

Rétention du terbuméton et de trois métabolites par différents échantillons de sols.

S. Boudesocque¹, E. Guillon¹, J. Dumonceau¹, M. Aplincourt¹, D. Abiven², S. Biagianti-Risbourg², A. Conrad², M. Couderchet², O. Dedourge²

¹ GRECI, Université de Reims Champagne-Ardenne, BP 1039, 51687 Reims Cedex 2, michel.aplincourt@univ-reims.fr

² Laboratoire d'Eco-toxicologie, Université de Reims Champagne-Ardenne, BP 1039, 51687 Reims Cedex 2, michel.couderchet@univ-reims.fr

Rétention du terbuméton et de trois métabolites par différents échantillons de sols et un résidu ligno-cellulosique.....	1
1. Introduction.....	1
2. Rappel des résultats acquis en 2003.....	2
3. Résultats des travaux réalisés en 2004.....	3
4. Conclusion générale et perspectives.....	20
5. Bibliographie.....	21

1. Introduction

Le devenir des pesticides dans un sol fait intervenir plusieurs processus parmi lesquels on peut citer la dégradation microbienne, la photodécomposition, le prélèvement par la plante et l'adsorption-désorption. Ce dernier phénomène joue un rôle prépondérant dans ce devenir. Le transfert des pesticides, leur dégradation par les agents biotiques ou abiotiques, leur biodisponibilité et la contamination des eaux souterraines ou de surface en sont dépendants.

En solution dans l'eau du sol, les produits de traitement vont pouvoir être lessivés, dégradés ou disponibles le cas échéant pour les organismes. La proportion de produit présent dans l'eau du sol est fonction des caractéristiques du sol et des caractéristiques de la molécule. Un équilibre existe donc entre les particules et l'eau du sol. La quantité d'une molécule dans l'eau du sol (celle qui pourra être transférée) est fonction de l'adsorption-désorption de cette dernière et de sa dégradation.

Dans le cadre du Contrat d'Objectifs AQUAL mis en place avec le soutien d'Europol'Agro, le programme Zérophyto vise à mieux comprendre les interactions sol-pesticides au travers des phénomènes d'adsorption-désorption et de dégradation. Les études de comportement des produits phytosanitaires dans les sols se concentrent généralement sur la molécule mère. Pourtant les produits retrouvés dans l'environnement ne sont pas exclusivement ces molécules mères mais aussi leurs produits de dégradation. Par conséquent, le programme Zérophyto élargit le sujet du comportement des molécules phytosanitaires dans le sol à leurs métabolites. Le programme Zérophyto a pour but ultime de comprendre les mécanismes du transfert des produits phytosanitaires et de leurs métabolites vers les eaux de surface ou les eaux souterraines.

Pour ce qui concerne le *transfert de surface* des produits phytosanitaires, la mise en place de zones « tampons » fait partie des solutions qui peuvent être proposées pour réduire ou ralentir ce type de transfert. Des fossés remplis de matériaux adsorbant pourraient jouer un rôle déterminant dans la rétention des produits phytosanitaires.

Le programme Zérophyto porte sur l'étude du terbuméton et de trois de ses métabolites (Figure 1). La présence chronique de cet herbicide de la vigne et de son sous-produit

préférentiellement formé lors de sa biodégradation, le déséthyl-terbuméton, dans les eaux de captage alimentant la ville de Reims pose un problème pratique et aigu avéré pour la ressource en eau potable.

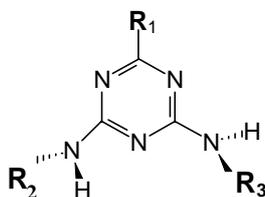


Figure 1 : Formule développée du terbuméton et des métabolites étudiés.

terbuméton (TER) : $R_1 = O-CH_3$, $R_2 = N-C_2H_5$, $R_3 = N-C(CH_3)_3$
déséthyl-terbuméton (DET) : $R_1 = O-CH_3$, $R_2 = NH_2$, $R_3 = N-C(CH_3)_3$
désisopropyl-terbuméton (DIT) : $R_1 = O-CH_3$, $R_2 = N-C_2H_5$, $R_3 = NH_2$
2-hydroxy-terbuméton (OHT) : $R_1 = OH$, $R_2 = N-C_2H_5$, $R_3 = N-C(CH_3)_3$

Notre travail est donc consacré, dans un premier temps, à l'étude et à la compréhension des phénomènes de rétention de ces produits par différents échantillons de sols représentatifs des sols régionaux, ainsi qu'à l'étude de l'influence de la présence d'un cation métallique, le cuivre (II). Afin de réaliser une étude complète, il nous faut étudier les systèmes pesticides/sols, puis pour évaluer l'influence des cations métalliques, les systèmes pesticides/cuivre et cuivre/sols, et enfin les systèmes pesticides/sols/cuivre.

Les sols étudiés sont des sols de vigne ayant des couvertures différentes : sol enherbé (commune de Nogent l'Abbesse), sol recouvert d'écorce (commune de Mailly Champagne), sol nu (communes de Cernay les Reims et Nogent l'Abbesse), et un sol de grandes cultures (commune de Bouy).

2. Rappel des résultats acquis en 2003

Les premières études ont été menées sur deux sols du vignoble provenant d'une même parcelle située sur la commune de Cernay les Reims, un sol de bas de parcelle et un sol de haut de parcelle. Ces études ont permis de mettre en évidence des différences dans les propriétés d'adsorption et de désorption du terbuméton et de ses métabolites dans les deux échantillons de sol :

- Pour le bas de parcelle, sol plus riche en matières organiques, l'adsorption a lieu majoritairement à l'intérieur de la structure poreuse des agrégats organo-minéraux et les interactions sol/pesticide sont de plus faible énergie. Par conséquent, les vitesses de désorption sont plus rapides et le pourcentage de pesticide désorbé sur une très longue période est susceptible d'être relativement élevé.
- En revanche, pour le haut de parcelle, l'adsorption a lieu dans une large mesure en surface des agrégats organo-minéraux et les interactions sont globalement de plus forte énergie. Par conséquent, les vitesses de désorption sont lentes et le pourcentage de pesticide désorbé à long terme risque d'être significativement affecté.

Le sol du bas de parcelle développe donc une capacité d'adsorption similaire mais un potentiel cinétique de désorption plus élevé que le sol du haut de parcelle. Plus précisément, ces premiers résultats nous fournissent des renseignements prometteurs sur la faculté du terbuméton et de son principal sous-produit de biodégradation, le déséthyl-terbuméton, à se désorber suivant la composition du sol, et par conséquent à être entraînés vers les eaux de surface ou transférés vers les nappes phréatiques.

3. Résultats des travaux réalisés en 2004

Afin d'essayer de comprendre les raisons pouvant expliquer les différences de comportement du terbuméton et de ses métabolites dans les sols étudiés précédemment nous nous sommes attachés à comprendre les propriétés de sorption dans des sols différents des deux premiers. Les deux premiers sols étaient des sols de vigne de Cernay-les-Reims sans couverture : des sols « nus ». Les sols sélectionnés ici sont des sols provenant (i) d'une parcelle de vigne située à Nogent-l'Abbesse et menée en enherbement naturel maîtrisé : « sol enherbé », (ii) d'une parcelle cultivée située à Bouy : « sol de grandes cultures ».

3.1. Les études de sorption sur un sol provenant d'entre-rang enherbé de vigne.

3.1.1 Le sol « enherbé »

Les caractéristiques du sol sont décrites dans le tableau suivant (Tableau 1) :

Tableau 1 : Caractéristiques granulométriques et physico-chimiques de l'échantillon de sol étudié, et comparaison avec les deux échantillons de sol de Cernay utilisés comme référence.

		Enherbé	Sol de Cernay Bas de parcelle	Sol de Cernay Haut de parcelle
Granulométrie (%)	Argile	28.9	31.6	32.0
	Limons fins	30.6	15.2	17.2
	Limons grossiers	8.4	11.3	11.0
	Sables fins	11.1	25.4	18.8
	Sables grossiers	21.0	16.5	21.0
Matières Organiques (%)		4.20	3.50	2.80
Azote Total (%)		0.19	0.16	0.12
Calcaire Total (%)		64.8	24.0	30.4
Rapport C/N		12.9	12.7	13.2
pH eau		8.26	8.22	8.35

D'un point de vue granulométrique, le sol est plus riche en limons fins que les précédents au détriment des limons grossiers et surtout des sables fins. Sa teneur en matière organique (4,2 %) est élevée et supérieure à celle des sols de Cernay. On peut remarquer aussi un pH (8,26) et un rapport C/N voisins de ceux précédemment décrits et par contre une teneur en calcaire total 2 fois plus élevée. Plusieurs propriétés de ce sol sont donc bien différentes de celles des sols précédents, ce qui devrait permettre de tirer des conclusions quant aux résultats de sorption.

3.1.2 Protocole

Traitement des sols

Avant toute expérimentation, les sols tamisés à 2 mm ont été mis en contact avec une solution d'eau ultrapure pendant 15 minutes afin d'éliminer les éventuelles particules en suspension. Puis, chaque sol a été séché à l'étuve à 110 °C pendant 24 heures. Par ailleurs, les isothermes d'équilibre ainsi que quelques cinétiques ont été effectuées sur du sol broyé. Dans ce cas, chaque quantité de sol (25 g) a été broyée pour obtenir une poudre résiduelle présentant exclusivement une granulométrie inférieure à 125 µm. Puis chaque échantillon a été séché à l'étuve.

Le dispositif

En vue d'effectuer les essais d'isothermes et de cinétiques, une solution mère de chaque pesticide a été préparée en dissolvant 10 mg de chaque composé dans 1 litre d'eau ultrapure (ALPHA Q, 18 MΩ cm⁻¹), le tout étant soumis à forte agitation magnétique (1000 tours min⁻¹) pendant au moins 48 heures à l'obscurité afin de prévenir une éventuelle photodégradation.

