

Devenir et comportement de l'herbicide Isoxaflutole dans l'environnement

Études en conditions contrôlées et en conditions naturelles

Estelle Beltràn

Cet article résume la thèse soutenue le 18 décembre 2001 à l'Université Montpellier I qui a valu à son auteur le Prix Phytopharma 2002.

Summary **Fate and behaviour of the herbicide Isoxaflutole in the environment. Studies under controlled and natural conditions**

The herbicide Isoxaflutole (IFT) is a new proherbicide recently developed by Bayer CropScience France and used in pre-emergence on maize and sugarcane. Its easy isomerization into a diketone derivative DKN, which is the effective active substance, occurs in several media. Two supplementary products are supposed to be formed in the natural environment: a benzoic acid derivative BA and an aminomethylidene one, NO. The fate and behaviour of IFT was studied in a soil from Montpellier under natural conditions and under controlled conditions in aqueous media and in several soils. In aqueous solutions, the high reactivity of IFT could be shown; thus, the degradation rate of IFT increased as pH value raised. The DKN derivative was the only compound detected under sterile conditions, whereas both DKN and NO were formed when some soil fungi were added to the aqueous solutions. Studying the adsorption-desorption processes for IFT, DKN and BA and the degradation of IFT in soil under controlled conditions allowed us to precise the effect of parameters such as temperature, moisture content, pH value and organic matter content of the soil, etc. Under natural conditions, IFT, DKN and residues of BA were confined in the topsoil. A new method for BA analysis was also proposed. Experimental results could be described by a model linking retention processes and isomerization of IFT both in aqueous and sorbed states.

Mots-clés **Produit phytosanitaire, Isoxaflutole, isomérisation chimique, dégradation biologique, adsorption-désorption, modélisation, mobilité.**

Key-words **Plant protection product, Isoxaflutole, chemical isomerization, biological degradation, adsorption-desorption, modelling, mobility.**

Introduction

Contexte général

Le comportement d'un produit phytosanitaire dans l'environnement dépend des processus de transfert, de

transport et de transformations auxquels il peut être soumis, selon de nombreux mécanismes d'échange entre les différents compartiments air, eau et sol (figure 1). Parmi ces différents processus, citons :

- la volatilisation ;
- le ruissellement ;
- le transport vertical hydrodynamique par la phase aqueuse du sol, résultante de flux d'eau descendants et ascendants ;
- les phénomènes de rétention (adsorption et désorption) ;
- l'absorption, l'exsudation et la rétention par les plantes, ainsi que l'absorption par les organismes vivants dans le sol ;
- les transformations abiotiques, dont la photodégradation ;
- les dégradations biotiques, par métabolisation directe par les micro-organismes et/ou par co-métabolisation...

Les interactions sont multiples et liées notamment à la nature physico-chimique de la molécule ainsi qu'aux conditions pédoclimatiques.

L'Isoxaflutole (IFT) et ses principaux dérivés

La figure 2 présente l'IFT et ses dérivés DKN, AB et NO, ainsi que leurs principales propriétés physico-chimiques connues.

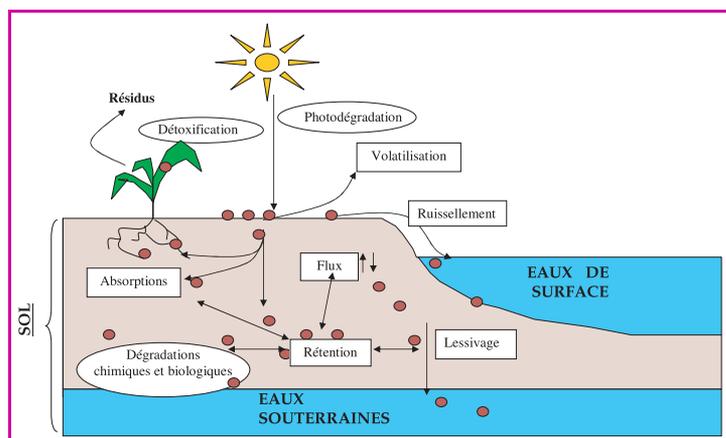


Figure 1 - Comportement général d'un produit phytosanitaire dans l'environnement.

