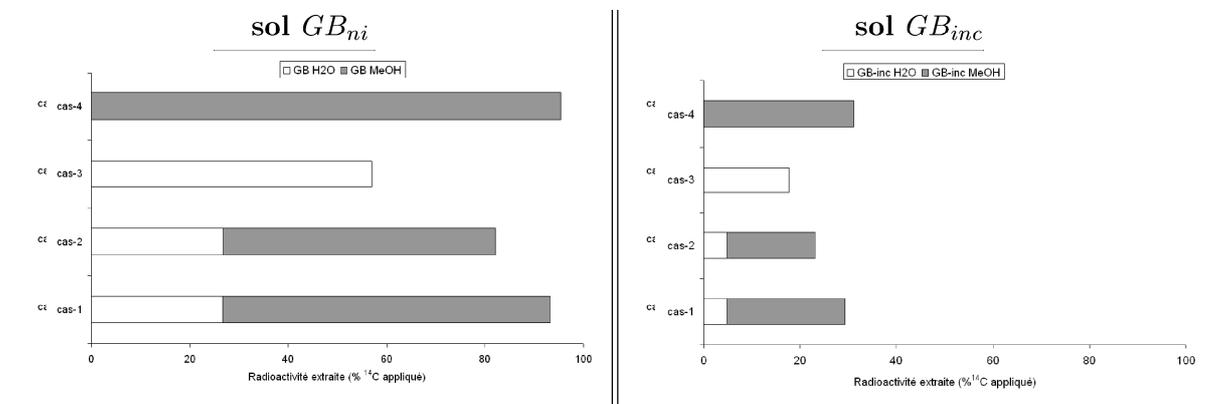


FIG. A.7 – Distribution de la radioactivité extractible à l'eau et au méthanol dans les échantillons de sol  $GB_{ni}$  et  $GB_{inc}$  en fonction des cas-1 ( $H_2O$  à 40°C), cas-2 ( $H_2O$  à 40 et 125°C, suivie de MeOH à 125°C), cas-3 ( $H_2O$  et MeOH à 125°C); et cas-4 (MeOH à 125°C).

2 - Évolution de la radioactivité totale :

Pour étudier l'évolution de la radioactivité totale dans les deux échantillons de sol, on se place dans les conditions définies plus haut comme optimales et on réalise cinq types d'extractions : trois extractions successives, dont deux à l'eau à 40 et 125°C, suivie d'une extraction au méthanol à 125°C (cas-1); une extraction à l'eau à 40°C suivie du méthanol à 125°C (cas-2); extractions à 125°C à l'eau suivie du méthanol (cas n-3) et deux extractions simples à 125°C, à l'eau (cas-4); et au méthanol (cas-5).

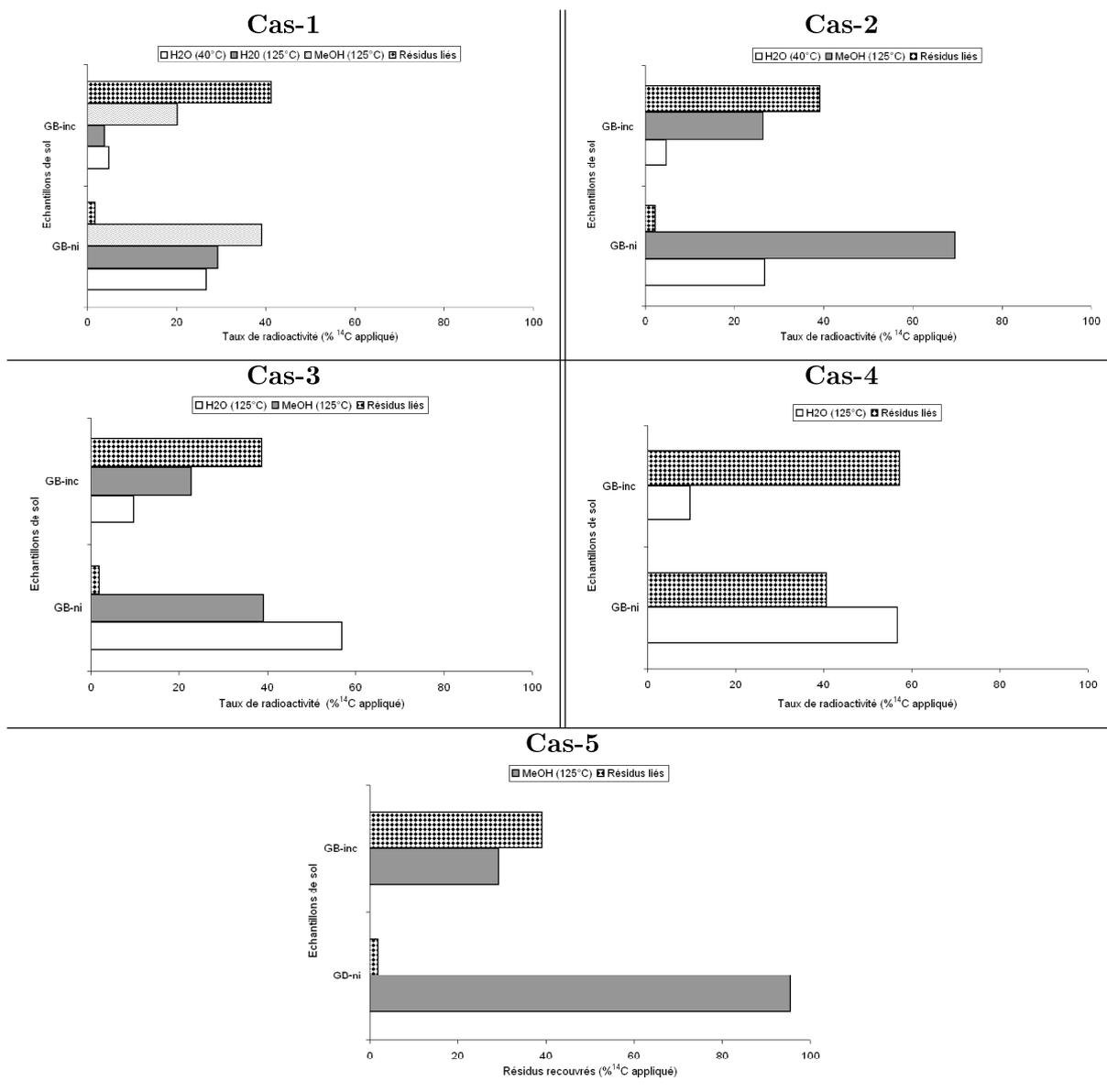


FIG. A.8 – Évolution de la radioactivité extractible et non extractible dans les conditions optimales d'extraction. Distribution du  $^{14}\text{C}$  dans les échantillons des sols  $\text{GB}_{ni}$  et  $\text{GB}_{inc}$  (cas-1 :  $\text{H}_2\text{O}$  à 40 et 125°C et MeOH à 125°C; cas-2 :  $\text{H}_2\text{O}$  à 40 °C et MeOH à 125°C; cas – 3 :  $\text{H}_2\text{O}$  à 125°C et MeOH à 125°C); cas-4 :  $\text{H}_2\text{O}$  seule à 125°C; et cas-5 : MeOH seul à 125°C).

Le maximum de résidus est obtenu dans le cas-3 (une extraction unique à 125°C avec de l'eau suivie du méthanol à la même température) : dans le sol  $\text{GB}_{ni}$ , 57% de la radioactivité initiale sont hydrosolubles, 40% sont extraits au méthanol et 1,90% sont non extractibles. Dans l'échantillon  $\text{GB}_{inc}$ , 10% de la radioactivité initiale sont extraits à l'eau, 23% extraits au méthanol et 39% sont non extractibles. Pour les extractions effectuées avec un solvant et une température unique, on observe, dans les cas où l'eau est utilisée comme seule extractant (cas-4), que la fraction non extractible est surestimée. Avec le méthanol comme seul extractant à 125°C (cas-5), la fraction non extractible correspond à la même proportion (39% de la radioactivité initiale) que celle obtenue dans les cas-1, 2, 3 et 5.