L'adsorption

Toutes les expériences d'adsorption ont été menées en réacteur discontinu à température ambiante (20 °C), sous agitation magnétique (1000 tours min⁻¹) à l'obscurité, dans un erlenmeyer de 150 mL contenant 0,5 g de sol et 100 mL d'une solution d'eau distillée présentant une concentration donnée en pesticide préparée à partir de la solution mère à 10 mg L⁻¹. Chaque erlenmeyer, autoclavé à 120 °C pendant 20 minutes, a été bouché avec du parafilm lui-même recouvert de papier aluminium. Au cours des essais la température est restée stable 25 ± 1 °C.

Les cinétiques d'adsorption ont été réalisées pour une concentration initiale en pesticide (C₀) de 1 mg L⁻¹ (± 1 %). La quantité de solution prélevée au cours du temps au moyen d'une seringue munie d'un filtre (filtre Millipore Millex 0,45 µm) a été fixée à 0,5 mL afin de minimiser les pertes de volume en liquide. D'ailleurs, lors du tracé des cinétiques, il a été tenu compte de l'accumulation du volume prélevé selon l'avancée de l'expérience. De plus, les différents échantillons prélevés ont été conservés en chambre froide à 4 °C jusqu'à analyse par HPLC.

Pour la réalisation des isothermes d'adsorption, les concentrations initiales en pesticide appliquées ont été de 1000, 750, 500, 250, 100 µg L⁻¹. Le choix de cette échelle de valeurs pour C₀ nous a donc permis de couvrir une large gamme pour la quantité de pesticide potentiellement adsorbable par le sol (Q_p) allant de 20 à 200 µg g⁻¹. D'après les enseignements fournis par les cinétiques, nous avons maintenu l'agitation pendant cinq à six jours afin de parvenir avec certitude à l'équilibre d'adsorption.

La désorption

Le dispositif expérimental utilisé pour les essais de désorption est le même que celui employé pour les essais d'adsorption, excepté que la solution d'eau distillée soumise à agitation avec le sol chargé est vierge de pesticide. S'agissant des isothermes de désorption, les 5 suspensions de sol relatives à chaque isotherme d'adsorption ont été centrifugées (6000 tours min⁻¹) afin de récupérer les quantités de sol correspondantes. Les 5 fractions de sol chargées différemment en pesticide sont alors mises en contact pendant 5 à 6 jours avec une solution d'eau distillée contenant du chlorure de calcium (10 mM).

Quant aux cinétiques, le sol contenant une teneur en pesticide avoisinant 100 µg g⁻¹ (± 5 %) a été uniquement mis en contact avec la solution de CaCl₂.

Le dosage des pesticides

Les concentrations résiduelles en pesticide sont mesurées par Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC) et détectées en UV-Visible. La chaîne HPLC Gynkotek[®] est composée des éléments suivants :

- - Pompe modèle 480. Phase éluante eau ultrapure / acétonitrile : 80/20 v/v. Débit de la phase éluante : 0.8 ml min⁻¹.
- - Dégazeur Gastorr[®] 130.
- - Injecteur manuel (volume injecté : 20 µL).
- - Pré-filtre (diamètre : 0.5 µm).
- - Colonne remplie apolaire C18 Kromasil[®] (longueur : 250 mm, diamètre interne : 3 mm).
- - Détecteur UV-visible à barrette de diodes 340S.
- - Station d'acquisition de données Chromeleon[®].

La longueur d'onde de détection du désisopropyl-terbuméton et du déséthyl-terbuméton est de 210 nm alors que celles du terbuméton et du 2-hydroxy-terbuméton sont respectivement de 220 nm et de 235 nm. Il s'est avéré que la limite de détection directe pour les 4 pesticides est comprise entre 2 et 5 $\mu\text{g L}^{-1}$.

L'étalonnage a été réalisé à partir d'une solution mère de pesticide à 10 mg L^{-1} obtenue en dissolvant précisément 1 mg de pesticide dans 100 ml d'acétonitrile. Pour chaque pesticide, deux courbes d'étalonnage ont été ainsi tracées en s'appuyant sur les solutions suivantes, obtenues en diluant la solution mère dans de l'eau ultrapure : 1000, 500, 200, 100 $\mu\text{g L}^{-1}$, et 50, 20, 10, 5 $\mu\text{g L}^{-1}$.

3.1.3 Résultats

Les cinétiques d'adsorption

Les cinétiques d'absorption sont représentées par la baisse de concentration des pesticides dans l'eau contenant la fraction solide de sol (Figure 2). La concentration baisse rapidement dans un premier temps puis lentement ensuite pour atteindre l'équilibre après environ 2 jours d'incubation. Pour le terbuméton cet équilibre se situe vers 0,55 ce qui signifie que 45 % du terbuméton a été adsorbé par le sol. Cette valeur n'est plus que de 25 % pour le DET, 18 % pour le DIT et le OHT.

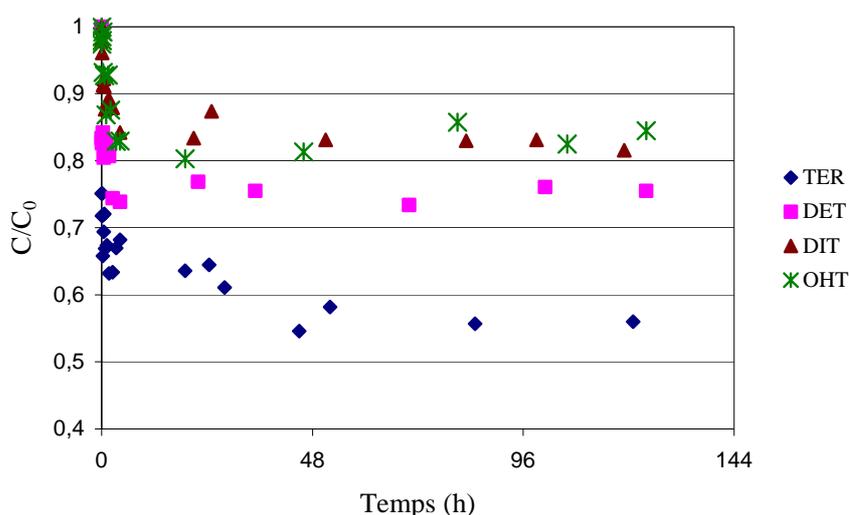


Figure 2 : Cinétique de disparition du terbuméton et de ses métabolites dans la phase aqueuse correspondant à leur adsorption.

Les isothermes d'adsorption

Les isothermes d'adsorption et de désorption permettent de juger des capacités d'adsorption et de désorption d'un sol pour un produit donné. Pour déterminer ces isothermes d'équilibre, il est nécessaire de mettre en contact le sol avec des concentrations variables du produit (par exemple le terbuméton) dilué dans l'eau. A intervalles de temps réguliers, des aliquotes sont prélevés et le produit dosé dans la phase aqueuse. Lorsque les concentrations n'évoluent plus on a atteint l'équilibre, la concentration de produit est alors C_e . Il ne reste plus dans la phase aqueuse que le produit qui n'est pas adsorbé. L'isotherme d'adsorption est alors un graphique dans lequel les diverses C_e sont portées en fonction des quantités adsorbées (Figure 3).

Ainsi, pour chaque pesticide, une isotherme d'adsorption a été réalisée afin de juger de l'influence des propriétés du terbuméton et de ses trois métabolites sur les performances de rétention et

de relargage du sol. Les valeurs expérimentales de la concentration à l'équilibre (C_e) obtenues pour chaque système ont permis d'accéder à la quantité adsorbée correspondante (Q_e) via la relation suivante :

$$Q_e = \frac{C_0 - C_e}{W} \quad (W : \text{quantité de sol en g L}^{-1}). \quad (\text{Équation 1})$$

Les cinétiques établies pour différentes quantités initiales de pesticide permettent de déterminer des isothermes à l'aide des valeurs à l'équilibre (Figure 3). Ces isothermes montrent la capacité d'adsorption du sol. En accord avec les observations de la Figure 2, le terbuméton, composé plus hydrophobe, s'adsorbe plus que le déséthyl-terbuméton et plus que les 2 autres métabolites qui présentent un caractère plus hydrophile et donc plus d'affinité pour l'eau du sol. De plus, ce constat peut s'expliquer par l'affinité accrue du terbuméton pour les entités hydrophobes du "ciment" humique. Plusieurs études rapportent également que l'atrazine présente pour différents types de sols, des valeurs de K_{OC} plus élevées que ses deux principaux métabolites présents en milieu naturel sous forme moléculaire, le déséthyl-atrazine (DEA) et le désisopropyl-atrazine (DIA) (Donati et al., 1994 ; Moreau et Mouvet, 1997 ; Thurman et al., 1994).

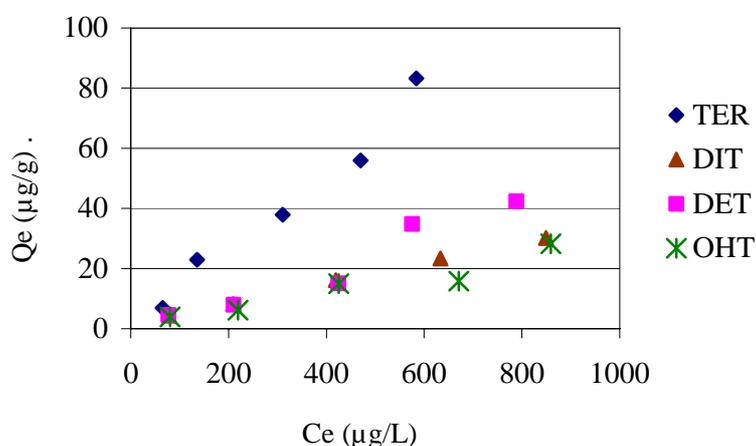


Figure 3 : Capacité d'adsorption de l'échantillon de sol enherbé.