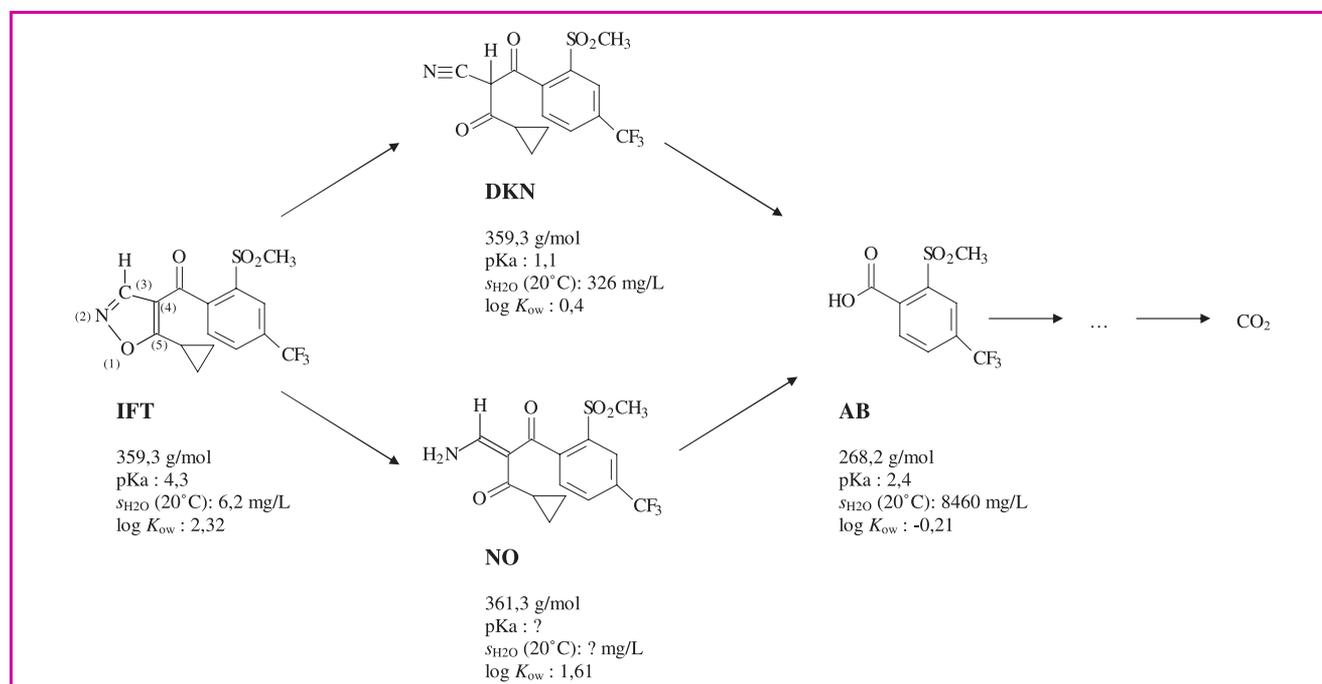


Figure 2 - L'IFT et ses principaux dérivés.

Appliqué en traitement de pré-émergence sur le maïs, l'IFT est un herbicide à action systémique. D'abord absorbé par les racines et les jeunes tiges des adventices, il est véhiculé par le xylème et accumulé par les méristèmes. La véritable substance active, le dérivé DKN, est rapidement formé par ouverture du noyau isoxazole de l'IFT et inhibe l'enzyme *p*-hydroxyphénylpyruvate dioxygénase (4-HPPD), intervenant dans la biosynthèse des quinones, précurseurs des caroténoïdes [1-2]. L'IFT peut être appliqué seul (formulations Emerode[®] et Merlin[®]) ou en mélange avec d'autres substances actives telles que l'Aclonifen (formulations Acajou[®] et Lagon[®]) ou l'Atrazine (formulation Atoll[®]).

L'IFT faisant partie des nouvelles substances actives utilisées en agriculture, il est donc apparu nécessaire d'essayer de déterminer quantitativement les paramètres pouvant avoir une influence sur son comportement général dans l'environnement.

Nous avons étudié, en conditions contrôlées de laboratoire dans un premier temps, les cinétiques de dégradation de l'IFT dans l'eau et dans le sol, ainsi que les processus d'adsorption-désorption de l'IFT, du DKN et de l'AB sur plusieurs sols de propriétés physico-chimiques différentes. Au cours de ce travail de thèse, nous avons également amorcé une approche modélisatrice permettant de prendre en compte simultanément les phénomènes de dégradation et de rétention, et réalisé un essai de suivi en conditions naturelles de plein champ. Les résultats présentés ici concernent les études de dégradation en milieu aqueux et dans le sol, ainsi que les études d'adsorption-désorption.

Matériel et méthode

Préparation des échantillons

Solvants et réactifs

Acétonitrile, méthanol, acétone, eau pour préparations injectables, alcool isopropylique, (triméthylsilyl)-diazométhane 2M dans l'hexane (TMSD), bases et acides divers. Les

standards analytiques (IFT, DKN, AB, NO) de pureté supérieure ou égale à 99 % ont été fournis par Aventis CropScience France (Lyon).

Matériel utilisé

- Agitateurs type « omni-mixer » Coupatan-R.
- Centrifugeuse Sigma Laborzentrifugen type 2-5.
- Agitateur horizontal.
- Évaporateur Zymark Turbovap LV.
- Filtres Nalgène 0,2 μ m.
- Filtres Nylon 66 0,45 μ m.
- Matériels et verrerie classique de laboratoire.

Procédure analytique

La figure 3 résume les différentes méthodes analytiques utilisées tout au long de ce travail. Les échantillons aqueux concernent les solutions tamponnées de l'étude de la dégradation en milieu aqueux ainsi que les surnageants de l'étude d'adsorption-désorption. L'analyse correspondante n'a pas nécessité d'étape de pré-concentration. Les échantillons de sol concernent les substrats solides des études de la dégradation dans le sol en conditions contrôlées et en conditions naturelles : ils ont été extraits deux fois par un mélange de solvants ($CH_3CN/H_2O/HCl_{0,1M}$, 60/40/0,8 : v/v/v), purifiés, évaporés sous vide puis repris par 3 mL de phase mobile (extrait I) pour analyse chromatographique par HPLC/UV. En raison d'interférences au temps de rétention du dérivé AB, une étape de méthylation a été mise au point pour cette molécule. Une aliquote de l'extrait I a été méthyliée en milieu acide par du TMSD à 35 °C sous flux d'azote. L'extrait ainsi obtenu a été repris par 1,5 mL d'acétone (extrait II) et analysé par CPG/ECD et CPG/MS.

Matériel chromatographique

- **HPLC/UV** : appareil équipé d'une pompe Shimadzu LC-10ADVP, d'un injecteur automatique SIL-10ADVP (boucle de 20 μ L) et d'un détecteur Shimadzu SPD-10AVP, bilongueur d'onde.