Enfin ces résultats confirment l'influence prépondérante de la température et de la succession des extractions. En effet, l'augmentation de la température lors des extractions avec le méthanol, provoque une augmentation des rendements d'extraction.

## - Évaluation de la radioactivité extraite dans les échantillons de sol par agitation

La radioactivité extractible à l'eau et au méthanol, et non extractible des sol  $GB_{inc}$  ou  $GB_{ni}$  est donnée dans la figure A.9. Pour l'échantillon de sol  $GB_{ni}$ , dans lequel la  $^{14}C$ -atrazine a été fraîchement appliquée,  $56,9 \pm 0,8\%$  de la radioactivité appliquée sont extraits par l'eau,  $31,7 \pm 1,0\%$  par le méthanol et  $1,4 \pm 0,9\%$  de résidus demeurent non extractibles. Pour l'échantillon  $GB_{inc}$ ,  $6,4 \pm 0,2\%$  de la radioactivité appliquée sont hydrosolubles,  $6,9 \pm 0,5\%$  sont extraits par le méthanol et  $52,9 \pm 2,3\%$  demeurent non extractibles. Par ailleurs, les taux de résidus extraits au méthanol diminuent avec le nombre d'extractions. Ainsi, lors des extractions successives,  $24,4 \pm 1,7$ ,  $6,2 \pm 0,7$  et  $1,1 \pm 0,2\%$  de la radioactivité appliquée sur le sol  $GB_{ni}$  sont extraits au méthanol lors des 1<sup>re</sup>, 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> extractions, respectivement; tandis que  $5,7 \pm 0,5$ ,  $6,9 \pm 0,5$  et  $0,15 \pm 0,02\%$  le sont dans l'échantillon de sol  $GB_{inc}$ .

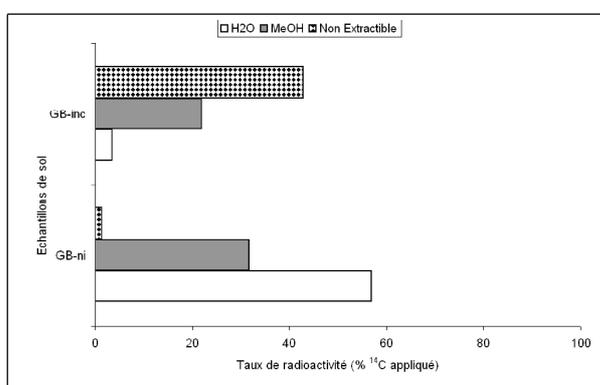


FIG. A.9 – Distribution de la radioactivité hydrosoluble, méthanolique et non extractible dans les échantillons de sol  $GB_{ni}$  et  $GB_{inc}$  après extraction par agitation.

## - Comparaison du $^{14}C$ extrait par agitation et par ASE dans des conditions optimales

### 1 - Distribution des résidus dans les différentes fractions :

Les fractions hydrosolubles, méthanoliques et non extractibles de échantillons de sol  $GB_{ni}$  et  $GB_{inc}$  ont été estimées à l'aide des deux méthodes d'extraction en utilisant 20 g de chaque échantillon. Les extractions A.S.E. ont été évaluées dans les conditions optimales d'extraction : deux extractions par l'eau à 40 et 125°C, suivie d'une extraction au méthanol à 125°C; les extractions par agitation ont été réalisées telles que décrites précédemment (une extraction à l'eau suivie de trois extractions au méthanol). Les résultats obtenus se trouvent dans la figure A.10.

Dans les deux sols, les taux de résidus extractibles de  $^{14}C$ -atrazine obtenus lors des extractions par agitation et par A.S.E. sont différents. Dans le sol  $GB_{ni}$ , 62 et 58% de la radioactivité initiale sont hydrosolubles, 37 et 41% sont extraits au méthanol, respectivement; mais un taux égal (1% de la radioactivité initiale) y est non extractible. Dans le sol  $GB_{inc}$ , les rendements obtenus lors des extractions par agitation sont différents de ceux obtenus par ASE, quelque soit la fraction considérée. Par ailleurs, avec la méthode A.S.E., 26% de radioactivité initiale est extraite l'eau à 40°C alors que 57% le sont par agitation à la température ambiante.

### 2 - Caractérisation chromatographique des résidus extractibles :

La caractérisation des résidus a été faite sur les extraits aqueux et méthanoliques issus des extractions

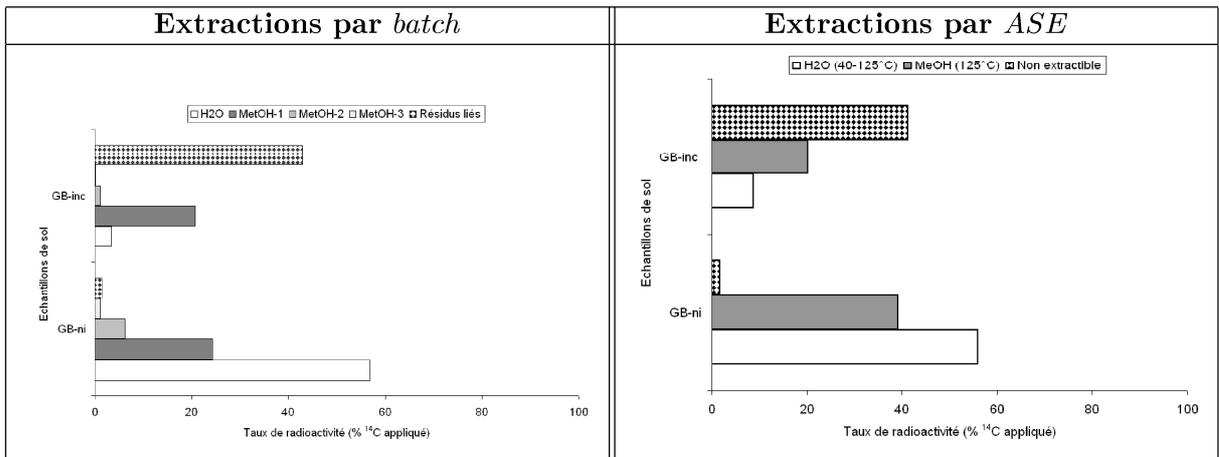


FIG. A.10 – Distribution du  $^{14}\text{C}$ -atrazine dans les fractions des échantillons de sol  $\text{GB}_{ni}$  et  $\text{GB}_{inc}$ . Comparaison de la radioactivité dans les fractions hydrosolubles, méthanoliques et non extractibles des sols lors des extractions par agitation et A.S.E.

par agitation et par A.S.E. pour les deux échantillons de sol  $\text{GB}_{ni}$  et  $\text{GB}_{inc}$ . Les résultats de l'analyse chromatographique sont illustrés dans la figure A.11.