Chaque isotherme d'équilibre permet d'estimer le coefficient K_{OC} (Equation 2) qui est communément utilisé comme indicateur du potentiel d'adsorption ou de désorption d'un sol pour un pesticide donné.

$$K_{OC} = \frac{Q_e}{C_e} \times \frac{100}{\%MO} \quad (\%MO : \text{matières organiques du sol en } \%). \quad (\text{Équation 2})$$

Plus la valeur du K_{OC} relatif à l'isotherme d'adsorption ($K_{OC,ads}$) est élevée, plus la capacité d'adsorption du sol pour le pesticide sera importante.

Les valeurs de K_{OC} correspondante à ces capacités d'adsorption ont été calculées à partir des données de la Figure 3 et sont présentées dans le Tableau 2. Les résultats montrent à nouveau que les différents composés ont des coefficients d'adsorption différents. L'ordre est comparable à celui que nous avons observé pour le sol de haut de parcelle à Cernay. Toutefois dans le sol enherbé, le K_{OC} du terbuméton est plus faible que celui décrit dans la littérature (Tomlin, 2000). De même les valeurs des coefficients sont beaucoup plus faibles que dans les 2 sols de Cernay, confirmant l'adsorption moindre des 4 composés sur le sol enherbé. Alors que pour les 2 sols de Cernay, l'influence de la nature du sol sur l'adsorption des 4 molécules apparaît peu significative, on observe entre le sol enherbé et les 2 autres sol un comportement tout à fait différent. Cette différence ne semble pas due à la teneur en matière organique (MO), puisque vue que celle-ci est supérieure dans le sol enherbé on pourrait

s'attendre à une adsorption plus importante, même si l'équation 2 prend en compte la teneur en MO. Une explication pourrait être due au taux important de calcaire qui ne participerait pas à l'adsorption, mais l'explication définitive reste sujette à des analyse complémentaire notamment sur la répartition du calcaire total dans les fractions de granulométries différentes.

Tableau 2 : Valeurs de $K_{oc,ads}$ ($L g^{-1}$) du sol enherbé et des 2 sols références de Cernay.

	Sol enherbé	Sol de Cernay Bas de parcelle	Sol de Cernay Haut de parcelle
Terbuméton	3.17	22.80	20.10
Déséthyl-terbuméton	1.36	4.40	12.30
Désisopropyl-terbuméton	0.81	3.94	5.36
Hydroxy-terbuméton	0.69	10.4	6.63

La désorption

Les isothermes de désorption sont moins linéaires que ceux d'adsorption. Alors que nous sommes certains d'avoir atteint l'équilibre dans le cas de l'adsorption, il est possible que nous n'y soyons pas parvenus dans le cas de la désorption au bout de 5 à 6 jours d'agitation du sol chargé en pesticide dans la solution de $CaCl_2$.

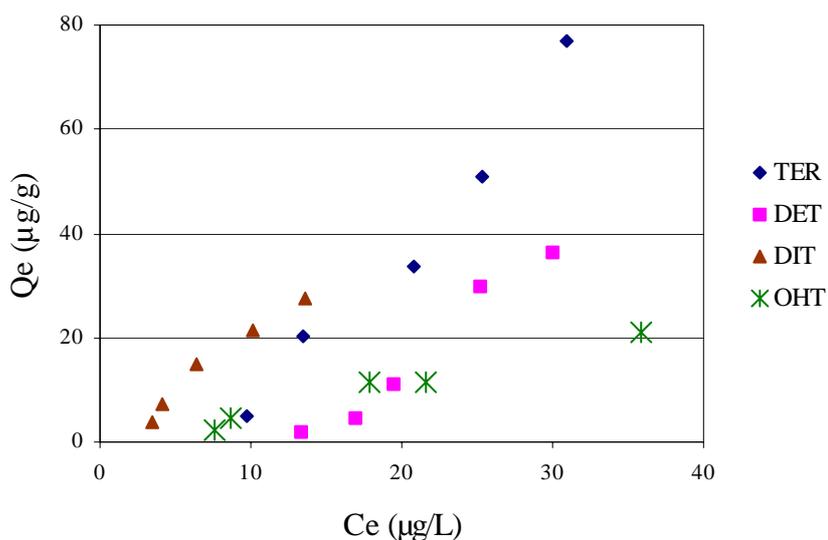


Figure 4 : Capacité de désorption de l'échantillon de sol enherbé représentée par les isothermes de désorption du terbuméton et de ses métabolites.

Cependant, les isothermes permettent malgré tout de déterminer des K_{OC} et donc la comparaison des produits et des sols (Tableau 3). Comme nous l'avons vu pour le K_{oc} relatif à l'isotherme d'adsorption ($K_{oc,ads}$) plus la valeur du K_{oc} relatif à l'isotherme de désorption ($K_{oc,dés}$) sera élevée, plus la capacité de désorption du sol sera faible.

Tableau 3 : Valeurs de $K_{oc,dés}$ ($L g^{-1}$) du sol enherbé et des 2 sols références de Cernay.

	Sol enherbé	Sol de Cernay Bas de parcelle	Sol de Cernay Haut de parcelle
Terbuméton	76.4	117.3	677.1
Déséthyl-terbuméton	54.5	61.8	372.1
Désisopropyl-terbuméton	53.6	43.9	132.5
Hydroxy-terbuméton	15.0	56.9	370.7

Il apparaît donc que la capacité de désorption du sol enherbé sera plus faible pour le terbuméton que pour le DET et le DIT et que l'hydroxy-terbuméton aura plus de facilité à se désorber que les 3 autres composés. Contrairement à ce que l'on observe pour l'adsorption, les $K_{OC,dés}$ du sol enherbé sont proche du sol de bas de parcelle de Cernay. Le sol de haut de parcelle de Cernay montrant des capacités de désorption très faibles. Nous pouvons proposer que le sol de haut de parcelle moins riche en entités organiques poreuses développerait un plus faible potentiel de désorption.

Dans tous les cas les $K_{OC,dés}$ sont supérieurs aux $K_{OC,dés}$. Ainsi, quels que soient la nature du sol et du pesticide et le mode de désorption appliqué, nous pouvons conclure que pour un même temps d'expérimentation, le phénomène d'adsorption est prépondérant sur le phénomène de désorption.

Ces premiers enseignements sur le faible pouvoir désorbant du sol confirme ce qui était proposé dans le cas des sols de Cernay, c'est à dire que soit les interactions mises en jeu sont plutôt de forte énergie, soit les cinétiques de désorption sont bien plus lentes que les cinétiques d'adsorption. La désorption du terbuméton et de ses métabolites apparaît donc comme un phénomène lent qui pourrait ainsi être une des explication à la présence du terbuméton et du DET dans les eaux souterraines de notre région.

3.2. Les études de sorption sur un sol provenant de grandes cultures.

Les composés étudiés ici sont le terbuméton et le terbuméton déséthyl, principal sous-produit retrouvé dans les eaux de captage.

Le protocole expérimental utilisé ici est le suivant : le solide, après séchage, broyage et tamisage à 100 μm , est mis en suspension et agité pendant 24 heures dans de l'eau distillée afin de l'hydrater (50 mg dans 25 mL, concentration en solide : 2g.L^{-1}). L'ensemble des expériences de sorption est réalisé par la technique des « batchs » (un point par pot). Le pH est ajusté par ajout d'acide chlorhydrique $0,5\text{ mol.L}^{-1}$ ou de potasse $0,1\text{ mol.L}^{-1}$. Le pesticide est alors introduit à partir d'une solution mère de concentration $10^{-4}\text{ mol.L}^{-1}$, afin d'obtenir une concentration finale égale à $10^{-5}\text{ mol.L}^{-1}$. La suspension est agitée durant une nuit, temps nécessaire à l'équilibre de sorption, à température ambiante. Après avoir de nouveau pris le pH, les suspensions sont filtrées et la concentration de terbuméton restante en solution est déterminée par Chromatographie Liquide Haute Performance (HPLC). La colonne utilisée est une colonne apolaire C18 Kromasil[®], la phase mobile est un mélange acétonitrile/eau : 70/30 v/v avec un débit de 0,7 mL/min. La quantité de pesticide fixée à la surface du solide est déduite à partir de la concentration initiale.

La courbe de sorption du terbuméton par l'échantillon de sol en fonction du pH est reportée Figure 5. Les pourcentages obtenus, compris entre 0 et 3%, indiquent, de façon surprenante, que l'échantillon de sol de grandes cultures ne retient pas le terbuméton sur l'ensemble de la gamme de pH étudiée.

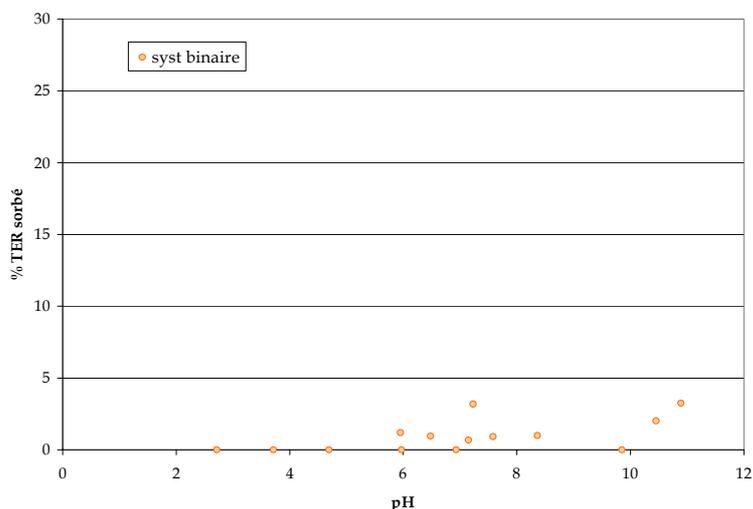


Figure 5 : Adsorption en fonction du pH du terbuméton ($c = 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$) par l'échantillon de sol de grandes cultures (2 g.L^{-1})

Le terbuméton n'étant pas retenu par le sol de grandes cultures, il est donc, à ce niveau, lessivé, ou transféré à travers le sol vers les aquifères. Il y a donc une très faible probabilité pour qu'il se dégrade (cf. § 3.6). C'est la raison pour laquelle l'étude de la rétention des métabolites du terbuméton, sur ce sol, n'a pas été étudiée.

