

Institut National Polytechnique
de Lorraine.

Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie
et des Industries Alimentaires
2, Avenue de la Forêt de Haye
54505 Vandoeuvre-lès-Nancy

Agence de l'eau
Rhin-Meuse

Centre National
de la Recherche Scientifique

Centre de Pédologie Biologique
17, rue Notre Dame des Pauvres

54501 Vandoeuvre-lès-Nancy



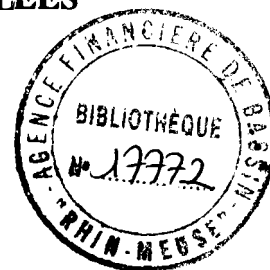
ÉTUDE DU DEVENIR DE L'ISOPROTURON EN CONDITIONS NATURELLES OU CONTRÔLÉES

M. SCHIAVON, C. PERRIN-GANIER, J-M. PORTAL

Août 1993

Etude financée par
l'Agence de l'eau Rhin-Meuse

ETUDE DU DEVENIR DE L'ISOPROTURON EN CONDITIONS NATURELLES OU CONTROLÉES



1 - INTRODUCTION

II - MATÉRIEL ET METHODES

- a - L'isoproturon
- b - Le sol
- c - Les analyses
 - α - Extraction des résidus **présents** dans le sol
 - β - Extraction des résidus présents dans l'eau
 - γ - Mesure de radioactivité en **milieu** aqueux
 - δ - Mesure de radioactivité dans le sol
 - ϵ - Dosage des résidus par HPLC

III - MOUVEMENT DE L'ISOPROTURON DANS LE SOL

A- VALIDITÉ DES BOUGIES POREUSES COMME SYSTÈME DE PRÉLÈVEMENT

a - Matériel et méthodes

- α - Les bougies poreuses
- β - Les pesticides
- γ - Le dispositif expérimental pour les solutions aqueuses
- δ - Le dispositif expérimental concernant le sol
- ϵ - Les facteurs étudiés

b - Résultats et discussion

1 - Travaux réalisés à l'aide de solutions aqueuses de pesticides

- α - Les pesticides **chargés** négativement
- β - Le pH
- γ - Les pesticides neutres
- δ - Les pesticides **chargés** positivement
- ϵ - Les effets dus à la présence d'une matrice organique hydrosoluble
- ζ - Le rinçage

2 - Travaux réalisés à 'aide d'un sol reconstitué et traité par un pesticide

d - Conclusion

B - ETUDE COMPARATIVE D'UN SUIVI DES RÉSIDUS D'ISOPROTURON DANS L'EAU LIBRE DU SOL : DRAINAGE ET BOUGIE POREUSES

C - MOUVEMENT DE L'ISOPROTURON ET DE SES DÉRIVÉS DANS LES PREMIERS CENTIMÈTRES DU SOL

IV - PERSISTANCE ET DÉGRADATION DE L'ISOPROTURON EN MILIEU CONTROLÉ

a - Mise en place de l'expérimentation

b - Analyses

a - Dosage des **résidus** facilement disponibles

β - Dosage des résidus peu disponibles

y - Identification et dosage des **résidus** présents dans les **extraits**

δ - Dosage du $^{14}\text{CO}_2$

c - Résultats et discussion

a - Extraction à l'eau : disponibilité de l'isoproturon

β - Extraction au méthanol : persistance

y - Cinétique de minéralisation

δ - Cinétique de formation des résidus liés

ε - Evolution de l'état de dégradation de l'isoproturon au cours du temps

c - Conclusion

ÉTUDE DU DEVENIR DE L'ISOPROTURON EN CONDITIONS NATURELLES OU CONTRÔLÉES

1 - INTRODUCTION

L'isoproturon est un herbicide très largement employé. Il peut être utilisé seul, mais il entre aussi dans la composition de nombreuses spécialités commerciales (**Prodix, Fagal, Foxtar...**) où son association à un autre herbicide élargit son spectre d'action vis à vis des mauvaises herbes. Il est particulièrement efficace contre le vulpin, adventice abondante en milieux humides. Cette particularité explique son emploi important en Lorraine (THEVENOT, 1990). Il est généralement appliqué en traitement d'automne ou de printemps dans les céréales d'hiver à des doses comprises entre 1,2 et 2 **kg.ha⁻¹** de matière active.

Son emploi massif a conduit à rechercher sa présence éventuelle dans les eaux de drainage des sols portant une culture récemment traitée (SCHIAVON et *al.*, 1992) et dans les eaux de captages (PORTAL et *al.*, 1992 ; BABUT et *al.*, 1991). Les résultats obtenus ont montré une contamination élevée des eaux de drainage (2 à 3,5 **µg.l⁻¹**), mais de courte durée. Pour les eaux souterraines, sa présence est **très aléatoire**. Toutefois, dans un suivi hebdomadaire d'un captage sur une durée d'un an, PORTAL et *al.* (1992) ont enregistré sa présence dans l'eau au cours de 2 courtes périodes dans l'année, ceci étant vraisemblablement en relation avec son emploi en automne et au printemps.

Malgré sa forte utilisation, très peu d'études lui ont été consacrées et son comportement est mal connu. Pour mieux cerner ses possibilités de transfert et de contamination du sol et des eaux, un programme de recherche sur 3 ans a été mis en place, avec pour objectif l'acquisition de données dans les domaines suivant :

- estimation du transfert par l'eau libre du sol : validité des bougies poreuses comme **système de prélèvement**,
- étude du mouvement affectant l'herbicide **présent** dans la couche superficielle du sol,
- évaluation de la persistance et de la **cinétique** de dégradation ,
- identification et quantification des **métabolites** majeurs **présents** dans le sol et l'eau,
- détermination de la cinétique de formation des résidus liés.

Ces différents thèmes sont abordés à la fois sous conditions naturelles et contrôlées.

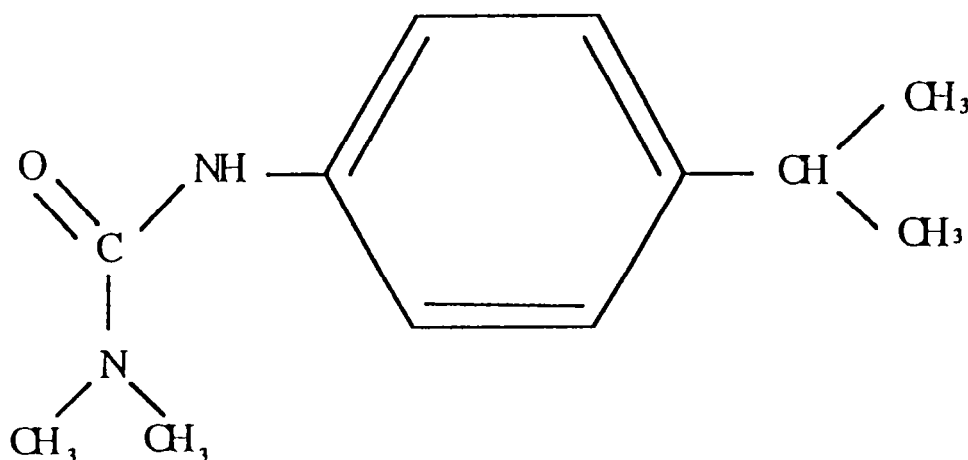
Dans ce rapport sont présentés les premiers résultats obtenus au cours de l'année 1992.

II - MATÉRIEL ET MÉTHODES

Nous ne présenterons dans ce paragraphe que les points communs à tous les aspects expérimentaux abordés.

a - L'isoproturon

L'ensemble des expérimentation est effectué à l'aide d'isoproturon uniformément marqué sur le cycle benzénique. Les principale caractéristiques de cet herbicide sont données par la figure 1.