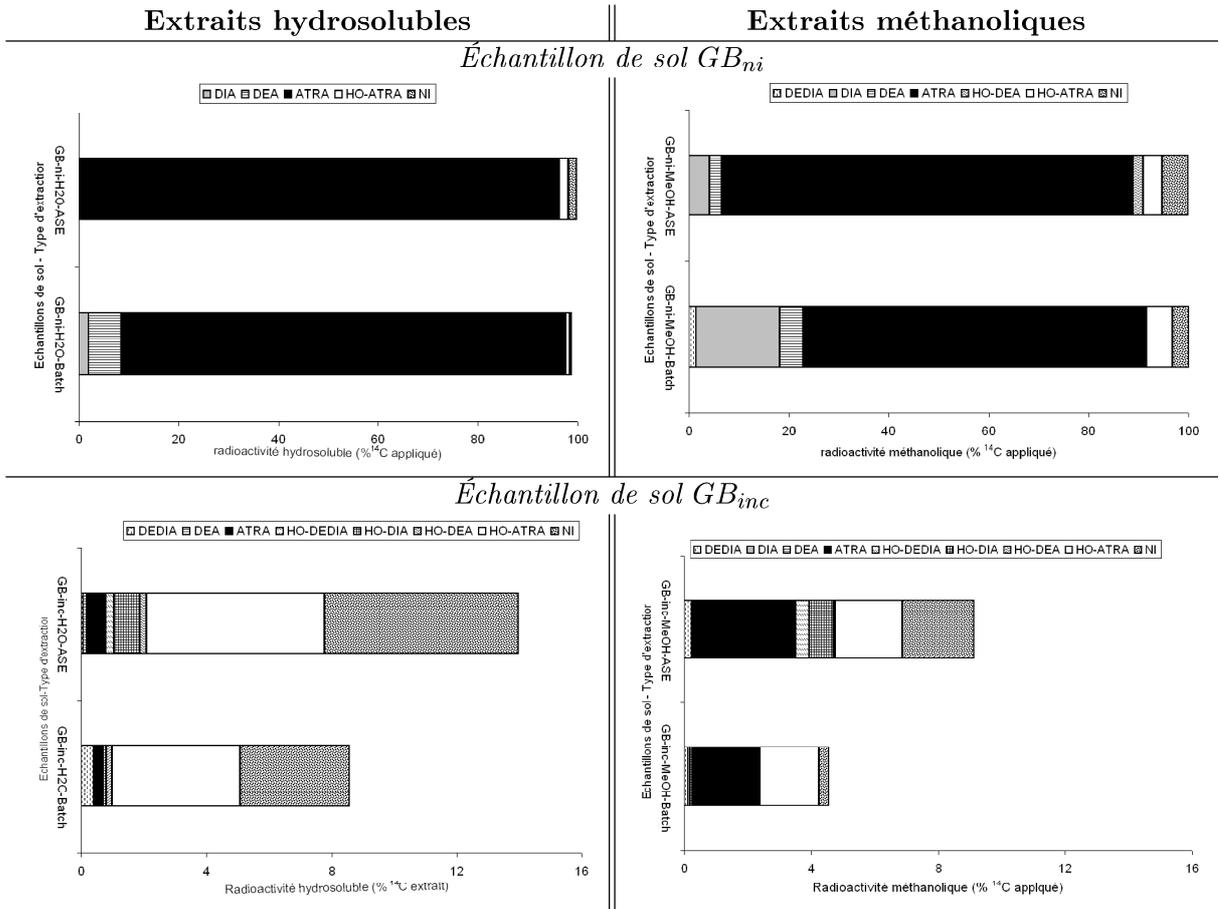


FIG. A.11 – Caractérisation chromatographique de la nature chimique des résidus  $^{14}\text{C}$ -atrazine des extraits aqueux et méthanoliques obtenus au cours des extractions par agitation (batch) et par ASE des échantillons de sol  $\text{GB}_{ni}$  et  $\text{GB}_{inc}$ .

Dans les deux sols, les extraits méthanoliques contiennent des proportions plus élevées de résidus d'atrazine que les extraits aqueux. Dans l'échantillon de sol  $GB_{ni}$ , l'atrazine est majoritairement extraits par agitation dans les extraits hydrosolubles, représentant 89% de la radioactivité extraite; 0,37% étant sous forme de résidus non identifiées. Dans les extraits par A.S.E., 96% de la radioactivité hydrosoluble représente l'atrazine, 2% étant non identifiés. Ceci semble normal, compte tenu de la date d'application de la  $^{14}C$ -atrazine dans ce sol. Dans l'échantillon  $GB_{inc}$ , l'hydroxyatrazine est dominante dans les extraits aqueux obtenus par agitation. Dans les extraits méthanoliques, les taux de résidus d'atrazine diminuent des extraits par A.S.E. (83% de la radioactivité extraite) aux extraits par agitation (69%) dans le sol  $GB_{ni}$ ; et de 3,3% par A.S.E. à 2% par agitation, pour le sol  $GB_{inc}$ . Pour chaque échantillon de sol, les taux de résidus d'atrazine non identifiés augmentent des extractions par agitation aux extractions par A.S.E. pour un même extractant, et des extraits aqueux aux extraits méthanoliques. En outre, il y a plus de métabolites dans les extraits obtenus par agitation dans l'échantillon  $GB_{inc}$ . En ce qui concerne l'échantillon de sol  $GB_{ni}$ , il y a apparition des métabolites DIA et DEA parmi les extraits méthanoliques (respectivement, 17 et 5% de la radioactivité extraite par agitation contre 4 et 2,4% pour les extraits par A.S.E.). Cette différences de composition des extraits d'un même sol issus des modes d'extraction différents pourraient être due à la décomposition des extraits d'atrazine et de ses métabolites par la température élevée dans les cellules d'extraction par A.S.E. Ceci aurait également pour conséquence l'augmentation des taux de résidus non identifiés et la diminution des proportions d'atrazine dans les extraits méthanoliques.

## Conclusions : avantages et inconvénient des deux méthodes d'extraction

La technique d'extraction A.S.E. combine des températures et des pressions élevées avec l'action d'un solvant liquide. De ce fait, elle consomme moins de solvants et elle est plus rapide. En plus, elle permet l'automatisation des procédures, de même que l'extraction séquentielle d'un même échantillon sous différentes conditions ou avec différents solvants. Selon les résultats d'extraction obtenus antérieurement par Richter et al. (1996), la méthode d'extraction par A.S.E. donnerait des rendements comparables à ceux du Soxhlet ou des autres techniques. D'autres études (Crescenzi et al., 1999) ont montré que l'A.S.E. permettrait d'obtenir des résultats aussi bons, voire meilleurs que les techniques d'extraction couramment utilisées.

Or, l'A.S.E. semble présenter des limitations quant à son utilisation. En effet l'évaluation de la taille des compartiments extractibles par l'eau ou par le méthanol est variable lorsque des paramètres comme la pression et surtout la température sont modifiés. De même pour Crescenzi et al. (1999), cette méthode donnerait des rendements médiocres en fonction de certains polluants organiques (entre 36 et 72% lors de l'extraction des herbicides phénoxyacétiques). En plus, la température d'extraction a une grande influence sur les résultats des extractions, ce qui laisse supposer que cette méthode d'extraction, quoique automatisable reste délicate d'utilisation. À température ambiante, l'extraction avec l'eau ou le méthanol entraîne des difficultés techniques dues au colmatage des cellules, ce qui provoque des fuites au niveau des cellules et empêche toute poursuite du processus d'extraction. D'une part, les informations recherchées, en particulier dans la taille des différents compartiments du sol dans des conditions de température proches des conditions naturelles semblent différemment accessibles. D'autre part, du fait de l'instabilité de certains composés organiques à des températures élevées (Yang et al., 1995), les informations sur la nature des résidus extraits pourraient se retrouver biaisées. Fixer des paramètres pour un type d'extraction pour accéder à ces compartiments reste donc arbitraire, surtout à cause de la température qui s'avère être le paramètre prépondérant, et qui empêcherait une évaluation de la disponibilité, comparable à celle obtenue par les méthodes classiques d'agitation. En revanche, l'extraction par agitation est simple à mettre en œuvre. La méthode d'extraction par agitation n'est pas automatisable comme l'A.S.E., mais elle est reproductible à souhait et est adaptable à l'extraction de tout polluant organique dans tout type de sol. C'est donc une méthode standard qui présente l'avantage de combiner une bonne efficacité d'extraction et une bonne reproductibilité.