3.3. Adsorption du terbuméton sur différents constituants des sols

Afin de mieux comprendre les différences en terme de capacité de rétention et de cinétique d'adsorption et de désorption, les mécanismes d'adsorption des produits phytosanitaires dans les sols et de relier composition du sol et réactivité, nous avons étudié la rétention du terbuméton par différents constituants de la fraction minérale des sols. Il est connu que la matière organique joue un rôle essentiel dans les phénomènes de sorption (Xing, 1996). Toutefois, le fait que le sol de grandes cultures ne retienne pas le terbuméton, alors que les sols de vignes (Cernay et Nogent l'Abbesse) le retiennent de façon significative, n'est pas dû à la matière organique (Tableau 4), les pourcentages en matière organique étant très voisins. C'est pourquoi, nous avons cherché à déterminer quels sont les constituants de la fraction minérale qui interviennent lors de la sorption du terbuméton.

Dans le Tableau 4, sont reportées, à titre d'exemple, les compositions massiques obtenues par diffraction des rayons X (DRX) et affinement Rietveld de deux échantillons de sols (un sol de vigne « nu » et un sol de « grandes cultures »). On peut constater que les deux sols sont de compositions radicalement différentes. En effet, le sol de grandes cultures contient plus de deux fois plus de calcite (carbonate de calcium, 67%). En revanche, il contient beaucoup moins de quartz (SiO_2) et d'argiles (kaolinite, illite, montmorillonite,...). Enfin, de façon surprenante, il ne contient pas ou peu d'oxyhydroxyde de fer de type goethite. Ainsi, nous avons donc étudié dans un premier temps l'adsorption du terbuméton sur la calcite, puis dans un deuxième temps nous avons réalisé les mêmes expériences sur le quartz. Les études sur une argile (kaolinite) et sur la goethite sont actuellement en cours.

Tableau 4 : Composition massique des échantillons de sols obtenue par DRX-Rietveld

	Sol de vigne (Cernay)	Sol de grandes cultures
Calcite	30	67
Quartz	38	15
Argile	18	6.5
Goethite	6	-
Matière organique	3,5	3,6

Pour ces différents constituants le protocole expérimental utilisé est le suivant : le solide est agité pendant 7 jours dans l'eau distillée (temps correspondant à l'hydratation du solide). Le pH n'ayant pas d'influence sur l'adsorption du terbuméton, ces expériences sont réalisées au pH naturel de la calcite et du quartz. Le terbuméton est introduit à partir d'une solution mère de concentration 10^{-4} mol.L⁻¹ de façon à obtenir une concentration de 10^{-5} mol.L⁻¹. Les suspensions sont ensuite agitées durant 1 nuit, temps nécessaire à l'équilibre de sorption, puis sont filtrées et la concentration en terbuméton restante en solution est déterminée par HPLC. La concentration adsorbée est déterminée par différence entre la concentration initiale et la concentration restante en solution.

Ces expériences ont montré que le terbuméton ne s'adsorbe ni sur la calcite, ni sur le quartz. Ainsi, le fait que les échantillons de sol de vigne sorbent de façon significative le terbuméton et que le sol de grandes cultures ne le retienne pas n'est pas due à ces deux constituants. La fraction minérale mise en jeu lors de la sorption du terbuméton correspond donc certainement aux argiles (kaolinite particulièrement) et/ou à la goethite. (Sheng, 2001).

3.4. Influence de la présence du cuivre sur la rétention des pesticides

Le cuivre(II) est un cation métallique ubiquiste des sols qui peut avoir une origine naturelle mais aussi anthropique. En effet, les traitements de la vigne associent très fréquemment le cuivre. Dans ce cadre, nous avons cherché à évaluer l'influence de ce cation métallique sur les phénomènes d'adsorption du terbuméton et du terbuméton déséthyl par deux échantillons de sols. Le premier échantillon est un sol de vigne nu provenant de Cernay-les Reims, le deuxième un sol de grandes cultures (Bouy). Notre étude s'est focalisée essentiellement sur ces deux composés car ce sont ceux que l'on retrouve en quantité importante au niveau des zones de captage.

Le protocole est le même pour les deux sols. Le solide est agité pendant 3 jours dans l'eau distillée. Ensuite, les expériences de sorption sont réalisées selon la technique des « batchs ». Les pH sont ajustés avec de l'acide chlorhydrique 0,1 mol.L⁻¹ ou de la potasse 0,1 mol.L⁻¹, puis le pesticide et le cation métallique sont introduits simultanément. Le pesticide est ajouté à partir d'une solution mère de concentration 10^{-4} mol.L⁻¹ et l'ion Cu²⁺ est lui introduit à partir d'une solution de nitrate de cuivre(II) de concentration 10^{-2} mol.L⁻¹. La concentration finale en pesticide est de 10^{-5} mol.L⁻¹ et en cuivre de 2.10^{-4} mol.L⁻¹. La suspension est agitée durant une nuit, temps nécessaire à l'équilibre de sorption. Avant de filtrer les suspensions, les pH sont de nouveau mesurés. Puis la concentration en pesticide restante en solution est mesurée par HPLC. La quantité de pesticide fixée à la surface du solide est obtenue par différence entre la concentration initiale et la concentration restante en solution. Ce protocole expérimental est appelé système ternaire simultané.

Une autre expérience a été réalisée, où le pesticide est mis en contact avec un solide préalablement saturé en cuivre(II). Pour cela, nous avons dans un premier temps effectué la sorption du cuivre(II) sur le solide, qui a été ensuite isolé et séché. Puis dans un second temps, nous avons réalisé l'adsorption des pesticides sur le solide saturé en cuivre(II). Ce protocole est appelé système ternaire successif.

La Figure 6 montre que l'adsorption du terbuméton est indépendante du pH aussi bien en absence qu'en présence de cuivre(II). En absence de cuivre(II), le sol retient environ 30% du terbuméton introduit, ce qui correspond à 0,34 mg de pesticide par gramme d'échantillon de sol. L'étude du système ternaire simultané (Figure 6) indique que la présence de l'ion Cu(II) diminue de 10% l'adsorption du terbuméton sur l'échantillon de sol de vigne nu. Cette diminution est vraisemblablement due à la complexation en solution du terbuméton par le Cu(II), ou à une compétition des deux composés pour la surface du solide, le cuivre libre et la surface étant alors en compétition vis à vis du pesticide. Le pourcentage de terbuméton sorbé diminue encore de 10% dans le cas du système ternaire successif (Figure 6). Les sites de surface sont préalablement saturés en cuivre(II) et seule une faible quantité de terbuméton se fixe sur le solide. Ceci indique que le cuivre et le terbuméton occupe préférentiellement les mêmes sites de surface, ou bien que le cuivre fixé sur la

surface modifie la charge globale de celle-ci et affecte ainsi de façon significative l'adsorption du terbuméton.

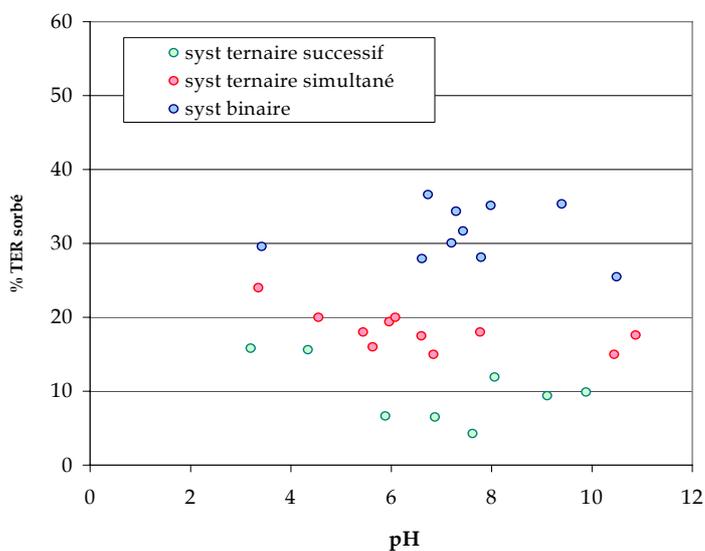
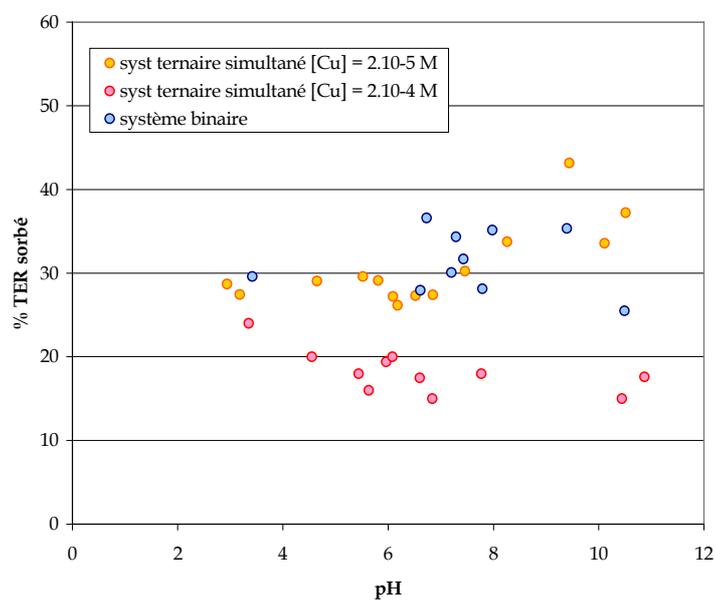


Figure 6 : Influence de l'ion Cu(II) ($c = 2.10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$) sur l'adsorption du terbuméton



($c = 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$) par l'échantillon de sol de vigne nu (2 g.L^{-1})

Figure 7 : Influence de la concentration en cuivre(II) sur l'adsorption du terbuméton sur le sol de vigne nu (2 g.L^{-1})

Le cuivre(II) influençant de façon significative la sorption du terbuméton, nous avons fait varier la concentration en cation métallique. Pour cela, nous avons réalisé un système ternaire simultané où la concentration en cuivre(II) est de $2.10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$. La courbe de sorption correspondante

est présentée Figure 7. Dans le cas du système ternaire simultané où la concentration en cuivre(II) est de $2.10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$, la courbe de sorption est quasiment confondue avec la courbe du système binaire. Le cuivre n'a donc, dans ce cas, pas d'influence sur l'adsorption du terbuméton. Il faut donc que la concentration en cuivre(II) soit relativement importante pour que l'adsorption du terbuméton soit affectée.