Isoproturon: herbicide de la famille des phénylurées substituées

Nom chimique	: N-(isopropyl-4-phényl-N')N'diméthylurée (nomenclature IUPA)
Formule moléculaire	: C ₁₂ H ₁₈ N ₂ O
Poids moléculaire	: 206,29
Point d'ébullition	: 156°C
Tension de vapeur	: 0,003 mPa (à 20°C)
Solubilité	: 72 mg/l dans l'eau à 20°C ; 63 g/l dans le dichlorométhane ; 56 g/l dans le méthanol .
Stabilité	: très stable en milieu alcalin et acide
Phytotoxicité	: non phytotoxique pour les céréales
Toxicologie	: DL ₅₀ pour les rats mâles = 1626 mg/kg non toxique pour les abeilles
Compatibilité avec d'autres produits	: compatible avec tous les autres herbicides

Figure 1 : Principales caractéristiques de l'isoproturon

b - Le sol

Il a été utilisé pour ces expérimentations un sol limoneux, prélevé sur le site expérimental du SAD-INRA de Mirecourt (88). Ses caractéristiques **physico-chimiques** sont données dans le tableau 1. Ce sol a été retenu car il constitue une parcelle équipée à la fois d'un réseau de drainage et d'un ensemble de bougies poreuses. Ce dispositif sera ultérieurement utilisé pour comparer les informations obtenues à partir de chacun des 2 systèmes.

Tableau 1: Caractéristiques physico-chimiques du sol limoneux de Mirecourt (88)

Niveau cm	Argiles	Granulométrie(%)				pH	% C
		Limons fins	Limons grossiers	Sables fins	Sables grossiers		
0-30	21,2	36,3	19,5	12,6	12,5	6,5	1,39

c - Les analyses

a - Extraction des résidus présents dans le sol

Les échantillons de sol sont extraits par agitation, à froid. Le sol est agité en **présence** de 100 ml de solvant (eau ou **méthanol**) pendant 15 heures puis centrifugé à **5000 g** pendant 20 mn et le surnageant est récupéré.

β - Extraction des résidus présents dans l'eau

L'eau est extraite par du dichlorométhane à l'ampoule à décanter. Chaque échantillon subit 2 extractions successives d'une **durée** de 5 mn, dans un rapport **eau/solvant** de **2v/1v**.

γ - Mesure de la radioactivité dans des milieux aqueux

Elle est réalisée par scintillation liquide à l'aide d'un scintillateur Packard 460 CD. Un millilitre d'échantillon est mélangé à 10 ml d'**Ultima** Gold puis compte pendant 10 mn. Chaque mesure est répétée 2 fois.

δ - Mesure de la radioactivité dans le sol

Le sol est préalablement broyé pendant 1 minute au broyeur à bille puis il est réalisé une combustion à 950 °C sous courant d'oxygène, sur une aliquote de 1 g. Le $^{14}\text{CO}_2$ dégagé est piégé dans 15 ml d'un mélange cellosolve-éthanolamine. Le comptage de la radioactivité est réalisé sur une aliquote de 10 ml en **présence** de 10 ml de Scintillator 299.

ε - Dosage des résidus par HPLC

Les extraits sont évaporés à sec sous vide, puis repris dans un volume précis de méthanol. Le dosage est effectué à l'aide d'un HPLC Beckman équipé d'un détecteur à barrette de diodes. Les conditions de travail sont les suivantes :

Colonne : Kromasil C18
Eluant : acétonitrile-eau 60-40
Débit : 0,8 ml.mn⁻¹
 λ : 240 nm

Dans ces conditions, les **temps de rétention** obtenus sont de 7 mn pour l'isoproturon et **5,93** pour l'isoproturon-monométhyl.

III-MOUVEMENT DE L'ISOPROTURON DANS LE SOL

L'approche de ce thème comporte deux types de suivi. D'une part il s'agit de mesurer la teneur en résidus des eaux de drainage et d'autre part, de suivre la concentration en isoproturon de la lame d'eau qui l'alimente. L'objectif de l'étude étant d'apprécier la possibilité de remplacer un système lourd comme le drainage par des capteurs du type bougie poreuse en céramique, largement répandus. La mise en place de cette expérimentation nécessitait au préalable une étude visant à préciser la validité de ces capteurs. La comparaison entre les deux systèmes, sous conditions naturelles, ne débutera qu'en **février** 1994

A - VALIDITÉ DES BOUGIES POREUSES COMME SYSTÈME DE PRÉLÈVEMENT

L'analyse de l'eau du sol tout au long de son profil représente l'un des moyens d'estimer les processus impliqués dans le transfert d'un pesticide vers la nappe. C'est pourquoi la qualité essentielle d'un système de collecte de données de cette nature est de permettre le prélèvement direct de l'eau du sol, à diverses profondeurs (Barriuso et *al.*, 1991).

Ce type d'**échantillonneur** est déjà bien connu quant à son comportement vis à vis des ions minéraux de la solution du sol et des nitrates plus **particulièrement**. Au contraire, l'utilisation de la bougie poreuse dans le but d'évaluer la contamination de l'eau du sol par les pesticides est une idée récente. Avant son application au champ, une étape préalable de tests des bougies doit être menée en laboratoire. C'est la raison pour laquelle notre travail avait pour but d'étudier les réactions qui peuvent se produire entre une bougie en céramique et un pesticide dissout lors d'un prélèvement.

Notre préoccupation était aussi de tester des bougies en céramique de grande taille qui permettent de recueillir rapidement des volumes importants. En effet, la concentration en pesticide dans l'eau libre du sol est généralement très basse et plusieurs centaines de millilitres sont alors nécessaires pour mener l'analyse.

Dans ces tests **préliminaires** en laboratoire, nous avons suivi le prélèvement de quatre **molécules** qui, outre leur appartenance à diverses familles de pesticides, **diffèrent** par leur caractère ionique et sont ainsi susceptibles de **présenter** des variations d'interaction avec la céramique.

a - Matériel et méthodes

a - Les bougies poreuses

Les bougies poreuses, fabriquées par la société Nardeux (B.P. 212 - 37 552 St Avertin Cedex - France), sont constituées d'une partie terminale en céramique poreuse (63 mm de diamètre, 6 mm d'épaisseur et 90 mm de longueur) prolongée par un tube en PVC de même diamètre. La **microporosité** de la **céramique** est comprise entre 1 et 10 microns. Le débit de prise d'eau, mesuré avec des bougies placées directement dans l'eau sous une dépression de **0,7 bar**, est voisin de 2 l.h^{-1} et résulte de la taille et de la conductivité hydraulique de ce type de bougies. Les tests ont été réalisés successivement sur 3 bougies différentes.

β - Les pesticides

Les pesticides marqués au ^{14}C qui ont été testés comprennent 3 herbicides (atrazine, isoproturon, 2,4-D) et un insecticide (carbofuran). Des solutions aqueuses de concentrations variant entre **0,01** et 10 mg l^{-1} (représentatives du niveau des concentrations trouvées dans l'eau du sol) et de radioactivité voisine de 83 Bq ml^{-1} ont été **réalisées** pour chaque matière active.

γ - Le dispositif expérimental pour les solutions

La bougie est placée dans un **bécher** contenant la solution à prélever et reliée à un réservoir de stockage (Figure 2). Le prélèvement est effectué grâce à une dépression de **0,7 bar**. La solution qui pénètre à l'**intérieur** de la bougie est **transférée** au fur et à mesure dans le **réservoir** gradué.

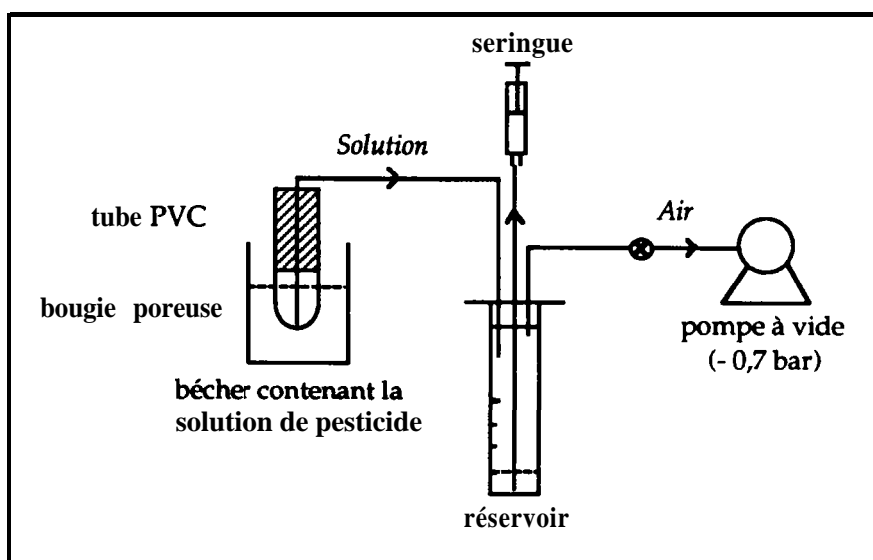


Figure 2 : Dispositif permettant de tester l'évolution de la composition du prélèvement d'une bougie poreuse en milieu liquide.