# Bibliographie

- [1] AKERLOF *G.C.*; OSHRY, *H.I.* The dielectric constant of water at high temperatures and in equilibrium with its vapor. *1950*.
- [2] . CRESCENZI *C.*; D'ASCENZO *G.*; DI CORCIA *A.*; NAZZARI *M.*; MARCHESE *S.*; SAMPERI *R.* Multiresidue herbicide analysis in soil : subcritical water extraction with an on-line sorbent trap. *Anal. Chem.*, 1999, 71, 2157-2163.
- [3] . HAGEMAN *K.C.*; MAZEAS *L.*; GRABANSKI *C.B.*; MILLER *D.J.* HAWTHORNE *S.B.* Coupled subcritical water extraction with solid-phase microextraction for determining semivolatile organics in environment solids. *Anal. Chem.*, 1996, 68, 3892-3898.
- [4] . LOU *X.*; MILLER *D.J.* Static subcritical water extraction combined with anion exchange dik sorption for determining chloronated acid herbicides in soil. *Anal. Chem.*, 2000, 72, 481-488.
- [5] . MILLER *D.J.*; HAWTHORNE *S.B.* Method for determining the solubilities of hydrophobic organics in subcritical water. *Anal. Chem.*, 1998, 70, 1618-1621.
- [6] . PAWLOWSKI *T.M.*; POOLE *C.F.* Solvation characteristic of pressurized hot water and its use in chromatography. *Anal. Comun.*, 1999, 36.
- [7] . RICHTER *B.E.*; JONES *B.A.*; EZZELL *J.L.*; PORTER *N.L.* Accelered solvent extraction : a technique for sample preparation. *Anal. Chem*, 1996, 68, 1013-1039.
- [8] . YANG *Y.* and HAWRHORNE *S.B.* and MILLER *D.J.* Extraction of organic pollutants from environmental solids with sub-and critical water. *Anal. Chem.*, 1994, 66, 4571-4576.
- [9] . YANG *Y.*; BOWADT *S.*; HAWTHORNE *S.B.*; MILLER *D.J.* Subcritical water extraction of polychlorinated biphenyls from soil and sediment. *Environ. Sci. Technol.*, 1995, 31, 430-437.
- [10] . YANG *Y.*; HAWTHORNE *S.B.*; MILLER *D.J.* Class-selective extraction of polar, moderately polar, and nonpolar organics from hydrocaron wastes using sucritical water. *Environ. Sci. Technol.*, 1997, 31, 430-437.



# Table des figures

1	Devenir des pesticides dans les sols (d'après Barriuso, 1994) . . . . .	20
1.1	<i>Classification des pesticides (d'après Gevaio, 2000)</i> . . . . .	27
2.1	<i>Structure moléculaire de l'atrazine et de l'isoproturon</i> . . . . .	38
2.2	<i>Schéma du principe pour la mise en place des expérimentations avec des applications répétées de pesticides en conditions contrôlées de laboratoire.</i> . . . . .	40
2.3	<i>Dispositif d'incubation des pesticide en microcosmes</i> . . . . .	40
2.4	<i>Préparation des colonnes et prélèvement de la partie inférieure correspondant à la semelle de labour</i> . . . . .	43
2.5	<i>Caisson contenant l'ensemble des lysimètre pour un même sol. Les caissons sont remplis de terre entre les lysimètres pour les isoler thermiquement et assurer la stabilité de leur position verticale.</i> . . . . .	43
2.6	<i>Incubation de lysimètre en conditions "d'extérieur"</i> . . . . .	44
2.7	<i>Schéma de l'équipement des lysimètres avec les capteurs de pression par sondes tensiométriques, de teneur en eau par sondes TDR et de température par thermocouples.</i> . . . . .	45
3.1	<i>Évolution des résidus hydrosolubles après la première application d'atrazine et d'isoproturon dans les sols GM, GB et NB (les résultats sont exprimés en pourcentage de la radioactivité initiale appliquée - les barres d'erreurs correspondent à l'écart-type des valeurs mesurées).</i> . . . . .	53
3.2	<i>Évolution des résidus hydrosolubles au cours des trois applications répétées d'atrazine et d'isoproturon dans les sols GM, GB et NB (la radioactivité hydrosoluble est exprimée en masse équivalent de pesticide en fonction de l'activité spécifique du pesticide apporté - les indices 1, 2 et 3 désignent les 1<sup>re</sup>, 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> applications - les barres d'erreurs correspondent à l'écart-type des valeurs mesurées).</i> . . . . .	54

3.3	<i>Évolution des résidus extraits au méthanol après la première application d'atrazine et d'isoproturon dans les sols GM, GB et NB (les résultats sont exprimés en pourcentage de la radioactivité initiale appliquée - les barres d'erreurs correspondent à l'écart-type des valeurs mesurées). . . . .</i>	55
3.4	<i>Évolution des résidus extraits au méthanol au cours des trois applications répétées d'atrazine et d'isoproturon dans les sols GM, GB et NB (la radioactivité hydrosoluble est exprimée en masse équivalent de pesticide en fonction de l'activité spécifique du pesticide apporté - les indices 1, 2 et 3 désignent les 1<sup>re</sup>, 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> applications - les barres d'erreurs correspondent à l'écart-type des valeurs mesurées). . . . .</i>	56
3.5	<i>Caractérisation chromatographique de la nature chimique des résidus <sup>14</sup>C (substance active et métabolites) des extraits aqueux et méthanoliques obtenus au cours des incubations du sol GM après 3 applications d'atrazine (Les résultats sont exprimés en pourcentage de la radioactivité totale des extraits - Les indices 1, 2 et 3 désignent la 1<sup>re</sup>, 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> application d'atrazine (ATRA)). . . . .</i>	58
3.6	<i>Caractérisation chromatographique de la nature chimique des résidus <sup>14</sup>C (substance active et métabolites) des extraits aqueux et méthanoliques obtenus au cours des incubations du sol GB après 3 applications d'atrazine (Les résultats sont exprimés en pourcentage de la radioactivité totale des extraits - Les indices 1, 2 et 3 désignent la 1<sup>re</sup>, 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> application d'atrazine (ATRA)). . . . .</i>	59
3.7	<i>Caractérisation chromatographique de la nature chimique des résidus <sup>14</sup>C (substance active et métabolites) des extraits aqueux et méthanoliques obtenus au cours des incubations du sol NB après 3 applications d'atrazine (Les résultats sont exprimés en pourcentage de la radioactivité totale des extraits - Les indices 1, 2 et 3 désignent la 1<sup>re</sup>, 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> application d'atrazine (ATRA)). . . . .</i>	60
3.8	<i>Caractérisation chromatographique de la nature chimique des résidus <sup>14</sup>C (substance active et métabolites) des extraits aqueux et méthanoliques obtenus au cours des incubations du sol GM après 3 applications d'isoproturon (Les résultats sont exprimés en pourcentage de la radioactivité totale des extraits - Les indices 1, 2 et 3 désignent la 1<sup>re</sup>, 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> application d'isoproturon (IPU)). . . . .</i>	63
3.9	<i>Caractérisation chromatographique de la nature chimique des résidus <sup>14</sup>C (substance active et métabolites) des extraits aqueux et méthanoliques obtenus au cours des incubations du sol GB après 3 applications d'isoproturon (Les résultats sont exprimés en pourcentage de la radioactivité totale des extraits - Les indices 1, 2 et 3 désignent la 1<sup>re</sup>, 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> application d'isoproturon (IPU)). . . . .</i>	64
3.10	<i>Caractérisation chromatographique de la nature chimique des résidus <sup>14</sup>C (substance active et métabolites) des extraits aqueux et méthanoliques obtenus au cours des incubations du sol NB après 3 applications d'isoproturon (Les résultats sont exprimés en pourcentage de la radioactivité totale des extraits - Les indices 1, 2 et 3 désignent la 1<sup>re</sup>, 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> application d'isoproturon (IPU)). . . . .</i>	65