Dans le cas du terbuméton déséthyl, principal métabolite du terbuméton, le phénomène d'adsorption est également indépendant du pH (Figure 8). Toutefois, les quantités adsorbées sont beaucoup plus faibles que pour le terbuméton (5% correspondant à 0,05 mg/g de sol). De plus, contrairement au terbuméton, l'adsorption n'est pas modifiée par la présence de cuivre. Il est à noter que seul le système ternaire successif a été étudié. En effet, le terbuméton déséthyl étant un métabolite du terbuméton, il ne peut être introduit simultanément avec le cuivre lors d'un traitement.

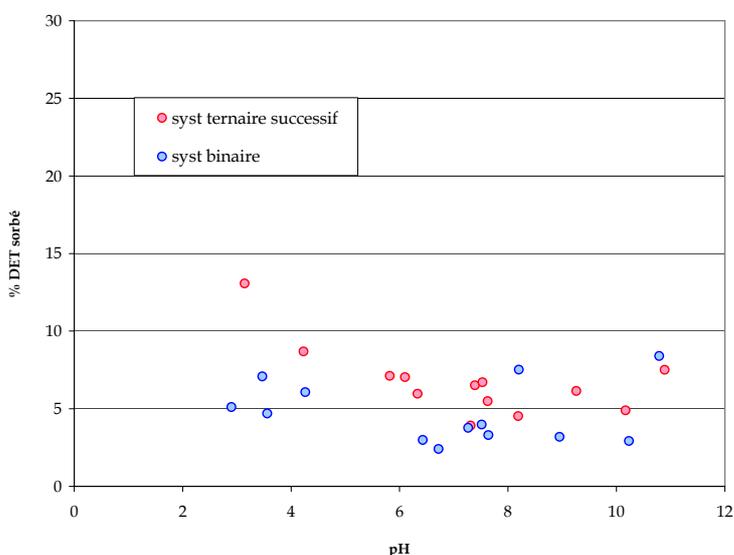


Figure 8 : Comparaison d'adsorption du terbuméton déséthyl ($c = 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$) sur le sol de vigne nu (2 g.L^{-1})

Bien que le terbuméton ne soit pas sorbé par le sol de grandes cultures, l'influence du cuivre(II) a tout de même été réalisée. En effet, certains pesticides, comme l'amtrole (Flogeac, 2005) qui n'est pas retenu dans les sols en absence de cation métallique, s'adsorbe à la surface des solides de manière significative en sa présence. Dans le cas du terbuméton, la présence de cuivre ne modifie pas ses propriétés de sorption, et il sera donc, dans ce type de sol, directement transféré vers les aquifères.

3.5. La (bio)-dégradation du terbuméton et son impact sur des activités enzymatiques indicatrices de la qualité biologique des sols

3.5.1 Introduction

Comme indiqué dans l'introduction générale, le devenir des pesticides dans un sol fait intervenir les mécanismes de sorption – désorption ainsi que les processus de dégradation physico-chimique et / ou biologique. En ce qui concerne la dégradation physico-chimique du terbuméton dans l'eau, une étude précédente, menée par David Abiven (post-doctorant au Laboratoire d'Eco-Toxicologie, 2003-2004), a montré l'absence de dégradation au pH des eaux naturelles (7,0-8,0). En

revanche, une dégradation est observée dans l'eau acidifiée (pH = 1,0), avec formation du 2-hydroxy-terbuméton.

Suite à ces résultats, nous nous sommes alors intéressés au processus de biodégradation qui constitue un des mécanismes majeurs de la transformation des pesticides dans les sols (Cheng, 1990). Les activités enzymatiques participent à la dégradation des pesticides mais aussi à la minéralisation des éléments nutritifs assimilables par les plantes (Dick, 1997). Par ailleurs, elles constituent des biomarqueurs fonctionnels de la qualité biologique des sols. Il semble donc particulièrement important de préciser les conséquences éventuelles de l'apport de produits phytosanitaires sur le fonctionnement enzymatique des sols. La dégradation des pesticides, le développement optimal des cultures et le maintien de la qualité de l'environnement en sont largement dépendants.

Dans ce contexte, les questions soulevées par la présente étude sont les suivantes : le terbuméton est-il activement biodégradable ? Un couvert végétal favorise-t-il sa dégradation ? Quels sont les effets de ce pesticide sur les activités enzymatiques du sol ?

3.5.2 Matériels et méthodes

Des prélèvements de sols ont été effectués sous culture de vigne sans couverture de l'inter rang (sol vigne nu), avec une couverture de l'inter rang constituée d'herbe (sol vigne herbe), et sous une grande culture. Après séchage et tamisage des sols à 2 mm, des solutions de terbuméton (TER) ont été apportées à chaque sol, pour atteindre 80% de la capacité au champ des sols (0 – 0,34 – 0,68 – 1,35 – 13,51 mg de terbuméton / kg sol sec). Après 15 jours d'incubation, le terbuméton et ses métabolites ont été analysés par CLHP et les activités enzymatiques ont été mesurées. Les enzymes étudiées sont celles impliquées dans le cycle du carbone (β -glucosidase), de l'azote (uréase) et du soufre (arylsulfatase), ainsi que l'activité d'hydrolyse du substrat Fluorescéine DiAcétate (FDA) qui reflète l'activité globale enzymatique.

3.5.3 Résultats

Dégradation du terbuméton

Les premiers résultats après 15 jours d'incubation ne montrent pas de dégradation du terbuméton (

Figure 9), ce qui est en accord avec sa forte persistance dans l'environnement et pourrait expliquer qu'il se retrouve encore à l'heure actuelle dans les nappes phréatiques. Cependant, les analyses d'eau dans les nappes révèlent aussi la présence du métabolite du terbuméton, le déséthyl-terbuméton. On peut donc supposer que le terbuméton serait peu ou non-accessible aux microorganismes (en rapport avec son adsorption) et/ou la dégradation du terbuméton serait un

phénomène très lent. La même expérience après 6 mois d'incubation sera donc réalisée prochainement.

Dans notre expérience nous nous sommes basés sur les quantités de terbuméton restant dans le sol pour apprécier sa dégradation, or il est possible que des quantités très faibles de métabolites du terbuméton soient apparues. Toutefois, la méthode utilisée dans notre expérience pour analyser le terbuméton ne permet pas de détecter des quantités très faibles de déséthyl-terbuméton. Pourtant, afin de confirmer nos résultats, c'est-à-dire la non dégradation du terbuméton après 15 jours, il s'avère nécessaire de pouvoir analyser la présence éventuelle de traces de déséthyl-terbuméton. Une amélioration de la technique d'analyse est en cours de développement afin de permettre d'abaisser la limite de détection de l'herbicide et de ses métabolites (cf. point 3.6).

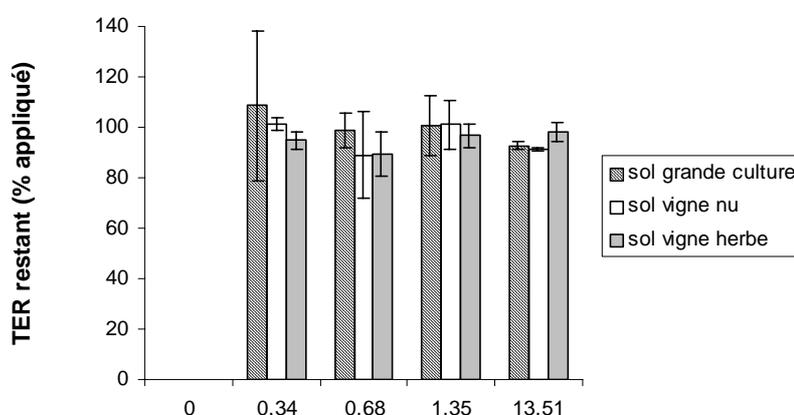
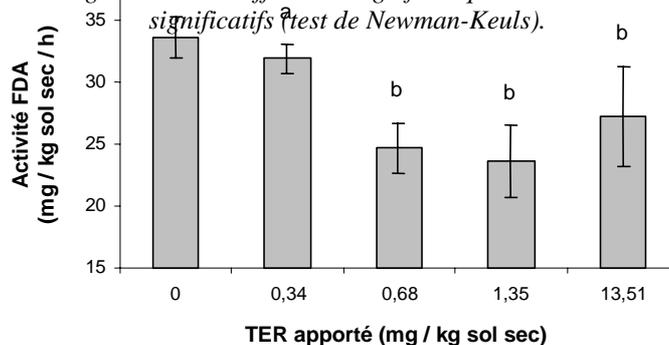


Figure 9 : Pourcentage de terbuméton restant après 15 jours d'incubation

Activités enzymatiques

Les résultats obtenus montrent que les concentrations les plus élevées en terbuméton affectent les activités enzymatiques. Il est intéressant de constater que selon le couvert végétal les enzymes présentent des sensibilités différentes vis-à-vis du terbuméton : pour un sol de vignoble avec une couverture enherbée de l'inter rang, nous observons une diminution de l'activité FDA dès 0,68 mg de terbuméton / kg sol sec (Figure 10). Ce résultat s'expliquerait par une diminution du nombre de microorganismes et / ou de leurs activités : diminution des activités enzymatiques ou inhibition des activités enzymatiques.