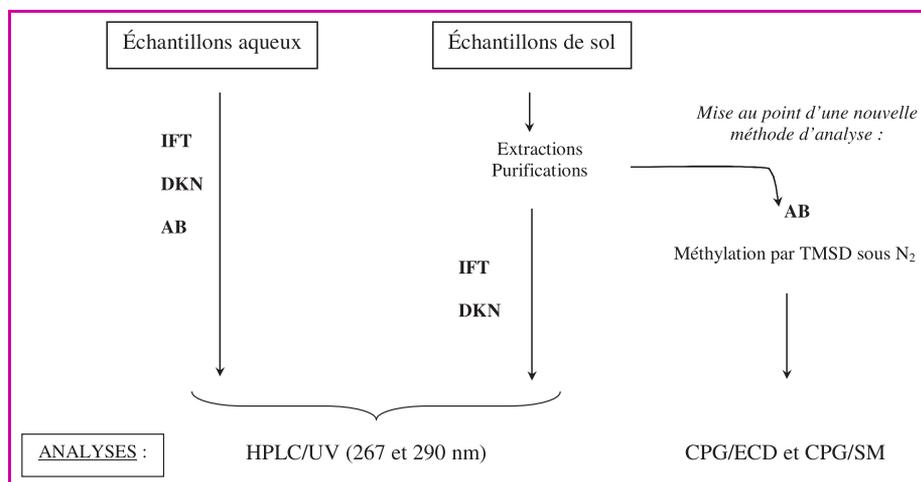


Figure 3 - Schéma résumant les différentes méthodologies utilisées.

- Longueurs d'onde utilisées : 267 et 290 nm.
- Phase stationnaire : colonne C18 Hypersil ODS 5 μm , 250 \times 4,6 mm (Supelco).
- Phase mobile : $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}/\text{CF}_3\text{COOH}$ (48/52/0,5 : v/v/v), mode isocratique.
- Débit : 1 mL/min.
- Enregistrement et traitement des données : logiciel Star de Varian.

Dans ces conditions d'analyse, les temps de rétention de l'IFT, du DKN, du NO et de l'AB étaient respectivement de 14,6 ; 13,7 ; 7 et 4,9 min.

• **CPG/ECD** : chromatographe en phase gazeuse Varian 3350 équipé d'un détecteur à capture d'électrons ^{63}Ni .

- Gaz vecteur : N_2 U, débit : 1,5 mL/min.
- Phase stationnaire : colonne capillaire 15 m \times 0,25 mm DB-1701 [(14 % cyanopropylphényl)-méthylpolysiloxane] ; épaisseur du film 0,25 μm (J & W Scientific).
- Température de l'injecteur : 185 $^\circ\text{C}$ (mode splitless) ; température du détecteur : 300 $^\circ\text{C}$; programmation de température : de 90 $^\circ\text{C}$ (1 min.) à 240 $^\circ\text{C}$ (25 min.) à raison de 15 $^\circ\text{C}/\text{min}$.

- Enregistrement et traitement des données : logiciel Chemstation de Hewlett Packard.

Dans ces conditions d'analyse, le temps de rétention de l'AB-méthylé était de 10,85 min.

• **CPG/SM** : chromatographe en phase gazeuse HP 5890 Series II équipé d'un détecteur de masse HP 5971 (détection en mode SIM).

- Gaz vecteur : He 5.5 ; débit : 1,5 mL/min.
- Phase stationnaire : colonne capillaire 30 m \times 0,25 mm DB-5 [(5 % diphényl)/(95 % diméthylsiloxane)] ; épaisseur de film 0,25 μm (J & W Scientific).
- Température de l'injecteur : 175 $^\circ\text{C}$ (mode splitless) ; température du détecteur : 280 $^\circ\text{C}$; programmation de température : de 90 $^\circ\text{C}$ (1 min.) à 235 $^\circ\text{C}$ (15 min.) à raison de 20 $^\circ\text{C}/\text{min}$.
- Enregistrement et traitement des données : logiciel MSChemstation de Hewlett Packard.

Dans ces conditions d'analyse, le temps de rétention de l'AB-méthylé était de 8,29 min.

Les critères de qualité des différentes étapes de préparation des échantillons et d'analyse ont été vérifiées (spécificité, stabilité des solutions, répétabilité, reproductibilité, linéarité, taux de recouvrement, limites de détection et de quantification...).

Dégradation de l'IFT dans l'eau et dans le sol

Dégradation dans l'eau

Protocole expérimental

Après avoir vérifié que la concentration initiale en IFT (milieux aqueux) n'affectait pas les valeurs des constantes de vitesse, nous avons fixé la concentration initiale d'IFT à 10 mg/L. Les échantillons ont été maintenus à température constante, à l'obscurité, en flacons bruns hermétiquement fermés et régulièrement agités. Pour l'étude en conditions abiotiques, plusieurs paramètres ont été étudiés : l'influence du pH (valeurs comprises entre 1,8 et 10,1), de la température (20 $^\circ\text{C}$, 35 $^\circ\text{C}$ et 50 $^\circ\text{C}$), de la composition de la solution tamponnée (tampons organiques/inorganiques). Les prélèvements ont été réalisés en atmosphère stérile (proximité de la flamme d'un bec bunsen). Pour l'étude en conditions non stériles, l'influence de la présence d'une bactérie (*Stenotrophomonas maltophilia*) et de souches mycologiques (*Penicillium chrysogenum* – 2 souches – et *Exophiala jeanselmei*) a également été étudiée.

Résultats

En conditions stériles, le DKN a été le seul dérivé détecté. En présence de *P. chrysogenum*, le DKN et le NO ont été détectés (la quantité de NO n'étant pas supérieure à 10 % de la concentration initiale en IFT).

Dans tous les cas, le modèle de cinétique de pseudo-premier ordre [3] a pu être appliqué à l'isomérisation de l'IFT en DKN :

$$\ln \frac{C}{C_0} = -K_{\text{obs}} t$$

avec C_0 , concentration initiale en IFT (en mg/L), C , concentration (en mg/L) au temps t (en h) et K_{obs} , constante de vitesse observée (en h^{-1}).