- 3.11 *Minéralisation d'atrazine (ATRA) et d'isoproturon (IPU) dans les sols GM, GB et NB après une application. Les résultats sont exprimés en taux de  $^{14}\text{C} - \text{CO}_2$  minéralisé cumulé en fonction de l'apport initial de  $^{14}\text{C} - \text{atrazine}$  ou de  $^{14}\text{C} - \text{isoproturon}$  (les barres d'erreurs correspondent à l'écart-type des valeurs mesurées).* 67
- 3.12 *Cinétiques de minéralisation d'atrazine et d'isoproturon après trois applications dans les sols GM, GB et NB (les résultats sont exprimés en quantités équivalent d'atrazine ou d'isoproturon ( $\mu\text{g}\cdot\text{eq}\cdot\text{g}^{-1}$ ) calculées à partir de la radioactivité minéralisée en fonction de la radioactivité spécifique des herbicides appliqués - les indices 1, 2 et 3 représentent les 1<sup>re</sup>, 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> applications de pesticides - les barres d'erreurs correspondent à l'écart-type des valeurs mesurées).* . . . . . 69
- 3.13 *Cinétiques de minéralisation d'atrazine et d'isoproturon dans les sols GM, GB et NB après chacune des 3 applications successives (les taux de minéralisation d'une application (en % de  $^{14}\text{C}$  appliqué) ont été calculés en soustrayant à la quantité totale de  $^{14}\text{C}$  minéralisée, la part de radioactivité minéralisée lors des applications précédentes - les indices 1, 2 et 3 représentent les 1<sup>re</sup>, 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> applications de pesticides - les barres d'erreurs correspondent à l'écart-type des valeurs mesurées).* 70
- 3.14 *Évolution des vitesses de minéralisation cumulée d'atrazine (ATRA) et d'isoproturon (IPU) après trois applications successives dans les sols GM, GB et NB. Les résultats sont exprimés en quantités équivalent d'atrazine ou d'isoproturon minéralisé par gramme de sol et par jour ( $\mu\text{g}\cdot\text{eq}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{j}^{-1}$ ). Les indices 1, 2 et 3 représentent les 1<sup>re</sup>, 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> applications de pesticides - l'échelle de temps est initialisée après chaque application.* . . . . . 71
- 3.15 *Évolution des résidus non extractibles dans les sols GM, GB et NB après une application d'atrazine et d'isoproturon (les taux de résidus non extractibles sont exprimés en pourcentage par rapport à la radioactivité appliquée - les barres d'erreurs correspondent à l'écart-type des valeurs mesurées).* . . . . . 73
- 3.16 *Évolution des résidus non extractibles dans chaque sol au cours des applications répétées d'atrazine et d'isoproturon dans les sols GM, GB et NB (les concentrations de résidus non extractibles sont exprimées en quantités équivalent d'atrazine ou d'isoproturon par gramme de sol - Les indices 1, 2 et 3 représentent les 1<sup>re</sup>, 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> applications - les barres d'erreurs correspondent à l'écart-type des valeurs mesurées - l'échelle de temps est initialisée après chaque application.)* . . . . . 74
- 3.17 *Évolution des taux de résidus non extractibles dans chaque sol en fonction de chaque application d'atrazine et d'isoproturon dans les sols GM, GB et NB (les taux de résidus non extractibles d'une application (en % de  $^{14}\text{C}$  appliqué) ont été calculés en soustrayant à la quantité totale de  $^{14}\text{C}$  non extractible, la part de radioactivité non extractible des applications précédentes - Les indices 1, 2 et 3 représentent les 1<sup>re</sup>, 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> applications - les barres d'erreurs correspondent à l'écart-type des valeurs mesurées - l'échelle de temps est initialisée après chaque application.)* . . . . . 76

3.18	<i>Schéma de la compartimentation des applications de pesticide pour modélisation. <math>C_1</math>, <math>C_2</math> et <math>C_3</math> représentent les concentrations du pesticide au cours des 1<sup>re</sup>, 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> application</i> . . . . .	77
3.19	<i>Ajustement des cinétiques d'ordre 1 des résultats de la dissipation des substances actives lors des applications répétées d'atrazine (ATRA) et d'isoproturon (IPU) dans les sols GM, GB et NB (pour chaque application, les taux de substance active ont été calculés en soustrayant la contribution des applications précédentes - l'échelle de temps est initialisée après chaque application).</i> . . . . .	83
3.20	<i>Ajustement des cinétiques d'ordre 1 aux résultats de la dégradation des résidus totaux extractibles lors des applications répétées d'atrazine (ATRA) et d'isoproturon (IPU) dans les sols GM, GB et NB (pour chaque application, les taux de résidus extraits ont été calculés en soustrayant la contribution des applications précédentes - l'échelle de temps est initialisée après chaque application).</i> . . . . .	86
3.21	<i>Ajustement des cinétiques d'ordre 1 de minéralisation lors des 3 applications consécutives d'atrazine et d'isoproturon dans les sols GM, GB et NB (pour chaque application, les taux minéralisés ont été calculés en soustrayant la contribution des applications précédentes - l'échelle de temps est initialisée après chaque application).</i> . . . . .	89
3.22	<i>Voies de dégradation de la molécule d'atrazine (d'après Kruger et al., 1993)</i> . . .	93
3.23	<i>Voies de dégradation de la molécule d'isoproturon (d'après Sorensen et al., 2003)</i>	95
4.1	<i>Exemple de fluctuations hebdomadaire de la température pendant l'hiver et pendant l'été dans les trois couches des mini-lysimètres de sols GM et NB installés à Grignon.</i>	110
4.2	<i>Variations de la température moyenne dans les trois couches des mini-lysimètres de sols GM et NB installés à Grignon pendant une période de 18 mois. La température moyenne mensuelle a été obtenue par le calcul des moyennes de températures journalières.</i> . . . . .	111
4.3	<i>Potentiel de l'eau dans quatre couches des lysimètres des sols GM et NB.</i> . . . . .	111
4.4	<i>Variations de l'humidité dans les mini-lysimètres des sols GM et NB</i> . . . . .	112
4.5	<i>Pluviométrie sur le site d'expérimentation de Grignon et volumes des percolats dans les mini-lysimètres des sols GM et NB (GM et NB représentent les lysimètres de sols GM et NB, "pluie" représente la pluviométrie au cours de la période d'expérimentation).</i> . . . . .	112
4.6	<i>Radioactivité cumulée récupérée dans les percolats des micro-lysimètres des sols GM et GB installés à Grignon. Les résultats sont exprimés en % du <math>^{14}C</math> appliqué.</i>	113
4.7	<i>Radioactivité cumulée récupérée dans les percolats des microlysimètres des sols GB et NB installés à Nancy. Les résultats sont exprimés en % <math>^{14}C</math> appliqué.</i> . . . . .	113