Figure 10 : Activité Fluorescéine DiAcétate (FDA) après 15 jours d'incubation, en fonction des concentrations de terbuméton apportées à un sol de vignoble avec une couverture enherbée de l'inter rang. Des lettres différentes signifient que les résultats sont statistiquement significatifs (test de Newman-Keuls).



En revanche, pour un sol de vignoble sans couverture de l'inter rang et un sol sous grande culture, les activités arylsulfatase et uréase respectivement, sont stimulées à partir de 1,35 mg de terbuméton / kg sol sec (Figure 11).

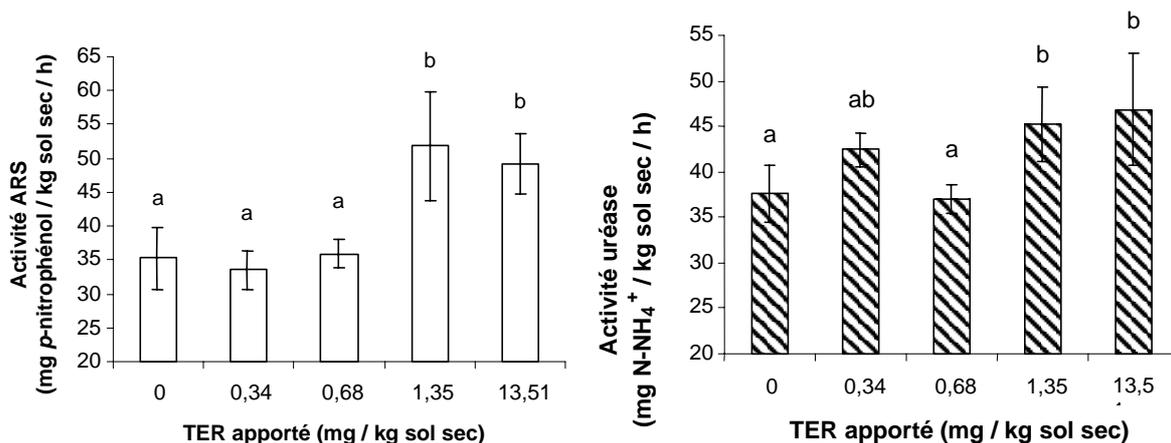


Figure 11 : Activité arylsulfatase (ARS) et uréase après 15 jours d'incubation, en fonction des concentrations en terbuméton apportées à un sol de vignoble sans couverture de l'inter rang (ARS) et à un sol sous grande culture (uréase). Des lettres différentes signifient que les résultats sont statistiquement significatifs (test de Newman-Keuls).

Ces augmentations d'activités enzymatiques soulèvent une question : y a-t-il plus d'enzymes synthétisées ou une activation réelle de l'activité enzymatique par le terbuméton ?

Deux hypothèses peuvent être émises quant à l'action du terbuméton :

- Le terbuméton constitue un substrat pour la croissance des microorganismes.
- Des doses élevées en terbuméton provoquent la mort des microorganismes et par conséquent la libération des enzymes.

En accord avec d'autres études, les effets des pesticides sur les activités biologiques ne peuvent être généralisés : les réponses sont dépendantes non seulement des enzymes mais aussi des pesticides et du type de sol (Dick, 1997 ; Sannino et Gianfreda, 2001).

3.6. Extraction/concentration en phase solide du terbuméton et de ses principaux métabolites à partir d'échantillons d'eau et leur quantification par chromatographie liquide haute performance (HPLC)

3.6.1 Contexte et objectifs

Le terbuméton et ses principaux métabolites se trouvent dans les eaux superficielles et les sols à de très faibles concentrations qui ne permettent pas leur quantification directement par chromatographie liquide haute performance (HPLC) comme indiquée dans la partie précédente (*cf.* §. 3.3.2.1.). De fait, la méthode analytique doit être améliorée au niveau de la préparation des échantillons d'eau en incluant une étape d'extraction/concentration en phase solide. Basée en partie sur l'expérience acquise par le laboratoire et des travaux de la littérature pour d'autres s-triazines (Hernandez *et al.*, 1998; Pinto et Jardim, 2000), la méthode analytique a été développée de façon à analyser rapidement et simultanément le terbuméton et ses métabolites (DET; DIT; OHT) après l'étape d'extraction/concentration en phase solide des 4 composés.

3.6.2 Matériel et méthodes

Les composés organiques utilisés, terbuméton, déséthyl-terbuméton, 2-hydroxy-terbuméton et déisopropyl-terbuméton sont des standards analytiques (pureté min 99 %) commercialisés par Dr Ehrendorfer GmbH (Augsburg, Allemagne).

La séparation et la quantification des composés organiques en solution par HPLC est effectuée avec le système analytique décrit plus haut (cf. point 3.1.2) additionné d'un injecteur automatique (Dionex ASI-100) équipé d'une boucle d'injection de 250 μL .

Vingt μL d'échantillon concentrés sont injectés automatiquement dans le système de HPLC. La phase mobile est réglée à un débit de 0,8 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ et est maintenue à température de $22 \pm 3^\circ\text{C}$. La séparation des composés organiques et leur quantification sont réalisées en condition d'élution isocratique d'acétonitrile et de tampon phosphate ($50 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) à pH 7,0 dans les proportions 35:65 (v/v). Le tampon phosphate est réalisé en dissolvant du KH_2PO_4 ($50 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) (VWR, Normapur, 26 926.298) dans de l'eau osmosée et est ajusté à pH 7,0 avec NaOH ($10 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$). La phase mobile est filtrée sur une membrane nylon de porosité 0,22 μm (Millipore, 7402-004) avant son utilisation. La détection est faite en UV à 220 nm pour le terbuméton et à 210 nm pour les trois métabolites. Le volume mort de la colonne est estimé en utilisant l'acétonitrile comme composé non retenu.

La gamme d'étalonnage est réalisée en effectuant les dilutions aux concentrations 100, 250, 500, 750 et $1000 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ et 5, 12,5, 25, 50 et $75 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ dans de la phase mobile à partir d'une solution mère à $10000 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ préparée dans de l'acétonitrile et les solutions diluées sont conservées à 4°C jusqu'à l'injection. Les dilutions sont ensuite injectées dans le système de HPLC.

3.6.3 Résultats

Chromatographie liquide haute performance.

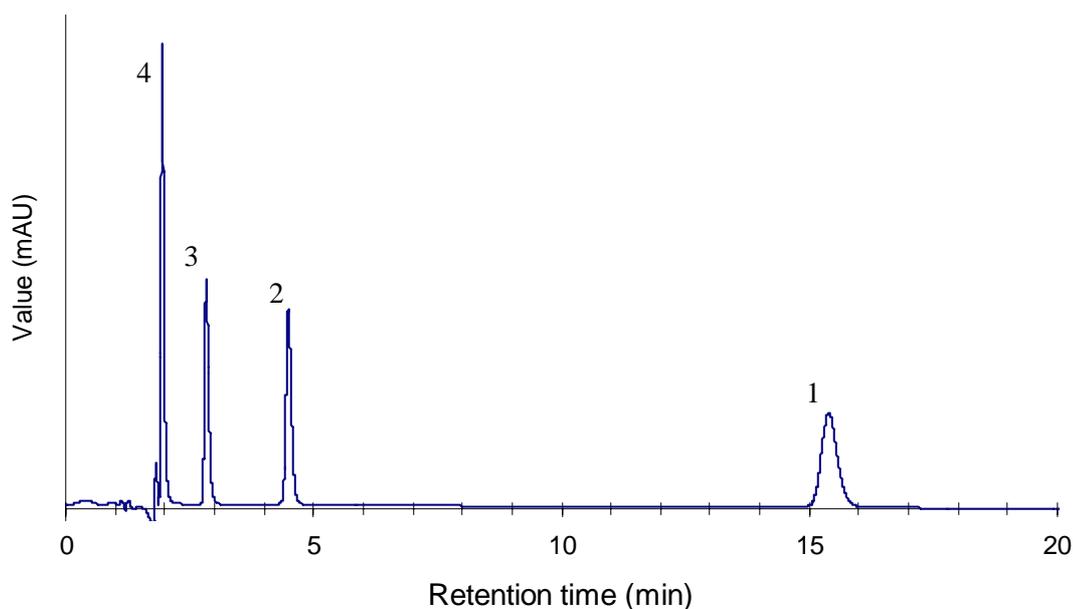


Figure 12: Profil chromatographique d'un mélange comportant les 4 composés organiques dans de l'eau de sol. Phase mobile : acétonitrile-tampon phosphate ($50 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, pH 7,0) (35:65, v/v) ; débit = $0,8 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$; Volume injecté = $20 \mu\text{L}$, Température = 20°C ; $\lambda = 220 \text{ nm}$, 1: Terbuméton; 2: Déséthyl-terbuméton; 3: 2-hydroxy-terbuméton; 4: Désispropyl-terbuméton.