Influence du pH en tampons inorganiques. Influence de la nature des constituants du tampon

Comme le montre la figure 4, l'isomérisation de l'IFT a été soumise à une catalyse basique puisque la valeur de K_{obs} augmentait lorsque le pH augmentait. Nous avons pu également remarquer sur cette figure qu'à un changement de constituants du tampon correspondait un changement de pente de la droite $\log K_{\text{obs}} = f(\text{pH})$, ce qui nous a permis de supposer que l'isomérisation de l'IFT pouvait également être influencée par les espèces chimiques en solution.

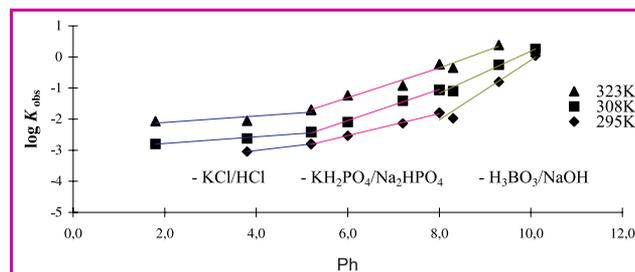


Figure 4 - Influence du pH sur la constante de vitesse observée K_{obs} de l'isomérisation de l'IFT en DKN en tampons inorganiques. (\blacktriangle : 323 K, \blacksquare : 308 K, \blacklozenge : 295 K).

Ceci a pu être vérifié au cours d'expériences complémentaires en tampons organiques de type RCOOH/RCOONa : pour une même valeur de pH (pH 5,2), la constante de vitesse K_{obs} a ainsi été près de 10 fois plus élevée en tampon $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CH}_3\text{COONa}$ qu'en tampon $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$ [4].

Influence de la température

L'effet catalytique de la température a pu être quantifié grâce à la loi d'Arrhénius :

$$K_{obs} = A \exp\left[\frac{-E_a}{RT}\right]$$

avec A , constante spécifique de la réaction, E_a , énergie d'activation de la réaction (en J/mol), R , constante des gaz parfaits (8,314 J/mol.K) et T , température (en K).

Les droites obtenues sur le diagramme d'Arrhénius ont permis de déterminer les énergies d'activation de l'isomérisation chimique de l'IFT en milieu aqueux stérile. La valeur moyenne des énergies d'activation $E_a(\text{moy}) = 82,4$ kJ/mol correspond bien à un mécanisme réactionnel de type E2 en une seule étape, comme cela est indiqué sur la *figure 5*. En effet, le cycle isoxazole de l'IFT n'est pas substitué en position 3, ce qui entraîne une déficience électronique sur ce carbone et, par conséquent, une forte tendance à l'ouverture du cycle par protonation de l'atome d'hydrogène correspondant [5].

Présence de micro-organismes

A la suite d'une contamination accidentelle d'échantillons aqueux, quelques-uns des micro-organismes présents ont été isolés, purifiés et identifiés : la bactérie *Stenotrophomonas maltophilia* ainsi que trois souches de champignons inférieurs (deux souches de *Penicillium chrysogenum* et une souche d'*Exophiala jeanselmei*) ont été ensuite réutilisées séparément afin de déterminer leur influence éventuelle sur la dégradation de l'IFT.

Dans les milieux inoculés par *S. maltophilia*, les vitesses de dégradation de l'IFT n'ont pas été significativement différentes de celles déterminées en conditions stériles, de même que dans les milieux contenant la souche mycologique *E. jeanselmei*. En revanche, la dégradation de l'IFT a été plus fortement influencée par la présence de *P. chrysogenum* : le dérivé NO a été quantifié, à des teneurs différentes selon la souche de *P. chrysogenum* considérée, et les vitesses de réaction étaient significativement différentes de celles observées en conditions abiotiques.

Dégradation dans le sol

Protocole expérimental

Après avoir vérifié que la teneur initiale en IFT n'affectait pas les valeurs des constantes de vitesse, nous l'avons fixée à 10 mg/kg de sol préalablement séché à l'air et tamisé à 2 mm. Les échantillons fortifiés ont été maintenus à température constante, à l'obscurité, dans des boîtes de Pétri fermées (échantillons non stériles), ou des flacons

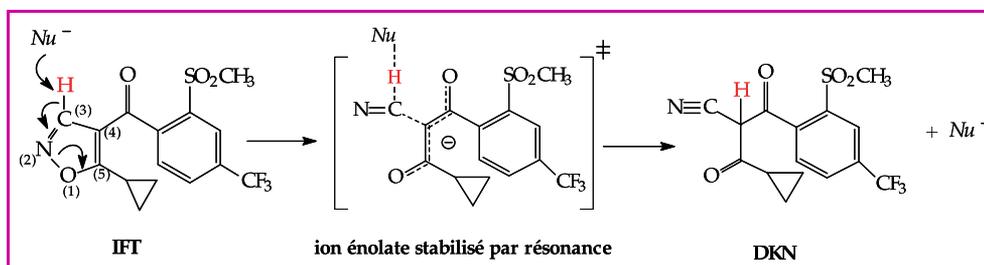


Figure 5 - Mécanisme réactionnel de l'isomérisation de l'IFT en milieu aqueux.

Tableau I - Conditions expérimentales pour l'étude de la dégradation de l'IFT dans le sol.