4.8	<i>Évolution des résidus de <math>^{14}\text{C}</math>-atrazine dans les couches des micro-lysimètres de sol GB installés à Grignon et à Nancy. Répartition des résidus extraits à l'eau et au méthanol, et non extractibles, 1, 3 et 6 mois après la première application d'atrazine.</i>	115
4.9	<i>Évolution des résidus de <math>^{14}\text{C}</math>-atrazine dans les couches des micro-lysimètres des sols GM et NB installés à Grignon et à Nancy. Répartition des résidus extraits à l'eau et au méthanol, et non extractibles, 1, 3 et 6 mois après la première application d'atrazine. . . . .</i>	116
4.10	<i>Évolution des résidus de <math>^{14}\text{C}</math>-atrazine dans les couches de micro-lysimètres des sols GM et GB installés à Grignon et des sols GB et NB à Nancy. Répartition des résidus extraits à l'eau et au méthanol, et non extractibles, 12 et 24 mois après la première application d'atrazine. . . . .</i>	117
4.11	<i>Évolution des résidus de <math>^{14}\text{C}</math> – atrazine dans les couches des mini-lysimètres des sols GM, GB et NB installés à Grignon. Répartition des résidus extraits à l'eau et au méthanol, et non extractibles, 12 mois après la première application d'atrazine.</i>	118
4.12	<i>Évolution des résidus de <math>^{14}\text{C}</math>-atrazine dans les couches des micro-lysimètres des sols GM et GB installés à Grignon. Répartition des résidus extraits à l'eau et au méthanol, et non extractibles, 3 mois après la deuxième application d'atrazine. . .</i>	118
4.13	<i>Évolution des résidus de <math>^{14}\text{C}</math>-atrazine dans les couches des micro-lysimètres des sols GB et NB installée à Nancy. Répartition des résidus extraits à l'eau et au méthanol, et non extractibles, 3, 6 et 12 mois après la deuxième application d'atrazine.</i>	119
4.14	<i>Évolution des résidus de <math>^{14}\text{C}</math>-atrazine dans les couches des micro-lysimètres des sols GB et NB installés à Nancy. Répartition des résidus extraits à l'eau et au méthanol, et non extractibles 3 mois après la troisième application d'atrazine. . .</i>	121
4.15	<i>Évolution et distribution des résidus de <math>^{14}\text{C}</math>-atrazine hydrosolubles dans les couches des micro-lysimètres des sols GM, GB et NB installés à Grignon et à Nancy après la première application (Les barres d'erreurs correspondent à l'écart-type des valeurs mesurées). . . . .</i>	122
4.16	<i>Évolution et distribution des résidus de <math>^{14}\text{C}</math>-atrazine méthanoliques dans les couches des micro-lysimètres des sols GM et GB installées à Grignon et à Nancy après la première application (Les barres d'erreurs correspondent à l'écart-type des valeurs mesurées). . . . .</i>	123
4.17	<i>Évolution et distribution des résidus de <math>^{14}\text{C}</math>-atrazine extraits dans les couches des mini-lysimètres des sols GM, GB et NB installés à Grignon 12 mois après la première application (Les barres d'erreurs correspondent à l'écart-type des valeurs mesurées).</i>	124
4.18	<i>Comparaison de la distribution des résidus <math>^{14}\text{C}</math> extraits dans les couches des micro-lysimètres installés à Grignon 3 mois après la première et la deuxième application d'atrazine dans les sols GM et GB. . . . .</i>	125

4.19	<i>Bilan de la répartition moyenne des résidus d'atrazine percolés, identifiés par chromatographie dans les micro-lysismètres des sols GM et GB et les mini-lysismètres de sol GB installés à Grignon, 15 mois après l'application d'atrazine (Mini-B, Micro-B et Micro-M désignent les mini-lysismètres de sol GB et les micro-lysismètres des sols GM et GB, respectivement).</i> . . . . .	126
4.20	<i>Évolution du profil chromatographique des résidus d'atrazine (ATRA) extraits à l'eau et au méthanol dans la couche superficielle (0-5 cm) des micro-lysismètres des sols GM et GB installés à Grignon, 1, 3, 6 et 12 mois après la première application d'atrazine (DEDIA : dééthyl-déisopropyl-atrazine; DIA : déisopropyl-atrazine; DEA : dééthyl-atrazine; OH-ATRA : hydroxyatrazine; OHDEA : hydroxy dééthyl-atrazine; OH-DEDIA : hydroxydééthyl-déisopropyl-atrazine; OHDIA : hydroxydéisopropyl-atrazine; et N.I. : dérivés non identifiés).</i> . . . . .	127
4.21	<i>Profil chromatographique des résidus extraits à l'eau et au méthanol (MeOH) dans l'horizon 0-10 cm (couches 0-5 et 5-10 cm) des mini-lysismètres des sols GM, GB et NB installés à Grignon, 12 mois après la première application d'atrazine (ATRA) (DIA : déisopropyl-atrazine; DEA : dééthyl-atrazine; OHATRA : hydroxyatrazine).</i> . . . . .	129
4.22	<i>Profils chromatographiques des résidus <sup>14</sup>C extraits à l'eau et au méthanol dans la couche superficielle (0-5 cm) des micro-lysismètres des sols GM et GB installés à Grignon, 3 mois après la deuxième application d'atrazine.</i> . . . . .	129
4.23	<i>Évolution des résidus non extractibles d'atrazine dans les couches des micro-lysismètres installés à Grignon et à Nancy, 1, 3, 6 et 12 mois après la première application d'atrazine (les barres d'erreurs correspondent à l'écart-type des valeurs mesurées).</i> . . . . .	131
4.24	<i>Distribution des résidus non extractibles dans les couches des micro-lysismètres des sols GB et NB installés à Nancy, 3, 6, 12 et 24 mois après la deuxième application d'atrazine, et 3 mois après la troisième (les barres d'erreurs correspondent à l'écart-type des valeurs mesurées).</i> . . . . .	132
4.25	<i>Distribution des résidus non extractibles dans les couches des micro-lysismètres des sols GM et GB installés à Grignon, 3 mois après la deuxième application d'atrazine (les barres d'erreurs correspondent à l'écart-type des valeurs mesurées).</i> . . . . .	133
4.26	<i>Évolution des résidus non extractibles dans les couches des mini-lysismètres des sols GM, GB et NB installés à Grignon, 12 mois après l'application d'atrazine (les barres d'erreurs correspondent à l'écart-type des valeurs mesurées).</i> . . . . .	133
4.27	<i>Évolution de la dissipation de la <sup>14</sup>C-atrazine dans les sous-couches des sols GM et GB des micro-lysismètres installés à Grignon.</i> . . . . .	137
4.28	<i>Évolution des résidus totaux extractibles de la <sup>14</sup>C-atrazine dans les sous-couches des sols GM et GB des micro-lysismètres installés à Grignon.</i> . . . . .	138
4.29	<i>Évolution des résidus totaux extractibles de la <sup>14</sup>C-atrazine dans les sous-couches des sols NB et GB des micro-lysismètres installés à Nancy.</i> . . . . .	139