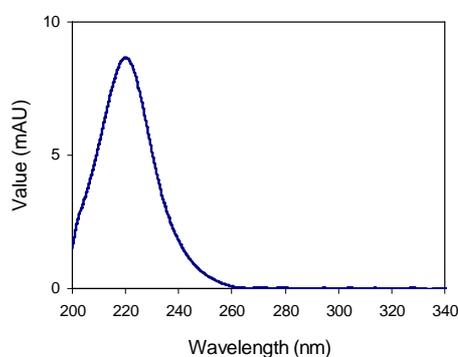
La HPLC en phase inverse est considérée comme une méthode de choix pour déterminer en routine les triazines dans les échantillons d'eau (Hernandez *et al.*, 1998; Pinto *et al.*, 2000) du fait de leur importante polarité. Dans le cadre de l'analyse simultanée et rapide du terbuméton et de ses métabolites, leur élution selon le mode isocratique reste le plus approprié car ce mode d'élution ne nécessite pas de ré-équilibre du système de HPLC entre chacune des injections. Afin de déterminer les conditions optimales d'élution des quatre composés organiques, différentes conditions d'élution

sont testées et nous ont permis de choisir, en comparaison avec la littérature, la phase mobile, le pourcentage d'acétonitrile et le débit (résultats non présentés). Ainsi, l'utilisation de la phase mobile acétonitrile:tampon phosphate (50 mmol.L⁻¹) à une valeur de pH de 7,0 améliore la résolution des pics comme cela a déjà été observée par Pinto *et al.* (2000). Les conditions d'élution retenues permettent de séparer complètement les différents composés organiques dans les échantillons d'eaux de sol : mode d'élution isocratique, phase mobile acétonitrile : 50 mmol.L⁻¹ tampon phosphate (35:65, v/v) à 0,8 mL.min⁻¹ (Figure 12).

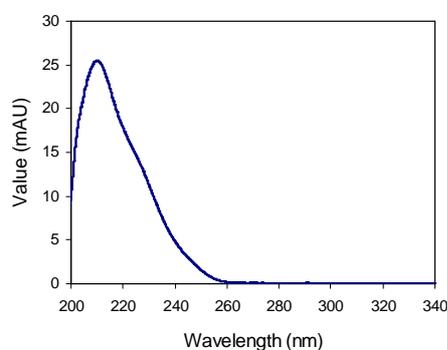
L'ordre dans lequel les composés sont élués est typique d'un système en phase inverse pour lequel les composés les plus polaires sont élués en premier. Ainsi, les métabolites potentiels du terbuméton (DET, OHT et DIT) sont élués plus rapidement de la colonne que le terbuméton. Par conséquent, les métabolites ont des temps de rétention et un facteur de capacité (k') plus petit (k' = 0,1; 0,6 et 1,5 respectivement pour le DIT; OHT et le DET) que le terbuméton (k' = 7,5). Ces données sont en accord avec les valeurs de log K_{ow} déterminés par Kaune *et al.* (1998) (log K_{ow} = 0,89; 1,50; 1,93 et 2,71 pour le déisopropyl-terbuméton, la 2-hydroxy-terbuméton, le déséthyl-terbuméton et le terbuméton).

L'utilisation d'un détecteur à barrette de diode permet une identification précise des 4 composés organiques de l'ensemble des composés présents dans les matrices environnementales tel que le sol. A titre indicatif, les spectres d'absorption caractéristiques des 4 composés organiques sont présents dans la Figure 13.

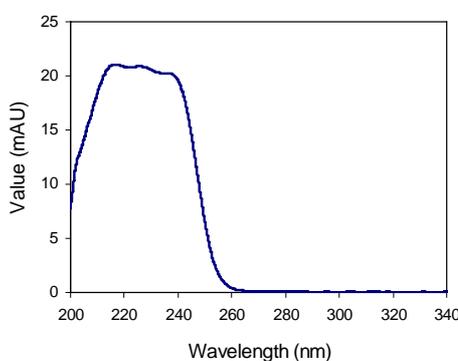
De plus, la répétabilité de l'injecteur est estimée en injectant la même solution de composés organiques à différentes concentrations dans la phase mobile trois fois de suite. Ainsi, les coefficients de variations moyens sont inférieurs à 1,5 %. Ce dispositif analytique possède une très bonne linéarité (coefficient de corrélation supérieur à 0,9996). Néanmoins, l'utilisation de ce dispositif d'analyse est limité par sa limite de quantification (LOQ) supérieure aux quantités de terbuméton généralement mesurées dans l'environnement. La LOQ correspond à une valeur signal-sur-bruit de fond supérieure ou égale à 10 fois soit une LOQ comprise entre 2,0 et 5,0 µg.L⁻¹.



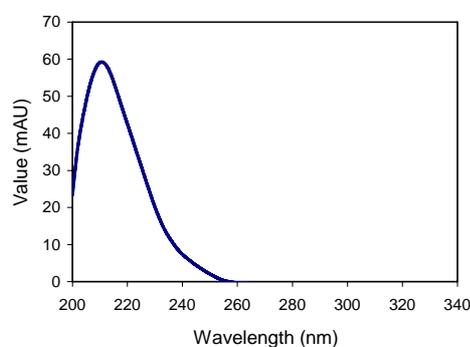
Terbuméton (TER)



Déséthyl-Terbuméton (DET)



2-hydroxy-terbyuméton (OHT)



Déisopropyl-terbuméton (DIT)

Figure 13: Spectre d'absorption des composés organiques dilués à 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ dans de l'eau osmosée. Acetonitrile-tampon phosphate (50 mmol.L^{-1} , pH 7,0) (35:65, v/v) ; débit = 0,8 mL.min^{-1} ; volume d'injection = 20 μL , Température = 22 °C.

Extraction/concentration des composés organiques à partir d'échantillon d'eau.

Généralement, la quantification des triazines implique une étape d'extraction/concentration dans le but d'analyser les faibles concentrations trouvées dans les échantillons d'eau. La préparation de l'échantillon passe souvent par une étape d'extraction liquide/solide réalisée avec des adsorbants non polaires (Beltran *et al.*, 1997; Pinto *et al.*, 2000; Sampedro *et al.*, 2000) dans le but de piéger une grande variété de composés présents simultanément dans les matrices environnementales. Afin d'améliorer l'affinité de composés organiques pour l'adsorbant non polaire, il est souvent nécessaire d'ajuster le pH de l'échantillon et d'augmenter la force ionique de l'échantillon par addition de sel. Ainsi, des échantillons d'eau pollués avec le terbuméton et ses métabolites sont ajustés à différentes valeurs de pH (2,0 et 8,0) et soumis à la procédure d'extraction/concentration en phase solide avant leur injection dans le système de CLHP. Les taux de recouvrement du terbuméton et du déséthyl-terbuméton sont sensiblement améliorés à des valeurs de pH basiques (Tableau 5), en accord avec les valeurs de pKa trouvées dans la littérature ($\text{pKa} < 4,7$) (Coquart *et al.*, 1993 ; rapport de suivi AQUAL, 2004). De même, l'ajout de NaCl à l'échantillon augmente la rétention des composés polaires et de fait améliore le taux de recouvrement des composés organiques.

Le débit de l'extraction liquide/solide est contrôlé au moment de la charge et de l'élution de l'échantillon. En effet, ce facteur joue sur les cinétiques d'adsorption des composés organiques par les adsorbants. Si le débit est trop élevé, l'échantillon traverse la cartouche et le temps de contact est trop court pour permettre une adsorption efficace. Par ailleurs, un débit trop lent au cours de l'élution n'est pas forcément approprié car l'échantillon peut encore être retenu sur la cartouche ce qui conduit à une perte d'échantillon. Après de nombreux essais, le débit est fixé 7 mL.min^{-1} dans le cas de la charge et de l'élution.

Tableau 5: Taux de recouvrement des 4 composés organiques ajoutés à des échantillons d'eau de sol selon différents paramètres.

Composés	pH		Nacl (g)		Volume (mL)	$\mu\text{g.L}^{-1}$	Facteur concentration	Taux de recouvrement (%)
	2,0	8,0	10	20				
Terbuméton		x	x		100	1,0	250	96,6 ± 0,25 (n = 3)
Terbuméton	x				40	1,0	80	49,7 ± 15,6 (n = 3)
Déséthyl-terbuméton		x	x		100	1,0	250	96,1 ± 3,9 (n = 8)
Déséthyl-terbuméton		x	x		100	0,1	250	88,6 ± 1,2 (n = 3)
Déséthyl-terbuméton	x		x		40	1,0	125	71,5 ± 6,2 (n = 3)
Déséthyl-terbuméton	x		x		40	0,1	125	57,5
Déséthyl-terbuméton	x		x		100	0,99	200	80,8 ± 1,3 (n = 3)
2-OH-terbuméton		x		x	100	1,0	250	80,4 ± 9,3 (n = 4)
2-OH-terbuméton	x		x		40	1,0	125	-
Déisopropyl- Terbuméton		x	x		100	5,0	125	52,0
Déisopropyl- Terbuméton	x		x		40	1,0	125	- (n = 3)

-: taux de recouvrement inférieur à 1 %.

Jusqu'à présent, toutes les cartouches (C_{18}) qui ont été testées (Agilent Zorbax SPE EC, Supelco LC-Si SPE, Varian Absolut Nexus, Varian Bond Elut PPL, Varian Mega bond Elut, JT Baker Bakerbond Polar Plus, JT Baker Octadecyl SPE et Bios Isolute triazine) n'ont pas permis d'extraire simultanément les métabolites polaires avec un taux de recouvrement acceptable à la limite de quantification de 0,1 $\mu\text{g.L}^{-1}$ à partir d'un faible volume d'échantillon d'eau (Tableau 5). Aussi, la

méthode analytique présentée est encore en cours de développement. D'autres types de cartouches, en particulier des cartouches de styrène-divinylbenzène seront testées afin d'améliorer la limite de quantification et d'augmenter le taux de recouvrement du désisopropyl-terbuméton et du 2-hydroxy-terbuméton.

4. Conclusion générale et perspectives

Bien que nos résultats montrent que le type de sol joue un rôle important dans le comportement des pesticides, quelques conclusions peuvent être tirées sur le comportement des 2 molécules qui posent problème dans les eaux des captages de la région. En effet, il apparaît que la capacité d'adsorption du terbuméton est dans tous les cas supérieure à celle du déséthyl-terbuméton et sa capacité à se désorber est soit égale soit inférieure à celle de son métabolite.