Lorsque la solution atteint un volume déterminé (10, 20 ou 50 ml), la dépression est supprimée et le réservoir est vidé à l'aide d'une seringue avant de poursuivre le prélèvement. Chaque sous-échantillon de 10, 20 ou 50 ml est analysé individuellement. Un total de 500 ml de solution est ainsi prélevé.

y - Le dispositif expérimental pour les sols

La bougie poreuse est placée au centre d'un récipient cylindrique contenant 4 kg de sol sec tamisé à 5 mm (figure 3). Douze heures avant le traitement, le sol est humecté à la capacité au champ (34 %). On applique alors un volume de solution de pesticide tel que le sol se trouve à 50 % d'humidité (640 ml de solution d'atrazine à 0,4 mg.l⁻¹ ou d'isoproturon à 0,3 mg.l⁻¹). La solution qui **percole** par l'orifice situé à la base de la cuve est réappliquée sur le sol jusqu'à ce que sa concentration en pesticide soit stable (environ 96 h). Le système proposé dans la figure 3 permet d'obtenir, à l'équilibre, une solution du sol homogène dans le volume considéré et de concentration connue.

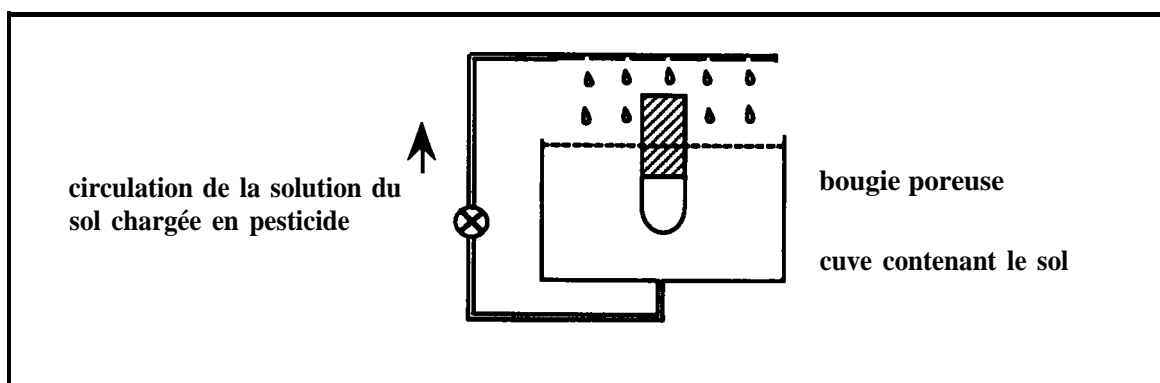


Figure. 3 : Dispositif de mise à l'équilibre de la solution de pesticide avec le sol avant prélèvement par une bougie poreuse.

Après la mise à l'équilibre, le circuit de recyclage de solution est fermé et le prélèvement s'effectue à l'aide du même dispositif qu'en solution aqueuse.

δ - Facteurs étudiés

Pesticides chargés négativement : Trois concentrations en 2,4-D à pH 6,5 ont été étudiées : 0,012; 0,11 et 1 mg l⁻¹.

pH acide : L'effet du pH sur le comportement des pesticides anioniques a été envisagé à partir du cas du 2,4-D à 0,012; 0,11 et 1 mg l⁻¹ après addition d'HCl 2N.

Pesticides neutres : Le comportement des **molécules** neutres a été examiné en solution aqueuse avec l'atrazine (**0,0285; 0,13; 1; 2; 5; 10 mg l⁻¹**) , l'isoproturon (**0,06; 0,16; 1; 2 mg l⁻¹**) et le carbofuran (**1; 2; 5; 10 mg l⁻¹**).

Pesticides chargés positivement : Ne disposant pas de pesticide marqué au ¹⁴C et chargé positivement au laboratoire, nous avons utilisé l'atrazine à pH **1,68 = pKa** (50% de **cations**) à deux concentrations, **0,0285** et **0,13 mg.l⁻¹**. L'abaissement de pH a été obtenu par addition d'HCl 2N.

Charge en carbone hydrosoluble de la solution : Une matrice organique complexe a été reconstituée à partir d'un extrait sec de lessivat de podzol. Deux concentrations en carbone organique ont été testées : **2,5** et **5 mg.l⁻¹**, chacune en **présence** d'atrazine ou d'isoproturon marqués au ¹⁴C et à la concentration de **0,1 mg.l⁻¹**.

Prélèvement à partir de la solution du sol : L'utilisation de la bougie poreuse dans un échantillon de sol a été entreprise pour 2 herbicides, l'atrazine à **0,4 mg.l⁻¹** et l'isoproturon à **0,3 mg.l⁻¹** pour une radioactivité d'environ 300 Bq. Ces valeurs ont été déterminées de manière à obtenir une solution du sol de concentration en pesticide proche de **0,02 mg.l⁻¹**.

Rinçage : La performance d'un rinçage de la bougie à l'eau distillée après chaque prélèvement a été étudiée en collectant successivement 5 volumes de 140 ml. Chaque échantillon de 140 ml s'accumulait dans la bougie avant que sa radioactivité ne soit testée puis était évacué.

b - Résultats et discussion

Tous les résultats fournis représentent la moyenne des valeurs obtenues pour trois bougies.

Chaque point des courbes des Figures 4 et 5 donne l'écart entre la concentration du **sous-échantillon** et celle de la solution de départ, en fonction du volume total collecté jusque là. On obtient ainsi l'évolution instantanée de la concentration au cours du **prélèvement**.

1 - Travaux réalisés à l'aide de solutions aqueuses de pesticides

cc - Pesticides chargés négativement

Un exemple du type de courbes obtenues est fourni par le 2,4-D à **0,11 mg l⁻¹** (Figure 4). Il apparaît que la concentration du premier **sous-échantillon** prélevé (10 ml) est inférieure de 26% à la concentration de départ. Dans cette première étape du prélèvement (de 10 à 50 ml), la concentration se rapproche très rapidement du niveau de départ. Dans une seconde étape, le prélèvement se stabilise environ à 3 - 4% en dessous de la concentration initiale. Nous nous sommes également intéressés au 2,4-D à **0,012 mg l⁻¹**. Nous avons obtenu le même type de courbe qu'à **0,11 mg l⁻¹** mais avec moins de pesticide retenu au début du prélèvement (**5,5%** retenu contre 26% à **0,11 mg l⁻¹**) (Figure 4).

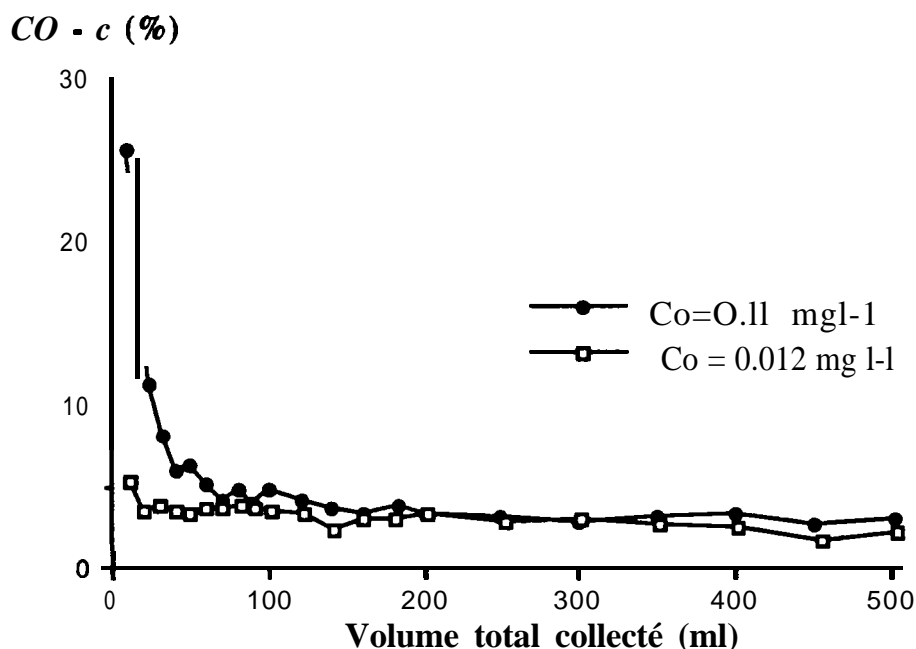


Figure 4 : Différence de teneur en 24-D entre la solution initiale (Co) et les échantillons (C) lors d'un prélèvement de volume final 500 ml par une bougie poreuse en céramique