4.30	<i>Modélisation de l'évolution des résidus non extractibles de la <math>^{14}\text{C}</math>-atrazine dans les sous-couches de la couche de labour des micro-lysimètres des sols GM et GB installés à Grignon.</i>	142
5.1	<i>Structure du modèle, identification des compartiments et des flux.</i>	154
5.2	<i>Modèles théoriques à compartiments décrivant la dynamique de l'atrazine lors des applications répétées dans le sol GM et ajustement aux données expérimentales.</i>	161
5.3	<i>Modèles théoriques à compartiments décrivant la dynamique de l'isoproturon lors des applications répétées dans le sol GM et ajustement aux données expérimentales.</i>	162
5.4	<i>Modèles théoriques à compartiments décrivant la dynamique de l'atrazine lors des applications répétées dans le sol GB et ajustement aux données expérimentales.</i>	165
5.5	<i>Modèles théoriques à compartiments décrivant la dynamique de l'isoproturon lors des applications répétées dans le sol GB et ajustement aux données expérimentales.</i>	166
5.6	<i>Modèles théoriques à compartiments décrivant la dynamique de l'atrazine lors des applications répétées dans le sol NB et ajustement aux données expérimentales.</i>	169
5.7	<i>Modèles théoriques à compartiments décrivant la dynamique de l'isoproturon lors des applications répétées dans le sol NB et ajustement aux données expérimentales.</i>	170
5.8	<i>Structure des hypothèses pour réaliser les modèles à compartiments pour la description de la dynamique des pesticides dans l'horizon labouré simulé par les lysimètres de sols. Identification des compartiments et définition des flux (voies de dissipation).</i>	177
5.9	<i>Flux effectifs (non négligeables) entre les compartiments du modèle décrivant la dynamique de l'atrazine dans les couches de l'horizon de labour des micro-lysimètres du sol GM installés à Grignon.</i>	180
5.10	<i>Résultats des ajustement du modèle à compartiments pour l'estimation des paramètres décrivant l'évolution de la dynamique des résidus d'atrazine dans les micro-lysmètres du sol GM installés à Grignon pendant 12 mois après la 1<sup>re</sup> application.</i>	180
5.11	<i>Flux effectifs (non négligeables) entre les compartiments du modèle décrivant la dynamique de l'atrazine dans les couches de l'horizon de labour des micro-lysimètres du sol GB installés à Grignon.</i>	181
5.12	<i>Résultats des ajustement du modèle à compartiments pour l'estimation des paramètres décrivant l'évolution de la dynamique des résidus d'atrazine dans les micro-lysmètres du sol GB installés à Grignon pendant 12 mois après la 1<sup>re</sup> application.</i>	181
5.13	<i>Flux effectifs (non négligeables) entre les compartiments du modèle décrivant la dynamique de l'atrazine dans les couches de l'horizon de labour des micro-lysimètres du sol GB installés à Nancy.</i>	184

5.14	<i>Résultats des ajustement du modèle à compartiments pour l'estimation des paramètres décrivant l'évolution de la dynamique des résidus d'atrazine dans les micro-lysimètres du sol GB installés à Nancy pendant 12 mois après la 1<sup>re</sup> application.</i> . . . . .	185
5.15	<i>Flux effectifs (non négligeables) entre les compartiments du modèle décrivant la dynamique de l'atrazine dans les couches de l'horizon de labour des micro-lysimètres du sol NB installés à Nancy.</i> . . . . .	186
5.16	<i>Résultats des ajustement du modèle à compartiments pour l'estimation des paramètres décrivant l'évolution de la dynamique des résidus d'atrazine dans les micro-lysimètres du sol NB installés à Nancy pendant 12 mois après la 1<sup>re</sup> application.</i> . . . . .	186
A.1	<i>Composants opérationnels de l'extracteur A.S.E.</i> . . . . .	219
A.2	<i>Influence de la silice " hydromatrix " sur le dispositif d'extraction A.S.E.</i> . . . . .	221
A.3	<i>Influence de la température sur les rendements d'extraction des résidus d'atrazine à l'eau et au méthanol dans les échantillons de sol incubé (<math>GB_{ni}</math>) et non incubé (<math>GB_{inc}</math>).</i> . . . . .	223
A.4	<i>Influence de la température sur l'extraction dans l'eau du carbone organique (<math>C_{org}</math>) dans les échantillons de sol <math>GB_{ni}</math> et <math>GB_{inc}</math>.</i> . . . . .	223
A.5	<i>Influence de la pression sur les rendements d'extraction aqueuse et méthanolique de <math>^{14}C</math>-atrazine dans les sols <math>GB_{ni}</math> et <math>GB_{inc}</math>.</i> . . . . .	224
A.6	<i>Influence du temps de contact extractant/sol sur les rendements d'extraction dans le sol <math>GB_{ni}</math>. Cas-1 : eau à 20°C suivie de deux extractions successives au méthanol à 125°C - Cas-2 : eau à 125°C suivie de deux extractions au méthanol à 125°C.</i> . . . . .	224
A.7	<i>Distribution de la radioactivité extractible à l'eau et au méthanol dans les échantillons de sol <math>GB_{ni}</math> et <math>GB_{inc}</math> en fonction des cas-1 (<math>H_2O</math> à 40°C), cas-2 (<math>H_2O</math> à 40 et 125°C, suivie de MeOH à 125°C), cas-3 (<math>H_2O</math> et MeOH à 125°C); et cas-4 (MeOH à 125°C.</i> . . . . .	225
A.8	<i>Évolution de la radioactivité extractible et non extractible dans les conditions optimales d'extraction. Distribution du <math>^{14}C</math> dans les échantillons des sols <math>GB_{ni}</math> et <math>GB_{inc}</math> (cas-1 : <math>H_2O</math> à 40 et 125°C et MeOH à 125°C; cas-2 : <math>H_2O</math> à 40 °C et MeOH à 125°C; cas - 3 : <math>H_2O</math> à 125°C et MeOH à 125°C); cas-4 : <math>H_2O</math> seule à 125°C; et cas-5 : MeOH seul à 125°C).</i> . . . . .	226
A.9	<i>Distribution de la radioactivité hydrosoluble, méthanolique et non extractible dans les échantillons de sol <math>GB_{ni}</math> et <math>GB_{inc}</math> après extraction par agitation.</i> . . . . .	227
A.10	<i>Distribution du <math>^{14}C</math>-atrazine dans les fractions des échantillons de sol <math>GB_{ni}</math> et <math>GB_{inc}</math>. Comparaison de la radioactivité dans les fractions hydrosolubles, méthanoliques et non extractibles des sols lors des extractions par agitation et A.S.E.</i> . . . . .	228

A.11	<i>Caractérisation chromatographique de la nature chimique des résidus <math>^{14}\text{C}</math>-atrazine des extraits aqueux et méthanoliques obtenus au cours des extractions par agitation (batch) et par ASE des échantillons de sol <math>\text{GB}_{ni}</math> et <math>\text{GB}_{inc}</math>. . . . .</i>	228
------	--	-----