	Influence étudiée	Humidité (%)	Température (°C)	Nature du sol
Conditions non stériles	Humidité	17 ; 29 ; 45	30	sol O
	Température	17	10 ; 20 ; 30 ; 40 ; 60	sol M1
	Nature du sol	17	30	sol C, sol O, sol M1, sol M2, sol B
Conditions stériles	Activité microbienne	17	30	sol M1

hermétiquement fermés contenant 20 g de sol stérilisé par autoclavage avant fortification (échantillons stériles). Pour l'étude en conditions biotiques, plusieurs paramètres ont été étudiés : l'influence de l'humidité (17 %, 29 % et 45 %), de la température (10 °C, 20 °C, 30 °C, 40 °C et 60 °C) et de la nature du sol. Pour l'étude en conditions stériles, les prélèvements ont été réalisés en atmosphère stérile (proximité de la flamme d'un bec bunsen), et l'influence de l'activité microbienne sur la vitesse de dégradation de l'IFT et sur la nature des dérivés formés a été étudiée à 30 °C. Le *tableau I* résume les conditions expérimentales de l'étude de la dégradation de l'IFT dans le sol. En raison de contraintes analytiques, la quantification de l'AB n'a pu être réalisée que lors des études d'influence de la température et en conditions stériles.

Résultats

Conditions non stériles

- Influence de l'humidité

L'influence du taux d'humidité sur la dégradation de l'IFT a été conduite sur le sol O à 30 °C, la teneur initiale en IFT (10 mg/kg) étant identique pour les trois taux d'humidité testés. Ainsi, pour 17 % d'humidité : 10 g de sol ont été fortifiés par 2 mL de solution aqueuse d'IFT à 50 mg/L ; pour 29 % : fortification par 4 mL de solution à 25 mg/L et pour 45 % : 8 mL de solution à 12,5 mg/L. Il a pu être montré que la vitesse d'isomérisation de l'IFT en DKN était plus rapide lorsque le taux d'humidité était plus élevé. Cette accélération a été également accompagnée de la formation de dérivé NO en quantité d'autant plus importante que le milieu était humide. Une relation linéaire a pu être établie entre le taux d'humidité et le temps de demi-vie de l'IFT :

$$t_{1/2} = -1,2 \times (\% \text{ humidité}) + 86,1$$

- Influence de la nature du sol

Le *tableau II* présente quelques caractéristiques physico-chimiques des sols étudiés. Après 6 jours d'incubation

Tableau II - Quelques caractéristiques physico-chimiques des sols étudiés.
*sols utilisés pour les études d'adsorption-désorption uniquement.

	Sol O	Sol B	Sol C	Sol M2	Sol M1	Sol M1A*	Sol M1B*
Classification FAO	Sand Loam	Clay	Clay	Clay Loam	Clay Loam	Clay Loam	Clay Loam
Argiles (%)	9	46,5	41	19,5	22	22	22
Sables (%)	74	32,5	29	48,5	47	47	47
Limons (%)	17	21	30	32	31	31	31
pH	6,1	8,3	4,8	8,6	8,0	7,3	7,3
C organique (%)	1,1	1,4	1,7	0,7	3,1	1,7	0,6

($t = 143$ h), aucune trace d'IFT n'a pu être détectée dans les sols B, M1 et M2, alors qu'environ 10 % de la teneur initiale en IFT pouvait être quantifiée dans les sols C et O. La quantité totale de molécules extraites représentait 100 % de la teneur initiale en IFT dans M2, 81 % dans M1, 72 % dans B, 60 % dans C et seulement 48 % dans O, semblant indiquer la formation de résidus difficilement extractibles, en quantité variable selon le sol considéré. Le pH acide de ces deux sols pourrait avoir favorisé la solubilisation d'ions Fe^{2+} avec lesquels les dérivés DKN et AB sont susceptibles de se complexer (voir aussi le paragraphe « Désorption »). Les constantes de vitesse K_{obs} calculées en utilisant le modèle de cinétique du premier ordre ont pu être corrélées avec le pH des sols, seul paramètre pour lequel une corrélation satisfaisante a pu être établie. La figure 6 présente la relation exponentielle obtenue.

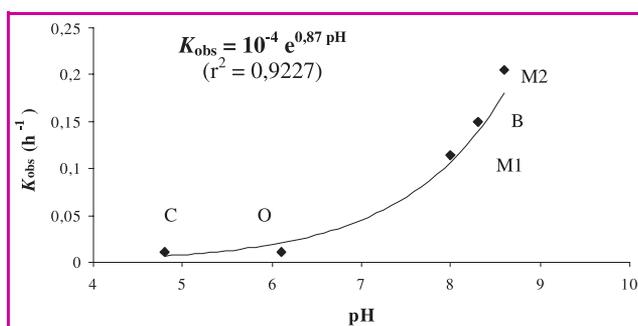


Figure 6 - Relation entre K_{obs} et le pH des sols lors de l'étude de la dégradation de l'IFT en conditions biotiques.

- Influence de la température

Comme attendu, la vitesse de dégradation de l'IFT a été d'autant plus rapide que la température était élevée. Afin de déterminer les processus chimiques et biologiques de l'isomérisation de l'IFT en DKN, le diagramme d'Arrhénius a été tracé (figure 7) : l'absence de changement de pente significatif montre que la destruction de l'activité microbiologique du sol (aux températures supérieures ou égales à 40 °C) n'a pas d'influence sur l'isomérisation, confirmant ainsi le caractère essentiellement chimique de cette réaction. L'énergie d'activation correspondante est de 81,2 kJ/mol, ce qui est similaire à la valeur obtenue en solution aqueuse stérile ; cela indique que le mécanisme réactionnel est le même. La formation du dérivé AB a été suivie quantitativement à 20, 30, 40 et 60 °C. A 20 et 30 °C, après une période de latence, la quantité d'AB formé a tout d'abord augmenté jusqu'à un maximum de 1,4 mg/kg de sol (à $t = 760$ h et à 30 °C), soit seulement 14 % de la teneur initiale en IFT, pour décroître ensuite jusqu'à la limite de détection (figure 8). A 40 et 60 °C, températures entraînant

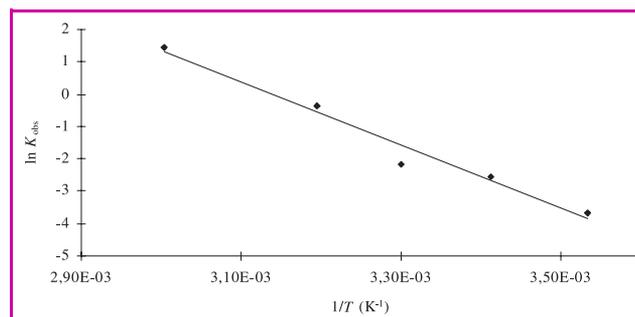


Figure 7 - Dégradation de l'IFT dans le sol en conditions biotiques. Diagramme d'Arrhénius $\log K_{obs} = f(1/T)$.