Dans les deux cas testés, la faible concentration initiale de l'échantillon peut être **interprétée** comme le résultat de phénomènes de sorption et de tamisage des molécules qui traversent la paroi. La **sorption** correspond à une rétention de pesticides dans ou sur la céramique alors qu'en se référant à la définition de **Hansen et Harris (1975)**, le **tamisage** représente "the physical separation of ions **from** the solute as the solute enters the ceramic wall, thus resulting in a reduced concentration in the direction of the flux and increased concentration in the residual solution". L'influence propre du tamisage se traduit donc localement par une augmentation de la concentration de la pellicule de solution à **proximité immédiate** de la surface externe de la bougie. On comprend ainsi que la fraction attribuée au tamisage s'avère **très** difficile à estimer, notre dispositif **n'étant** de surcroît pas destiné à évaluer ce phénomène particulier.

D'ailleurs, **Hansen et Harris (1975)** ont obtenu des résultats similaires aux nôtres à partir du prélèvement d'ions phosphates en solution et **malgré** un dispositif adapté ont conclu qu'il était très difficile d'estimer les parts respectives **1-** du tamisage moléculaire, **2-** de l'adsorption sur la paroi externe de la bougie, **3-** de la sorption à l'intérieur du matériau poreux.

β - pH acide

Quand le pH passe de **6,5 à 2,7** (= **pKa** du 2,4-D) par addition d'acide chlorhydrique, moins de molécules de 2,4-D se trouve sous forme dissociée. Les courbes obtenues à pH **2,7** aux différentes concentrations présentent des rétentions de pesticides plus importantes de **13 à 75%** qu'à pH **6,5** (Tableau 2), les différences les plus importantes étant observées pour les concentrations les plus élevées. Dans l'hypothèse d'interactions de type ionique, il peut paraître

étonnant de constater, qu'en général, moins de pesticides soient retenus lorsque la proportion de molécules dissociées est plus grande. Par exemple, à pH **6,5**, la collecte de la solution ne provoque presque aucune modification de la concentration 1 mg l^{-1} . En réalité, il est possible que les phénomènes de sorption et de tamisage soient partiellement masqués par un effet inverse de répulsion ou "adsorption négative" (Schiavon *et al.*, 1990) des molécules chargées négativement par la céramique qui les chasserait selon le sens du flux, ceci étant d'autant plus marqué que la concentration est plus élevée.

Tableau II : Effet du pH sur la concentration en 2,4-D des échantillons

Quantité initiale	Teneur en 2,4-D (% de la quantité initiale)								
	0.012 mg l ⁻¹			0.11 mg l ⁻¹			1 mg l ⁻¹		
	pH 6.5	pH = pKa	différence	pH 6.5	pH = pKa	différence	pH 6.5	pH = pKa	différence
Volume total de l'échantillon (ml)									
	96								
20	96	87	13	74	18	56	100	25	75
30		89	9	88	53	35	99	71	47
40	%	90		91	75	16	96	83	25
50	97	90	7	94	81	13	96		13
100	96	92		94	89	11	97	91	10
200	97	94	3	95	94	6	97	95	6
300	97	95		97		3			2
			2	97	%	1	97	97	0

y - Pesticides neutres

La courbe obtenue pour l'**atrazine** à **0,13 mg l⁻¹** est donnée dans la figure 5 (pH 7). Au cours du passage des 10 premiers millilitres, environ 38% du pesticide est retenu. L'équilibre entre la céramique et la solution prélevée s'établit **après 30 ml**.

Contrairement au 2,4-D, dans ce cas, la concentration ne se stabilise pas en dessous du niveau initial mais quasiment à **100%**, ce qui permet de penser que la sorption est probablement dominante et ne perturbe plus le prélèvement une fois l'équilibre atteint. Ceci a également été observé pour un concentration moins élevée à **0,0285 mg l⁻¹**.

Nous avons testé deux autres pesticides neutres : l'isoproturon et le carbofuran. Nous n'avons enregistré aucune différence significative entre ces trois molécules, tout au moins pour les deux concentrations communes : 1 et 2 **mg.l⁻¹**.

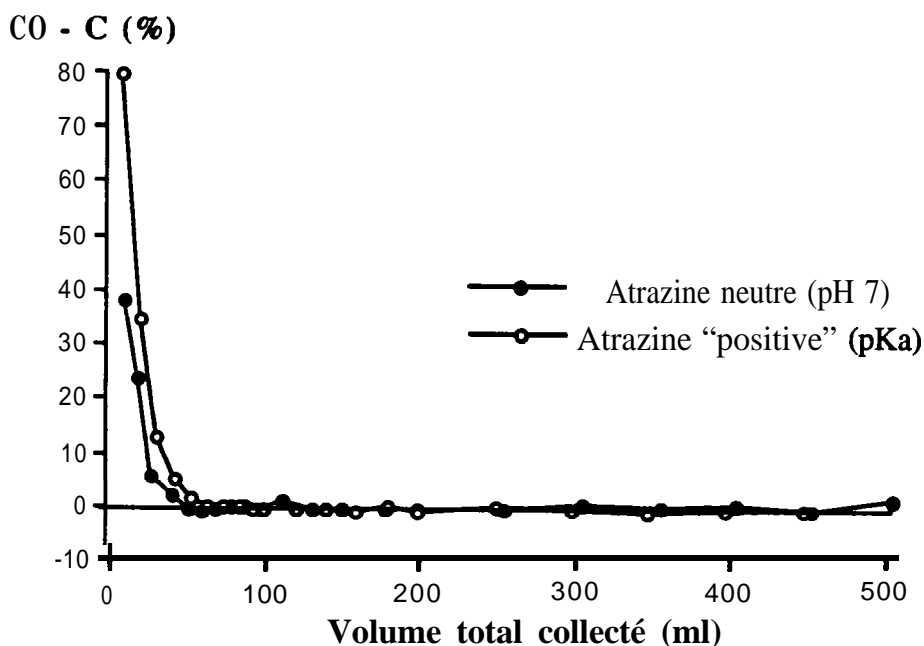


Figure 5 : Différences dans les teneurs en atrazine entre la solution initiale ($C_0 = 0,13 \text{ mg.l}^{-1}$) et les échantillons (C) lorsqu'il en est **prélevé** progressivement un volume de 500 ml à l'aide des bougies poreuses

δ - Pesticides chargés positivement

Avant acidification, le pH de la solution était proche de 7 et la forme principale de l'atrazine était neutre. Dans le cas d'un pH de **1,68** (pKa de l'atrazine), 50% de l'atrazine est présente sous une forme chargée positivement. La comparaison des courbes obtenues à pH 7 et à pKa (Figure 5) semble indiquer qu'un pH plus faible induit une plus grande capacité d'adsorption, tout au moins au début du **prélèvement**. La chute de concentration initiale entre le cas du pH neutre et celui du pH **1,68** atteint 41% pour $0,13 \text{ mg l}^{-1}$ et 16% pour $0,0285 \text{ mg l}^{-1}$. Ceci est probablement dû à une interaction ionique entre les **molécules** de pesticides **chargés** et les charges de surface portées par la **céramique**. Des liaisons ioniques peuvent en effet s'établir et retenir ainsi l'atrazine lors de son passage au travers de la paroi poreuse. Les modifications de pH provoquent également une réorganisation spatiale de la molécule et une modification de son rayon moléculaire. Dans le cas d'une augmentation de taille de la molécule, le tamisage peut alors **être** accentué.

Un contrôle des solutions par HPLC a permis de vérifier l'absence d'hydrolyse au cours de l'expérience. Ainsi la dégradation chimique n'est pas responsable des variations de comportement observées à pH acide.