# Liste des tableaux

2.1	<i>Caractéristiques des sols (horizon 0 - 20 cm)</i> . . . . .	38
2.2	<i>Caractéristiques des pesticides</i> . . . . .	39
2.3	<i>Résumé du dispositif "colonnes" en conditions naturelles</i> . . . . .	45
2.4	<i>Gradient d'éluion utilisé lors des analyses CLHP des résidus d'atrazine</i> . . . . .	48
2.5	<i>Gradient d'éluion utilisé lors des analyses HPLC des résidus d'isoproturon</i> . . . . .	48
3.1	<i>Constantes de dissipation de l'atrazine et de l'isoproturon après 3 applications dans les sols GM, GB et NB (les constantes de vitesse de dissipation <math>k_{dis-S ATRA_i}</math> et <math>k_{dis-S IPU_i}</math> sont en <math>j^{-1}</math> ; les demi-vie de dissipation, <math>t_{1/2dis-mod S ATRA_i}</math> et <math>t_{1/2dis-grap S IPU_i}</math> déterminées par les cinétiques ajustées par le modèle et <math>t_{1/2cal S ATRA_i}</math> et <math>t_{1/2cal S IPU_i}</math> calculées sont en jours, les taux ou concentrations initiales <math>C_{o-S ATRA_i}</math> et <math>C_{o-S IPU_i}</math> en % <math>^{14}C</math> initial ; les indices 1, 2 et 3 représentent les 1<sup>re</sup>, 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> applications).</i> . . . . .	84
3.2	<i>Constantes de dégradation des résidus totaux extractibles d'atrazine et d'isoproturon après 3 applications dans les sols GM, GB et NB (les constantes de vitesse de dégradation <math>k_{deg-S ATRA-i}</math> et <math>k_{deg-S IPU-i}</math> sont en <math>j^{-1}</math>, les demi-vies de dégradation, <math>t_{1/2deg-grap S ATRA-i}</math> et <math>t_{1/2deg-grap S IPU-i}</math> déterminées graphiquement à partir des cinétiques ajustées par le modèle et <math>t_{1/2deg-cal S ATRA-i}</math> et <math>t_{1/2deg-cal S IPU-i}</math> calculées sont en jours, les concentrations initiales <math>C_{o-S ATRA-i}</math> et <math>C_{o-S IPU-i}</math> en % <math>^{14}C</math> initial ; les indices 1, 2 et 3 représentent les 1<sup>re</sup>, 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> applications).</i> . . . . .	87
3.3	<i>Paramètres de minéralisation après 3 applications d'atrazine (ATRA) et d'isoproturon dans les sols GM, GB et NB (les constantes de vitesse de minéralisation <math>k_{min-ATRA-i}</math> et <math>k_{min-IPU-i}</math> sont en <math>j^{-1}</math> ; les demi-vie de minéralisation, <math>t_{1/2grap-S ATRA-i}</math> et <math>t_{1/2grap-S IPU-i}</math> déterminées graphiquement à partir des cinétiques ajustées par le modèle et <math>t_{1/2cal-S ATRA_i}</math> et <math>t_{1/2cal-S IPU-i}</math> calculées, sont en jours et les taux maxima minéralisables <math>C_{T-S ATRA-i}</math> et <math>C_{T-S IPU-i}</math> en % <math>^{14}C</math> initial ; les indices 1, 2 et 3 représentent les 1<sup>re</sup>, 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> applications).</i> . . . . .	90
3.4	<i>Temps de demi-vie (en jours) de l'atrazine et de l'isoproturon estimés dans les sols GM, GB et NB comparés aux valeurs proposée par différents auteurs à la suite d'expérimentations dans les conditions contrôlée de laboratoire et au champ.</i>	100

4.1	<i>Distribution de la radioactivité incorporée dans la biomasse microbienne des couches des micro-lysismètres installés à Grignon, 12 mois après l'application de l'atrazine sur les sols GM et GB des micro-lysismètres installés à Grignon. . . . .</i>	134
4.2	<i>Distribution de la radioactivité eincorporée dans la biomasse microbienne des couches des mini-lysismètres installés à Grignon 12 mois après l'application de l'atrazine sur les sols GM, GB et NB. . . . .</i>	135
4.3	<i>Évolution des paramètres de dissipation et de dégradation de <math>^{14}\text{C}</math>-atrazine dans les sous-couches des micro-lysismètres des sols GM et GB installés à Grignon pendant 12 mois (<math>k_{\text{dis Sol } x}</math> et <math>k_{\text{deg Sol } x}</math> sont en <math>j^{-1}</math>; <math>C_0</math> en <math>\%^{14}\text{C}</math> initial et <math>t_{1/2}</math> en jours).</i>	140
4.4	<i>Évolution des paramètres de dégradation dans les sous-couches de la couche de labour des micro-lysismètres des sols GB et NB installés à Nancy pendant 24 mois (<math>k_{\text{dis Sol } x}</math> et <math>k_{\text{deg Sol } x}</math> sont en <math>j^{-1}</math>; <math>C_0</math> en <math>\%^{14}\text{C}</math> initial et <math>t_{1/2}</math> en jours). . . . .</i>	140
4.5	<i>Constantes de formation des résidus non extractibles de <math>^{14}\text{C}</math>-atrazine dans la couche de labour. Évolution pendant 12 mois des constantes de formation dans les sous-couches des micro-lysismètres des sols GM et GB installés à Grignon (<math>k_{\text{res Sol } x}</math> est en <math>j^{-1}</math>; <math>C_0</math> en <math>\%^{14}\text{C}</math> initial et <math>t_{1/2}</math> en jours). . . . .</i>	142
5.1	<i>Exemples de paramètres d'entrée des modèles classiques. . . . .</i>	151
5.2	<i>Hypothèses de départ pour la modélisation dans un contexte d'applications répétées d'atrazine et d'isoproturon ("Applic-1", "Applic-2" et "Applic-3" sont des compartiments représentant la concentration de la solution de sol lors des 1<sup>re</sup>, 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> applications du pesticide dans le sol). . . . .</i>	157
5.3	<i>Paramètres d'évolution des résidus d'atrazine et d'isoproturon dans les trois sols en conditions contrôlées de laboratoire après la 1<sup>re</sup> application (les constantes de flux <math>k_{i \rightarrow j}</math> sont en <math>j^{-1}</math>, les demi-vie <math>DT_{50}</math> sont en jours). . . . .</i>	171
5.4	<i>Paramètres d'évolution des résidus d'atrazine et d'isoproturon dans les trois sols en conditions contrôlées de laboratoire après la 2<sup>e</sup> application (les constantes de flux <math>k_{i \rightarrow j}</math> sont en <math>j^{-1}</math>, les demi-vie <math>DT_{50}</math> sont en jours). . . . .</i>	172
5.5	<i>Paramètres d'évolution des résidus d'atrazine et d'isoproturon dans les trois sols en conditions contrôlées de laboratoire après la 3<sup>e</sup> application (les constantes de flux <math>k_{i \rightarrow j}</math> sont en <math>j^{-1}</math>, les demi-vie <math>DT_{50}</math> sont en jours). . . . .</i>	173
5.6	<i>Paramètres d'évolution des résidus d'atrazine et d'isoproturon dans les trois sols en conditions contrôlées de laboratoire après la 3<sup>e</sup> application (les constantes de flux <math>k_{i \rightarrow j}</math> sont en <math>j^{-1}</math>, les demi-vie <math>DT_{50}</math> sont en jours). . . . .</i>	174
5.7	<i>Constantes de vitesse des flux de transfert des résidus d'atrazine entre couches contiguës des micro-lysismètres des sols GM et GB installées à Grignon. . . . .</i>	182

5.8	<i>Paramètres d'évolution des flux de <math>^{14}\text{C}</math>-atrazine entre les compartiments d'une même couche des micro-lysimètres des sols GM et GB installés à Grignon (les constantes de vitesse de flux <math>k_{i \rightarrow j}</math> sont en <math>j^{-1}</math> et les temps de demi-vie <math>DT_{50}</math> en jours).</i> . . . . .	183
5.9	<i>Constantes de vitesse des flux de transfert des résidus d'atrazine entre couches contiguës des micro-lysimètres des sols NB et GB installées à Nancy.</i> . . . . .	187
5.10	<i>Paramètres d'évolution des flux de <math>^{14}\text{C}</math>-atrazine entre les compartiments d'une même couche des micro-lysimètres des sols GB et NB installés à Nancy (les constantes de vitesse de flux <math>k_{i \rightarrow j}</math> sont en <math>j^{-1}</math> et les temps de demi-vie <math>DT_{50}</math> en jours).</i> . . . . .	187
A.1	<i>Paramètres d'extraction au cours des premiers essais</i> . . . . .	221
A.2	<i>Rendements d'extraction du carbone organique (<math>C_{org}</math>) dans les mélanges sol-hydromix. Effets du temps statique et de la quantité d'hydromatrix ajoutée sur l'extraction (<math>C_{org}</math> est donné en <math>\text{mg.l}^{-1}</math>).</i> . . . . .	222