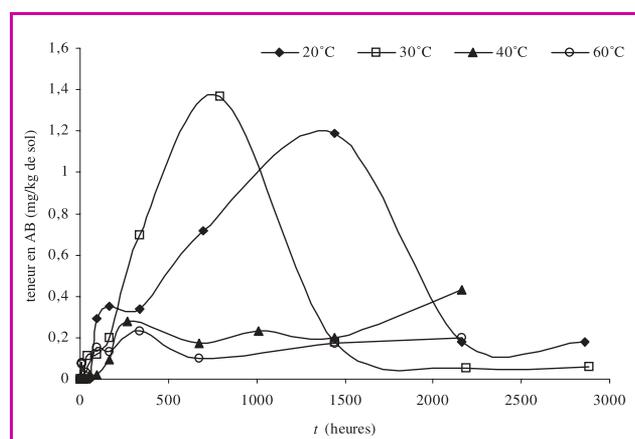


Figure 8 - Dégradation de l'IFT dans le sol en conditions biotiques. Quantités d'AB retrouvées en fonction de la température.

une diminution (et destruction) de l'activité microbiologique du sol, de telles courbes « en cloche » n'ont pas été observées, et les quantités retrouvées n'ont pas excédé 0,4 mg/kg de sol. Ainsi, même si nous n'avons pas pu décrire la dégradation du DKN en AB par un modèle cinétique, il est apparu nettement que cette réaction était gouvernée par un processus essentiellement biologique. Il est en effet connu qu'en dessous de 35 °C environ, à la fois les processus chimiques et biologiques ont lieu ; alors qu'au-delà de cette température, les dégradations sont essentiellement chimiques. Cet aspect a pu être vérifié par l'étude de la dégradation de l'IFT dans le sol M1 stérilisé.

Conditions stériles

La dégradation de l'IFT en conditions abiotiques a été suivie à 30 °C et 17 % d'humidité dans le sol M1 stérilisé, appelé M1S. L'isomérisation de l'IFT en DKN a été observée et le

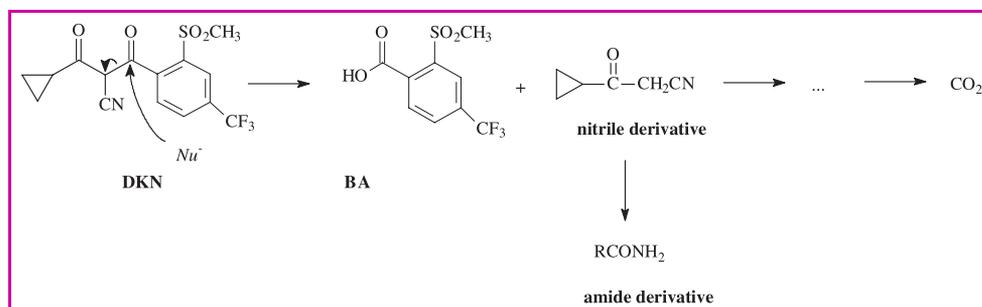


Figure 9 - Mécanisme supposé de la dégradation du DKN en AB.

temps de demi-vie de l'IFT en conditions stériles (96 h) était très proche de celui déterminé en conditions non stériles (114 h). Ceci confirme le caractère essentiellement chimique de la première étape de la dégradation de l'IFT. La deuxième étape, c'est-à-dire la dégradation du DKN en AB s'est révélée très différente selon l'activité microbienne du sol. En effet, alors que dans le sol M1 (sol vivant) l'AB avait pu être quantifié dès le 4^e jour, en revanche dans le sol M1S, même après deux mois d'incubation, ce dérivé était seulement présent à l'état de traces. La présence d'AB en petite quantité à la fin des expérimentations permet de supposer qu'un processus chimique pouvait ne pas être totalement exclu, comme l'ont évoqué Mougín *et al.* dans une étude portant sur la dégradation du DKN par des souches fongiques [6]. Toutefois, la prépondérance du processus biologique est apparue nettement, et semble se produire comme l'indique la *figure 9* : la fonction CN étant protégée par les deux fonctions cétones (Bayer CropScience France, *pers. comm.*), la formation de l'AB semble être due à une attaque nucléophile sur l'atome de carbone situé en alpha du noyau aromatique, par un mécanisme proche de celui décrit par Pallett *et al.* [7]. Le dérivé nitrile est ensuite certainement rapidement dégradé en un dérivé amide non détectable par la méthode d'analyse développée dans cette étude [8].

Adsorption-désorption de l'IFT, du DKN et de l'AB

Les processus d'adsorption et de désorption conditionnent de manière très forte non seulement l'aptitude d'une molécule xénobiotique à migrer à travers les horizons du sol, mais également, entre autres, sa biodisponibilité dans l'environnement, et par conséquent son aptitude à être plus ou moins dégradée. Dans le but de déterminer quels sont les paramètres physico-chimiques du sol ayant le plus d'influence sur la rétention des trois molécules IFT, DKN et AB, des études d'adsorption-désorption ont été conduites, selon la méthode de *batch equilibrium*.