L'ensemble des tests réalisés en solution aqueuse nous montrent que les 50 premiers ml modifient considérablement la concentration des échantillons suivants. L'évolution de la teneur en atrazine d'un échantillon s'accumulant dans la bougie lors du prélèvement d'un volume de

500 ml est représentée par la figure 6. Si au début du prélèvement 20 ou 50 ml sont écartés, la concentration des sous-échantillons cumulés devient proche de la concentration initiale. C'est cette méthode qui doit être préférée pour l'échantillonnage sur le terrain.

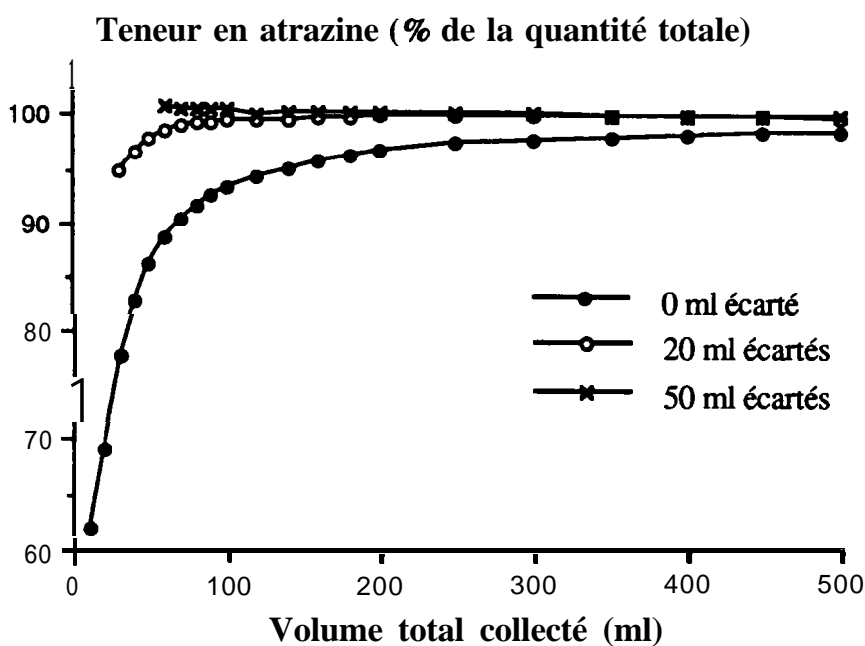


Figure 6 : Changements de la teneur en atrazine de l'échantillon prélevé lorsque les 0, 20 ou 50 premiers ml sont écartés (Concentration initiale $0,13 \text{ mg.l}^{-1}$)

ϵ - Effets dus à la présence d'une matrice organique hydrosoluble

L'eau du sol comporte un certain nombre de molécules en solution, en particulier des macromolécules organiques. Une partie des pesticides se présente alors sous une forme adsorbée à ces composés. Par conséquent, la taille et les propriétés physico-chimiques du pesticide lié sont transformées et il importe de savoir si le rendement du prélèvement par bougie poreuse s'en trouve modifié. Pour ce type de test, il est judicieux d'utiliser un dispositif expérimental similaire à celui du cas **précédent**, ce qui permet d'effectuer des comparaisons avec le modèle de référence que constitue la solution pure.

Divers paramètres sont susceptibles de faire varier l'**adsorption** des pesticides sur les matières organiques hydrosolubles : *le type de matière organique, la taille des macromolécules, la concentration totale en matière organique de la solution, la force ionique de la solution*. Seul l'effet concentration a été ici examiné.

La figure 7 fournit un exemple de résultat obtenu pour l'atrazine en présence d'un extrait de lessivat de podzol.

En présence de matière organique soluble, la teneur en pesticide dans la solution prélevée suit la même évolution qu'en son absence, bien que la quantité d'atrazine retenue au départ s'accroisse avec le taux de carbone hydrosoluble (figure 7). En revanche, ce phénomène n'est pas observé avec l'isoproturon.

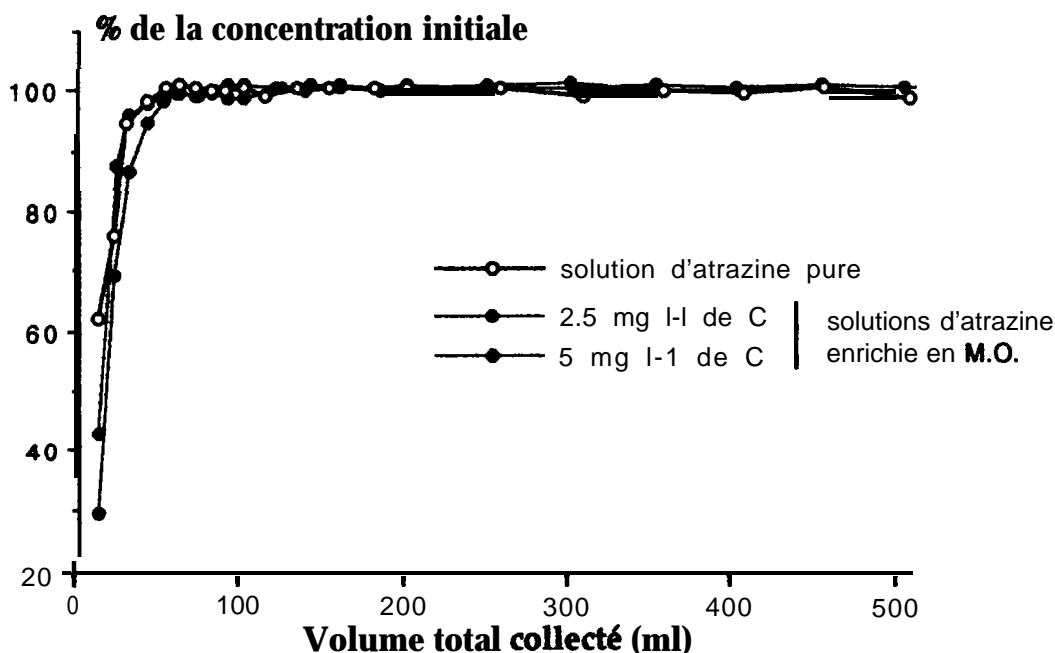


Figure 7 : Évolution de la concentration en atrazine dans les échantillons recueillis par une bougie en céramique poreuse en présence ou non de matière organique (M.O.) lors d'un prélèvement de volume final 500 ml.

Dans tous les cas pourtant, la concentration en herbicide de la solution préparée est atteinte après le prélèvement des 50 premiers millilitres. Ainsi, les conclusions émises pour les solutions pures s'étendent au cas d'une solution comportant une matrice organique complexe.

ζ - Le rinçage

Lors du rinçage à l'eau distillée après le prélèvement d'une solution, la concentration de l'extrait atteint zéro très rapidement (Figure 8). Des résultats équivalents ont été obtenus pour les 4 pesticides à toutes les concentrations. Les pesticides retrouvés dans l'eau distillée proviennent :

- de la solution encore présente dans les pores lorsque l'eau distillée arrive (élution);
- d'une libération rapide des molécules fixées par la céramique (désorption).

Ainsi, la rétention des pesticides ne semble pas stable. Un bilan permettrait de vérifier qu'il ne subsiste pas de pesticides à l'intérieur du matériau poreux après rinçage mais ce n'était pas l'objet de cette étude. Ces résultats permettent de penser que "l'inertie" de la bougie, d'un prélèvement à l'autre au niveau des conditions naturelles, ne constituera pas une source d'erreur considérable.