Les études en batch montrent que la désorption des pesticides est un phénomène lent, ce qui pourrait être une des explication à la contamination des nappes phréatiques de notre région longtemps après la fin de l'utilisation du terbuméton.

Les études en batch que nous avons présentées (cf. points 3.1, 3.2, 3.3, 3.4) décrivent les phénomènes de sorption des pesticides sur le sol. Le transfert des pesticides jusqu'aux nappes, au moins à travers le sol, est une succession d'adsorption et de désorption. Il a donc été décidé de comparer les résultats présentés dans ce rapport à des résultats d'expériences de transfert dans des colonnes de sol dont on connaît les caractéristiques de rétention du terbuméton et de ses métabolites.

Des études préliminaires ont débuté pour étudier le transfert dynamique du terbuméton et du déséthyl-terbuméton dans une colonne de sol reconstituée en laboratoire. Cette approche devra permettre d'évaluer et de comprendre les mécanismes de transfert de ces composés organiques dans les sols champenois. Le schéma et le dispositif expérimental sont présentés dans la Figure 14.

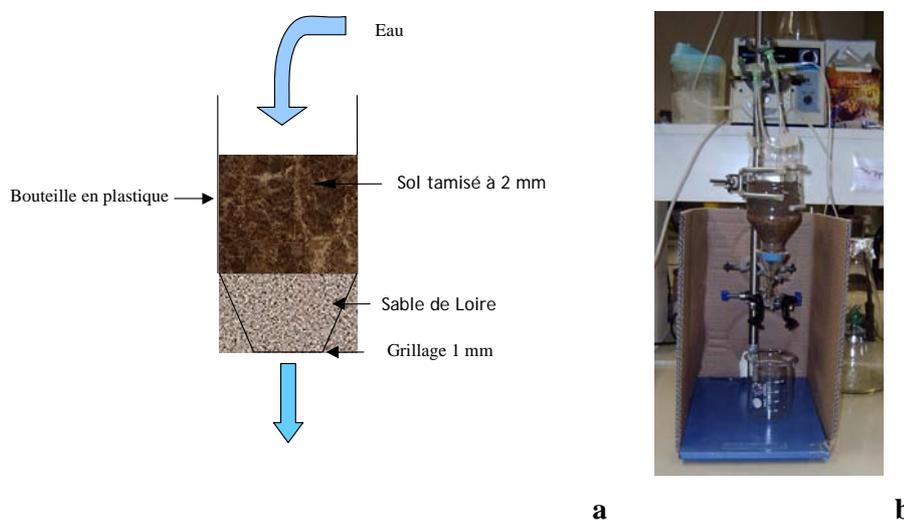


Figure 14 : (a) Schéma et (b) dispositif expérimental utilisés pour étudier le transfert dynamique du terbuméton et du déséthyl-terbuméton dans une colonne de sol reconstituée en laboratoire.

A titre d'exemple, la Figure 15 présente le lessivage du terbuméton dans une colonne de sol (Cernay-les-Reims, haut de parcelle). Comme attendu, le tassement du sol influence le lessivage du terbuméton. A l'opposé, aucun effet important des caractéristiques physico-chimiques de l'eau de lessivage est mis en évidence (Eau osmosée *versus* solution de CaCl_2 (0,01 M, pH 7,0).

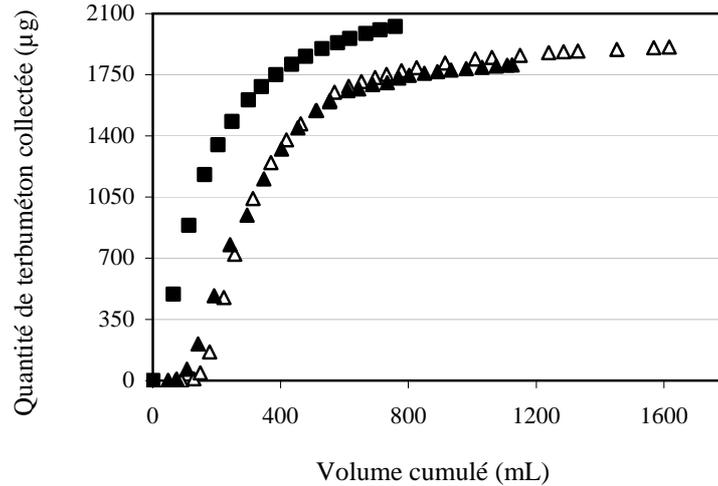


Figure 15: Quantité cumulée de terbuméton collectée à la sortie de la colonne de sol (Cernay-les Reims haut de parcelle).

σΔ : sol tassé – élution eau osmosée; Δ : sol tassé – élution solution CaCl₂ (0.01 M; pH 7.0);
 ν : Sol non tassé – élution eau osmosée; Quantité de sol = 252,8 ± 0,0 g ; quantité déposée de terbuméton = 2056,7 ± 142,9 µg (n = 3 essais).

En perspectives, l'étude du transfert de ces deux composés organiques dans des colonnes de sol sera poursuivie avec des sols de caractéristiques physico-chimiques différentes (Bouy, Cernay-les-Reims et Nogent l'Abbesse) afin de comparer les données obtenues en condition dynamique avec celles déjà obtenues en condition à l'équilibre (isothermes d'adsorption/désorption en flacon de type batch) (Rapport de suivi AQUAL, 2004). Afin de déterminer des bilans de masse complets (solide et phase aqueuse), une méthode d'extraction de ces composés à partir de sols pollués doit être mise en place.

L'étude de l'influence de la variabilité des sols ainsi que de leur couverture sera poursuivie. Les données obtenues grâce aux isothermes de sorption seront utilisées dans des modèles géochimiques pour essayer d'établir des systèmes prédictifs.

Pour ce qui est de la (bio)dégradation, le terbuméton n'est pas dégradé après 15 jours : soit ce processus est très lent, soit le terbuméton est difficilement ou non accessible à la (bio)-dégradation.

En ce qui concerne les activités enzymatiques étudiées, elles sont sensibles à des concentrations élevées en terbuméton, selon le couvert végétal étudié : certaines sont stimulées (arylsulfatase, uréase), d'autres inhibées (Fluorescéine DiAcétate). Seule la β-glucosidase n'est pas affectée par l'ajout de terbuméton.

La (bio)dégradation ainsi que les effets du terbuméton sur les activités enzymatiques seront vérifiés après 6 mois d'incubation.

5. Bibliographie

- Beltran J., López F.J., Forcada M. et Hernández F., Microextraction procedures combined with large volume injection in capillary gas chromatography for the determination of pesticide residues in environmental aqueous samples, *Analytical chimica acta*, 1997, **356**, 125-133.
- Cheng H. H., (ed), Pesticides in the soil environment : processes, impacts, and modeling, *Soil Science Society of America*, Madison, Wisconsin, 1990.
- Coquart V., Garcia Camacho P. et Hennion, M.-C, *International journal of environmental analytical chemistry*, 1993, **52**(99).

- Dick R. P., Soil enzyme activities as integrative indicators of soil health, *CAB International Biological Indicators of Soil Health*, eds C. E. Pankhurst, B. M. Doube and V. V. S. R. Gupta, 1997, pp121-156.
- Donati L., Keizer J., Bottoni P., Scenati R. Funari E. Koc Estimation of deethylatrazine, déisopropylatrazine, hexazinone and terbutylazine by reversed phase chromatography and sorption isotherms, *Toxicological and environmental chemistry*, 1994, **44**, 1-10.
- Flogeac K., Guillon E., Aplincourt M., Co-adsorption of Copper(II) and 3-Amino-1,2,4-triazole at the Water-Natural Macromolecular Compound Interface : Molecular Structure from Adsorption Isotherms combined with X-ray Absorption Measurements, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2005, sous presse.
- Hernández F., Hidalgo C., Sancho J.V. et López F.J., Coupled-column liquid chromatography applied to the trace-level determination of triazine herbicides and some of their metabolites in water samples, *Analytical chemistry*, 1998, **700**, 3322-3328.
- Kaune A., Brüggemann R. et Kettrup A., High-performance liquid chromatographic measurement of the 1-octanol-water partition of s-triazine herbicides and some of their degradation products, *Journal of chromatography A*, 1998, **805**, 119-126.
- Moreau C., Mouvet C. Sorption and desorption of atrazine, deethylatrazine and hydroxyatrazine by soil and aquifer solids, *Journal of environmental quality*, 1997, **26**, 416-423.
- Pinto G.M.F. et Jardim I.C.S.F., Use of solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography for the determination of triazine residues in water: validation of the method, *Journal of chromatography A*, 2000, **869**, 463-469.
- Sampedro M., Martín O., López de Armentia C., Goicolea M.A., Rodríguez E., Gómez de Balugera Z., Costa-Moreira J. et Barrio R.J., Solid-phase microextraction for the determination of systemic and non-volatile pesticides in river water using gas chromatography with nitrogen-phosphorous and electron-capture detection, *Journal of chromatography A*, 2000, **893**, 347-358.
- Sanino F. and Gianfreda L., Pesticide influence on soil enzymatic activities, *Chemosphere*, 2001, **45**, 417-425.
- Sheng G., Johnston C., Teppen B. J., Boyd S. A., Potential contributions of smectite clays and organic matter to pesticide retention in soils, *J. Agr. Food Chem.*, 2001, **49**, 2899-2907.
- Thurman E.M., Meyer M., Pomes M., A reconnaissance study of herbicides and their metabolites in surface water of the midwestern United States, *Anal. Chem.*, 1992, **26**, 2440-2447.
- Tomlin C.D.S. *The pesticide Manual*, Twelfth edition. British Crop Protection Council, 2000.
- Xing B., Pignatello J. J., Gigliotti B., Competitive sorption between atrazine and other organic compounds in soils and model sorbents, *Environ. Sci. Technol.*, 1996, **30**, 2432-2440.