Protocole expérimental

Cinq parmi les sept sols décrits dans le *tableau II* ont été utilisés pour cette étude : sols O, B, C, M1 et M2. Ils ont tous été séchés à l'air libre, tamisés à 2 mm puis conservés à + 4 °C jusqu'à la mise en place des expériences. Deux aliquotes du sol M1 séché et tamisé ont été oxydées par du peroxyde d'hydrogène afin d'en réduire la teneur en carbone organique et étudier l'influence de ce paramètre sur les forces de rétention. Ainsi, le sol M1A résulte de l'oxydation de 300 g de sol M1 par 2 fois 600 mL d'H₂O₂ à 22 volumes et le sol M1B résulte de l'oxydation de 300 g de sol M1 par 2

fois 600 mL d'H₂O₂ à 33 volumes. Le *tableau II* donne les propriétés de ces deux sols « artificiels ». Les solutions aqueuses d'IFT, de DKN et d'AB ont été préparées par dilution des solutions de stockage (1 000 mg/L dans le méthanol), de manière à obtenir des gammes de concentrations régulièrement distribuées (voir paragraphe suivant).

Méthode de batch equilibrium – Cinétique d'adsorption

Préalablement à l'étude d'adsorption-désorption proprement dite, il a fallu déterminer le temps nécessaire pour atteindre l'équilibre. Dans un flacon à centrifuger, 2 g de sol et 5 mL d'IFT à 30 mg/L (ou 50 mg/L pour DKN et AB) ont été agités latéralement, à température ambiante et à l'obscurité, pendant différentes durées ($t = 15, 30, 45$ min., 1, 2, 3, 4, 5 et 8 h), après lesquelles chaque échantillon a été centrifugé à 3 200 rpm pendant 10 min. Chaque surnageant a été récupéré et analysé séparément, directement par HPLC/UV. La quantité de produit adsorbé a ensuite été calculée par différence entre la quantité de produit initialement apportée et la quantité de produit retrouvé dans le surnageant après la rétention.

Méthode de batch equilibrium – Phase d'adsorption (voir *figure 10*)

La procédure utilisée a été identique à la précédente, les concentrations des solutions d'IFT étant égales à 1, 2, 5, 10, 20, 30, 40 et 50 mg/L (pour DKN et AB) et 1, 2, 5, 10, 20, 30 mg/L pour IFT (au-delà de 30 mg/L, des problèmes d'insolubilité de l'IFT se sont posés). Après agitation pendant 4 h (voir paragraphe « Résultats »), les phases solide et liquide ont été séparées par centrifugation et les surnageants directement analysés par HPLC/UV. La quantité de produit adsorbé a ensuite été calculée par différence entre la quantité de produit initialement apportée et la quantité de produit retrouvé dans le surnageant après la rétention.

Méthode de batch equilibrium - Phase de désorption

Pour chacune des molécules et chacun des sols étudiés, la désorption a été conduite sur l'échantillon de sol récupéré après adsorption de la solution aqueuse la plus concentrée, « débarrassée » de son surnageant. Ce culot de sol a ensuite été remis en suspension dans 5 mL de solution aqueuse de CaCl₂ 0,01 M et agité pendant 4 h, puis centrifugé. Après prélèvement et analyse par HPLC/UV du nouveau surnageant, 5 mL de CaCl₂ 0,01 M ont été ajoutés au culot de sol restant pour l'étape suivante de désorption. Cette procédure a été répétée jusqu'à ce que cinq étapes de désorption soient réalisées. La *figure 10* présente schématiquement le protocole expérimental.

Isothermes d'adsorption et de désorption

A partir des concentrations à l'équilibre dans les surnageants (C_e) et des quantités adsorbées correspondantes (Q_{ads}), les isothermes d'adsorption et de désorption ont pu être tracées. Les formules utilisées sont indiquées dans la *figure 10*.

Résultats

Cinétiques d'adsorption

L'isomérisation de l'IFT n'ayant pas pu être évitée, la principale difficulté a été de prendre en compte la quantité totale (adsorbé ET en solution) de DKN formé dans les équations, sans avoir accès directement à la proportion de