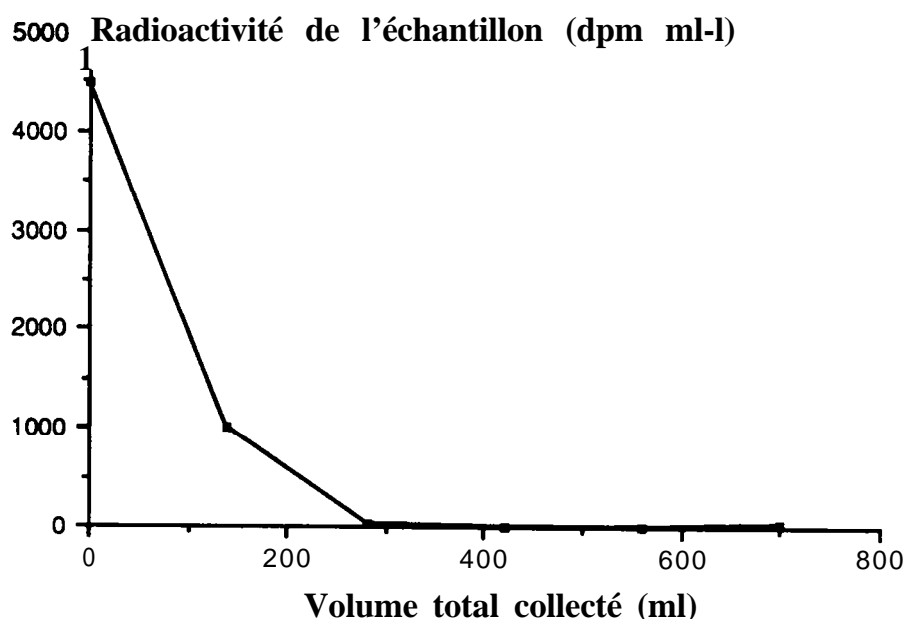


Figure 8 : Évolution de la radioactivité présente dans l'eau lors des différentes phases de rinçage.

2 - Travaux réalisés à l'aide d'un sol reconstitué

Afin de se rapprocher de la situation du prélèvement au champ, il est possible d'effectuer au laboratoire des tests à partir d'un **échantillon** de sol de quelques kilogrammes.

Cette partie permet d'envisager l'influence de deux facteurs supplémentaires :

- charge hydraulique,
- **type de sol.**

Dans le système "sol", la disponibilité du pesticide diminue par formation de liaisons avec ses constituants organo-minéraux ou par emprisonnement dans la microporosité. L'étude du prélèvement devra donc tenir compte de la **présence** de résidus non extractibles. En outre, la présence d'argiles provoque un colmatage des bougies et modifie leurs propriétés mécaniques (ralentissement de la vitesse de prélèvement). Ces deux phénomènes étant présents au terrain, il est important de pouvoir comparer les essais de prélèvement en milieu aqueux avec le cas d'un sol reconstitué.

Un exemple de **résultat** de collecte dans un échantillon de sol contaminé par de l'isoproturon est proposé dans la figure 9.

Tout comme lors des prélèvements en solution aqueuse, la teneur en isoproturon dans l'eau extraite du sol par la bougie poreuse est légèrement perturbée au départ avant de se stabiliser à une valeur proche de celle de la solution du sol. Ce comportement est identique lorsqu'il s'agit de l'atrazine.

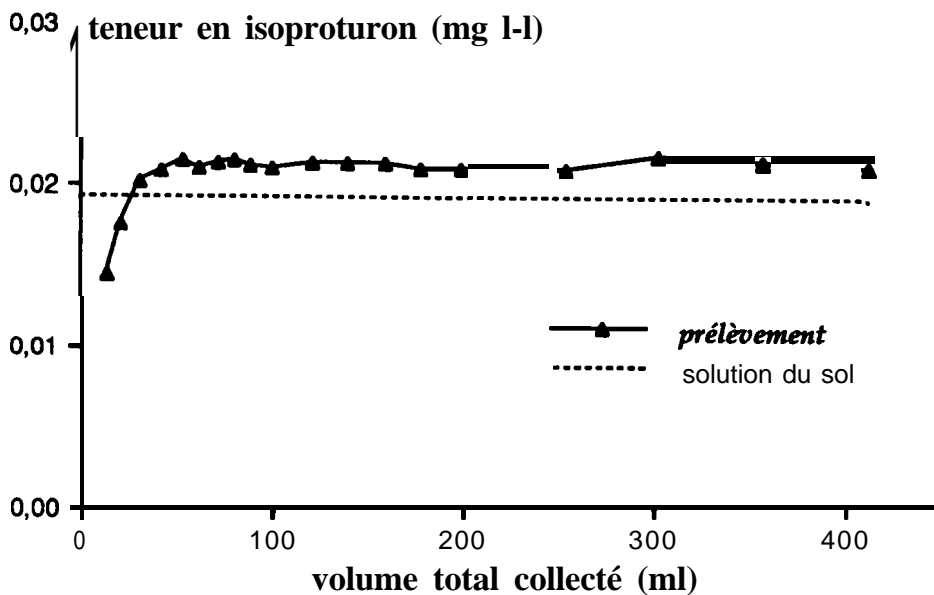


Figure 9 : Évolution de la teneur en isoproturon du **prélèvement** d'une bougie poreuse dans un échantillon de sol.

c - Conclusion

Ces tests en laboratoire ont permis de montrer qu'il se produisait des **réactions** variables, suivant les conditions du milieu, entre les pesticides et la **céramique** poreuse. Contrairement aux ions nitrates, elles sont **limitées** au début du **prélèvement** et peuvent être attribuées à des phénomènes de sorption et de tamisage . Ainsi, l'utilisation de bougies poreuses en vue d'un dosage en pesticides demandera certainement (à l'inverse des nitrates) la prise en compte d'une période préliminaire permettant d'atteindre l'**équilibre**. L'un des moyens de recueillir des échantillons représentatifs pourrait être **d'écarter** les **20** ou **50** premiers millilitres **prélevés** dont les concentrations sont **très** éloignées de la solution initiale. Si l'on élimine 20 ou 50 ml au départ, la concentration de l'échantillon qui s'accumule est quasiment celle de la solution de **départ**. Ces tests, complétés par des essais de **prélèvements** de mélanges de solutions d'acides humiques ou de solution de sol avec des pesticides, ont permis de prendre en compte l'environnement que constitue le sol en confirmant les **résultats** obtenus en solution pure. *Ainsi, la bougie poreuses en céramique se révèle déjà un outil prometteur pour le contrôle du niveau de contamination en pesticides des eaux du sol lorsque les volumes récoltés sont de l'ordre de 500 ml.*

B - ÉTUDE COMPARATIVE D'UN SUIVI DES **RÉSIDUS D'ISOPROTURON** DANS L'EAU LIBRE DU SOL PAR DRAINAGE ET BOUGIES POREUSES

Ces travaux débuteront en **février** 1994. Il feront l'objet du prochain compte-rendu.

C-MOUVEMENT DE L'ISOPROTURON ET DE SES DÉRIVÉS DANS LES PREMIERS CENTIMÈTRES DU SOL

Ces travaux ont débuté en mars 1993 . Les **résultats** obtenus ne sont que fragmentaires, un grand nombre d'échantillons sont en cours d'analyse. Ces **résultats** feront l'objet du prochain compte-rendu.

IV - PERSISTANCE ET DÉGRADATION DE L'ISOPROTURON SOUS CONDITIONS NATURELLES

Les travaux concernant cet aspect sont dépendants de l'avancement des points B et C.

V - PERSISTANCE ET DÉGRADATION DE L'ISOPROTURON EN MILIEU CONTROLE

L'expérience entreprise vise à établir un bilan de l'évolution de l'isoproturon dans un sol sur une période de 140 jours, en milieu contrôlé. Ceci permet d'établir, en conditions optimales, la **demi-vie apparente** (persistance du produit) et la **demi-vie réelle** (dégradation jusqu'au stade CO_2).

a - mise en place de l'expérimentation

Après séchage à la température ambiante du laboratoire, le sol est tamisé une **première** fois à 3,5 mm puis à 1 mm. Ne sont donc conservées pour l'expérimentation que les particules comprises entre 1 et 3,5 mm de **manière à** assurer un milieu **aéré** lors de l'incubation.

Les agrégats obtenus sont placés par fraction de 50 g dans des cristallisoirs. Chaque échantillon est alors traité avec 9 ml de solution aqueuse **d'isoproturon** radioactif à la concentration de **56,56 mg.l⁻¹** de manière à apporter le volume d'eau **nécessaire** pour ramener l'**humidité** du sol à 80 % de sa capacité au champ et à apporter la quantité d'herbicide correspondant à un traitement équivalent à 1800 **g.ha⁻¹**. Les échantillons **témoins** reçoivent 9 ml d'eau.

Chaque échantillon est placé dans une enceinte **hermétique** dans laquelle ont été préalablement placés un flacon contenant 10 ml de **NaOH 0,5N** destinée à **piéger** le **CO₂** produit par la respiration du sol et 1 flacon d'eau distillée afin de maintenir une humidité constante. L'ensemble des 40 enceintes sont placées en chambre **thermostatée à 20 °C** et à l'obscurité.

La durée de l'expérience a **été fixée à** 140 jours au cours desquels 10 **prélèvements** sont effectués aux temps : **0-2-4-8-15-30-45-60-90** et 140 jours. A chaque date, 3 échantillons traités et un témoin sont prélevés.

b - les analyses

Chaque **échantillon** prélevé subit 2 types d'extraction. Une extraction à l'eau, visant à estimer **la quantité d'herbicide facilement disponible au moment du prélèvement**, puis 5 à 7 extractions successives par du méthanol afin **d'estimer sa persistance**.

a - Dosage des résidus facilement disponibles

Les échantillons de sol sont soumis à une agitation à froid pendant 15 h avec 100 ml de **CaCl₂ 0,01 M** (l'addition de **CaCl₂** est destinée à empêcher la défloculation du sol). Une centrifugation de 20 mn à 5000 g permet ensuite de récupérer la solution aqueuse à partir de laquelle, après ajustement du volume, 1 ml sera prélevé en vue d'un comptage de la radioactivité.

β- Dosage des résidus peu disponibles

L'extraction a lieu dans ce cas avec 100 ml de méthanol. Elle est répétée 5 à 7 fois, jusqu'à absence de radioactivité dans le solvant. A chaque extraction, après ajustement du volume, 1 ml est prélevé pour comptage de la radioactivité.

γ - Identification et dosage des résidus présents dans les extraits

La proportion d'isoproturon présent dans les extraits est évaluée par **HPLC**. L'ensemble des extraits des 3 **échantillons** sont regroupés, évaporés à sec, puis repris dans un volume **précis** de **méthanol** en vue du dosage.

δ - Minéralisation de l'isoproturon

La radioactivité du **¹⁴CO₂** produit par la dégradation du noyau **benzénique** de l'isoproturon au cours de l'incubation et piégé par les 10 ml de soude est dosée par scintillation liquide en présence de 10 ml de scintillant Ultima Gold.

c - Résultats et discussion

L'expérimentation n'étant pas terminée, nous ne présenterons que les **résultats** concernant les 45 premiers jours d'incubation.

a - Extraction à l'eau : Disponibilité de l'herbicide

Les résultats représentés par la figure 10 montrent un fort pouvoir d'extraction de l'eau au début de l'incubation, vraisemblablement en relation avec l'hydrosolubilité de l'herbicide. La décroissance du pouvoir d'extraction de l'eau est constante, mais particulièrement sensible au temps 30 jours. Ce comportement serait dû, dans un premier temps, à un renforcement des liaisons sol-herbicide, ainsi qu'à sa diffusion dans des espaces non accessibles à l'eau. La chute de l'efficacité de l'extraction serait renforcée dans un deuxième temps par une progression du processus de dégradation de la molécule qui donnerait naissance à des produits moins hydrosolubles ou, surtout, mieux **adsorbés**.

Sur le plan pratique et sous conditions à plein champ, ces résultats montrent que l'isoproturon peut rester très sensible à l'entraînement par l'eau libre circulant dans le sol pendant une période relativement longue.

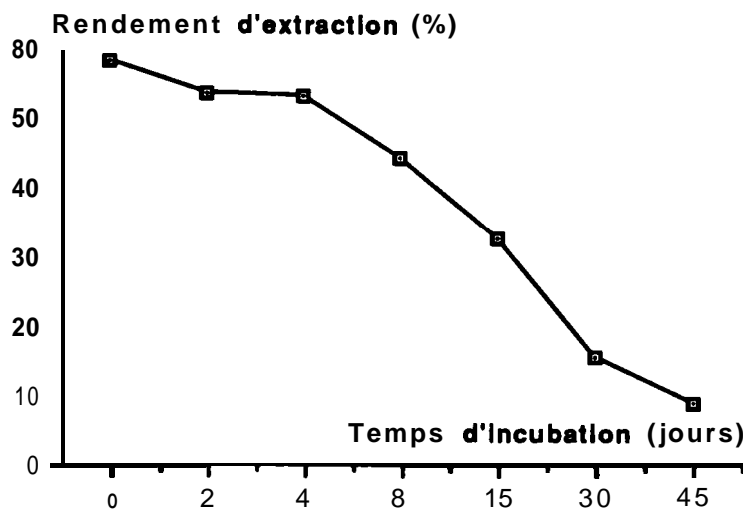


Figure 10 : Évolution du taux d'extraction des résidus d'isoproturon dans le sol par le CaCl_2 0,01 M au cours du temps

β - Extraction par le méthanol : Persistance

Les résultats présentés au tableau III montrent que le méthanol parvient à extraire la quasi totalité des résidus au temps 0 et 2 jours d'incubation, mais son efficacité diminue rapidement et le total recouvre après 45 jours d'incubation (eau + méthanol) n'est que de 21,93 %.

A partir de la représentation du total extrait par le méthanol et l'eau aux différents temps (figure 11) il est possible d'exprimer l'équation de la courbe sous la forme :

$$C = C_0 e^{-kt}$$

avec : C_0 = concentration initiale de l'herbicide
 C = concentration en herbicide au temps t
 k = constante de vitesse de dégradation

L'équation obtenue par régression non linéaire est : $C = 56,24 e^{-0,0312t}$ ($r^2 = 0,99$)

On peut alors calculer la demi-vie apparente de l'isoproturon. Pour le sol utilisé et dans nos conditions d'incubation elle est de 22 jours.

L'ensemble de ces résultats (fort pouvoir d'extraction de l'eau et faible persistance) permettent de comprendre pourquoi l'isoproturon est présent dans les eaux de drainage ou les eaux souterraines à de fortes concentration, mais pour des laps de temps très courts. Son entraînement par l'eau serait dû aux précipitations intervenant très tôt après le traitement.

Tableau III : rendement d'extraction des **résidus** d'isoproturon par le **méthanol** et évolution au cours du temps

Solvant d'extractions	Durée de l'incubation (jours)						
	0	2	4	8	15	30	45
	Rendement d'extraction (%)						
Eau	58,07	53,35	52,97	44,30	32,53	15,79	9,25
Méthanol 1	32,15	36,09	27,1	21,81	20,99	14,19	9,42
2	6,86	6,76	6,45	6,23	5,54	3,62	2,12
3	1,76	1,46	1,53	1,75	1,31	0,87	0,62
4	0,45	0,33	0,43	0,41	0,39	0,29	0,35
5	0,15	0,12	0,12	0,16	0,26	0,19	0,17
6	+	0,06	0,04	0,08	0,15	+	+
Total	99,44	98,17	88,72	74,74	61,17	34,95	21,93

(+)traces

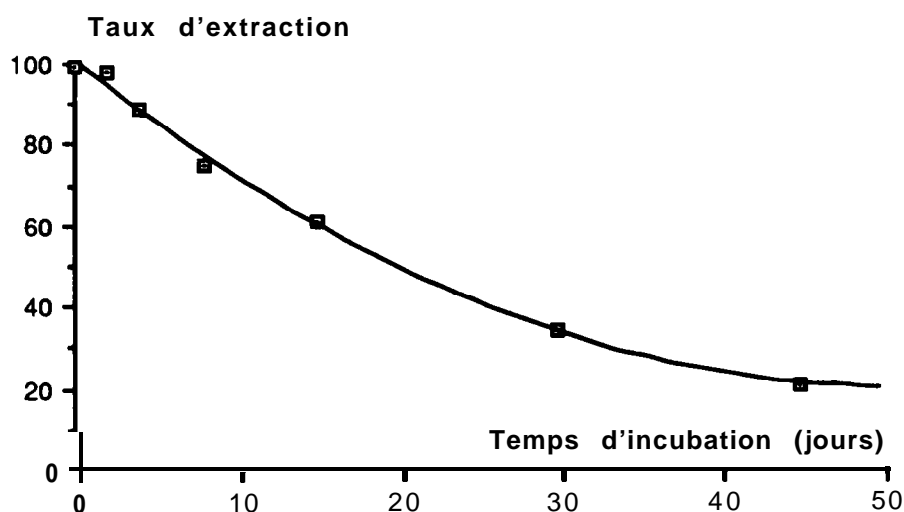


Figure 11: Évolution du taux d'extraction global (méthanol + eau) au cours de l'incubation. (rectangles : valeurs **expérimentales**, courbe: régression polynomiale)

y - Cinétique de minéralisation

Le terme “dégradation” recouvre au moins 2 notions :

- conversion de la molécule **mère** lors de **réactions** abiotiques ou au cours du **métabolisme** microbien avec possibilité de participer à des **néosynthèses**,
- **minéralisation** totale avec production de **CO₂**.

En présupposant qu'il n'intervient aucune immobilisation de **CO₂** dans le sol, la mesure du **¹⁴CO₂** produit par une molécule marquée au **¹⁴C** sur son groupement le plus stable devrait permettre d'évaluer sa **persistance réelle**.

Les résultats obtenus pour l'isoproturon sont représentés par la figure 12. L'analyse des **résultats** montre, en premier lieu, une rapide production de **¹⁴CO₂** due vraisemblablement à la dégradation des impuretés présentes dans le produit livré par Isotopchim (pureté radiochimique $\geq 98\%$). La dégradation s'accélère ensuite entre le **8^{ème}** et le **22^{ème}** jour. Cette accélération pourrait correspondre à la mise en place de populations microbiennes aptes à dégrader l'herbicide. Le **¹⁴CO₂** produit au cours de cette phase proviendrait donc à la fois d'une poursuite de la dégradation des impuretés et d'une dégradation efficace de l'isoproturon. A partir du **22^{ème}** jour, la production de **¹⁴CO₂** baisse sensiblement et la dégradation ne concernerait plus que l'isoproturon et ses métabolites produits antérieurement, par une population microbienne parvenue à l'optimum de sa croissance en fonction des conditions du milieu. En définitive, près de **8%** de l'herbicide sont dégradés en 45 jours.

Par régression non **linéaire**, la courbe de disparition de la **matière** active a pour équation :

$$C = 56,96 e^{-0,0017t} \quad (r^2 = 0,97)$$

On en déduit une **demi-vie réelle** de l'isoproturon dans nos conditions de travail de 177 jours.

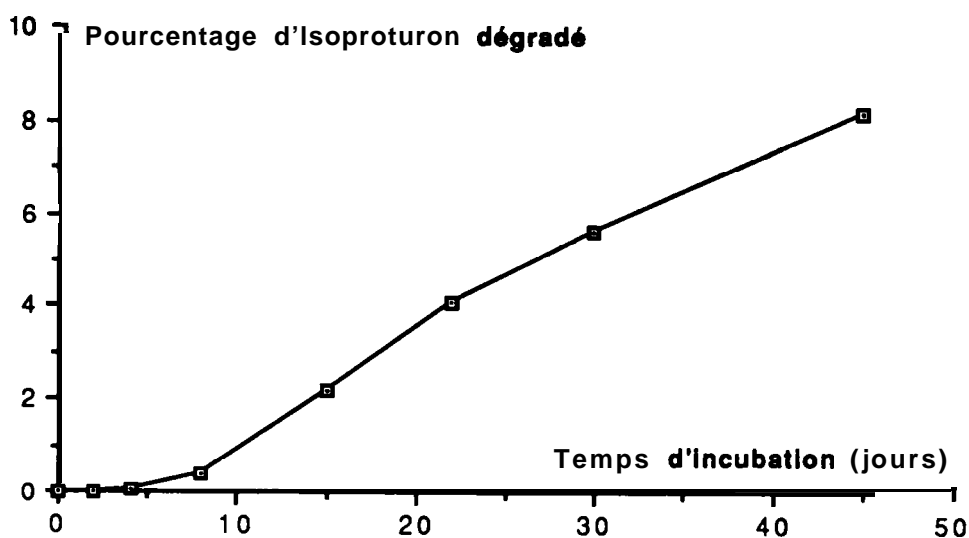


Figure 12 : Courbe représentant les quantités cumulées de **¹⁴CO₂** produites par la dégradation de l'isoproturon, marqué au **¹⁴C** sur le noyau **benzénique**, en fonction du temps d'incubation

L'écart entre la demi-vie apparente (22 **jours**) et la demi-vie **réelle** (177 **jours**) traduit la résistance de la dégradation du noyau benzénique, mais également la mise en place d'un phénomène **d'hystérésis** de plus en plus marqué avec formation de résidus non extractibles (résidus "liés"). Le produit devient de moins en moins disponible pour les microorganismes du sol et pour les solvants d'extraction mais subsiste dans le milieu.

δ - Cinétique de formation des résidus "liés"

L'évolution de la radioactivité non-extractible (R*NE) aux **différents** temps d'incubation peut être **appréciée** par combustion du sol après extraction exhaustive des résidus.

Le tableau IV donne les résultats obtenus sous forme d'un bilan des différents types de radioactivité. On constate une rapide progression dans l'immobilisation de la radioactivité ayant pour origine le ¹⁴C du noyau de l'isoproturon. En l'état actuel de nos moyens d'investigation, il n'est pas possible d'en donner la nature (isoproturon ou **métabolites**), cependant il en ressort une information extrêmement intéressante sur le plan pratique : ***très rapidement, une forte proportion d'isoproturon devient non disponible pour un transport par l'eau libre du sol. Le risques à moyen terme de pollution des eaux profondes devient donc négligeable tant par la matière active que par ses métabolites.***

Tableau IV : Bilan des différentes formes de résidus présentes au cours de l'incubation

Formes Extraites (%)	Temps d'incubation (jours)						
	T ₀	T ₂	T ₄	T ₈	T ₁₅	T ₃₀	T ₄₅
eau	58,07	53,35	52,97	44,30	32,53	15,79	9,25
méthanol	41,37	44,82	35,75	30,44	28,64	19,16	12,68
¹⁴ CO ₂	0,0	0,01	0,04	0,38	1,78	1,57	2,52
total extrait	99,44	98,18	88,76	75,12	62,95	36,52	24,45
R*NE	0,30	0,16	6,13	20,69	32,42	57,48	68,75
Bilan	99,74	99,79	94,89	95,81	95,37	94,14	93,20

ε - Évolution de l'état de dégradation de l'isoproturon au cours du temps

Il n'est pas possible de connaître l'état de dégradation réel de l'isoproturon à un instant donné dans le sol. En effet, à cela s'oppose, d'une part l'impossibilité de connaître le taux d'extraction de ses produits de conversion et d'autre part, un problème de limite de détection. L'analyse

chromatographique donne donc une image certainement **déformée** dans la mesure où ne sont identifiés et quantifiés que les **métabolites** extraits par les solvants. Cette étude permet toutefois d'identifier les produits dominants présents dans le sol et susceptibles d'un transfert.

A l'examen des résultats présentés dans le tableau V on note que la dégradation biologique de l'isoproturon intervient **très** rapidement. Le monométhylisoproturon constitue le métabolite majeur dont la **présence** est mesurable dès le **15^{ème}** jours. Après 45 jours sa concentration dans les extraits de sol dépasse celle de la **matière** active.

La **différence** entre les **résidus** théoriquement extraits, évalués par la mesure de la radioactivité, et les résidus dosés par HPLC montre que d'autres formes sont présentes dans l'ensemble des extraits, mais leur identification n'a pas **été** possible.

Tableau V : Nature des résidus extractibles

Temps d'incubation (jours)	Équivalent isoproturon théoriquement extrait	dosage par HPLC		Total HPLC
		Isoproturon	Monométhylisoproturon	
0	0,506	0,418	0	0,418
2	0,500			
4	0,452	0,364	0	0,364
8	0,380	0,296	0	0,296
15	0,311	0,182	0,038	0,220
30	0,178	0,068	0,046	0,114
45	0,112	0,050	0,079	0,129

d - Conclusion

L'ensemble des résultats obtenus tendent à montrer, d'une part une dégradation rapide de l'isoproturon et d'autre part que la pollution éventuelle de l'eau par l'isoproturon n'est que de courte durée mais elle serait relayée par le **monométhylisoproturon** qui constitue son métabolite majeur. Pour **apprécier** les risques de sa dispersion dans le milieu il reste à **préciser** qu'elle est sa durée de vie et sa réactivité par rapport aux constituants du sol sous conditions naturelles.