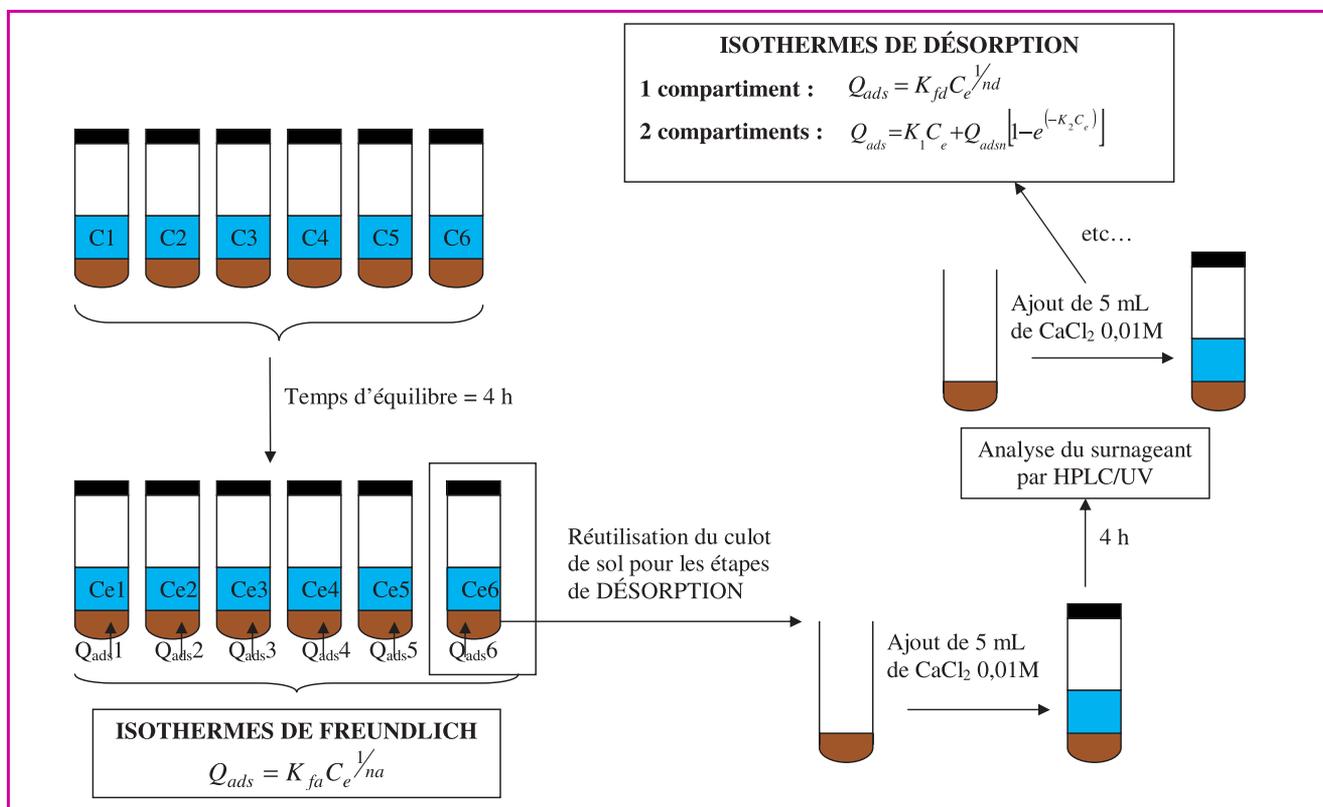


Figure 10 - Méthode de *batch equilibrium*, isothermes d'adsorption et de désorption.

DKN adsorbé. Pour le DKN et l'AB, l'équilibre a été rapidement atteint, la durée variant légèrement d'un sol à un autre ; les équations des isothermes d'adsorption sur le sol O sont présentées ci-dessous :

Pour le DKN :

$$Q_e = 247,0 e^{-0,2912t}, (r^2 = 0,9645)$$

Pour l'AB :

$$Q_e = 236,77 e^{-0,7216t}, (r^2 = 0,8781)$$

Concernant l'adsorption de l'IFT sur le sol O, un « palier » est apparu après 2 h de contact sur le sol O et nous avons pu décrire l'isotherme d'adsorption comme suit :

$$Q_e(IFT) = 151,7 e^{-1,7687t}, (r^2 = 0,9273)$$

$$Q_e(DKN) = Q_0(IFT) \times (1 - 0,9971 e^{-0,0021t}), (r^2 = 0,9667)$$

$$Q_{ads}(IFT+DKN?) = 52,95 \ln t + 124,63, (r^2 = 0,9153)$$

A partir des résultats de cinétiques d'adsorption obtenus sur les sols étudiés, un temps d'équilibre égal à 4 h a été choisi pour étudier les phénomènes de rétention des trois molécules sur tous les sols. En effet, cette durée a semblé nécessaire et suffisante à l'atteinte de l'équilibre sol/solution aqueuse et a permis de limiter, dans une certaine mesure, la formation de DKN à partir d'IFT.

Dégradation de l'IFT pendant les études d'adsorption-désorption

Grâce à une étude cinétique complémentaire de la désorption du DKN, il a pu être établi que, dans nos conditions expérimentales, $Q_{DKN}^{eau} \approx 4 \times Q_{DKN}^{sol}$. En faisant l'approximation que la présence d'IFT en solution et dans le sol ne modifiait pas la proportion $Q_{DKN}^{eau}/Q_{DKN}^{sol}$, nous avons pu écrire qu'après l'étape d'adsorption la quantité d'IFT disponible pour la première étape de désorption était :

$$\frac{Q_{dispo}(IFT)}{m} = \frac{Q_0(IFT)}{m} - \frac{v}{m} C_e(IFT) - \frac{5v}{4m} C_e(DKN)$$

où $Q_{dispo}(IFT)$ est la quantité d'IFT disponible dans le sol (μg), $Q_0(IFT)$ est la quantité d'IFT initiale d'IFT (μg), v le volume du surnageant (mL), m la masse de sol (g), $C_e(IFT)$ la concentration à l'équilibre d'IFT dans le surnageant ($\mu g/mL$) et $C_e(DKN)$ la concentration à l'équilibre de DKN dans le surnageant ($\mu g/mL$).

Cette équation nous a permis de construire les isothermes d'adsorption de l'IFT sur les sept sols.

Isothermes d'adsorption

La figure 11 présente les isothermes d'adsorption obtenues pour les trois molécules sur les sept sols étudiés. Les valeurs moyennes des K_{oc} ont été de 241 pour l'IFT, 70 pour le DKN et 25 pour l'AB, indiquant que l'adsorption de l'IFT était plus forte que celle de ces deux principaux dérivés, cette adsorption restant relativement faible pour les trois composés. La diminution artificielle de la teneur en matière organique par traitement du sol M1 par le peroxyde d'hydrogène n'a pas permis d'établir avec certitude une relation entre les coefficients d'adsorption et les teneurs en carbone organique. Ceci a pu résulter d'une possible altération de la qualité de la matière organique due au traitement par H_2O_2 , pouvant avoir induit une variation des processus d'adsorption. Le comportement assez particulier de l'IFT sur le sol O pourrait être dû à la qualité particulièrement réactive de la matière organique de ce sol très sableux provenant des Landes.

Désorption

Pour les études de désorption, nous avons utilisé le modèle de Freundlich et le modèle à deux compartiments décrits dans la figure 10. Le modèle à deux compartiments a mieux convenu à la désorption du DKN et de l'AB sur le sol C : comme cela a été abordé dans le chapitre « Dégradation dans le sol », la forte proportion de fer dans le sol C a pu

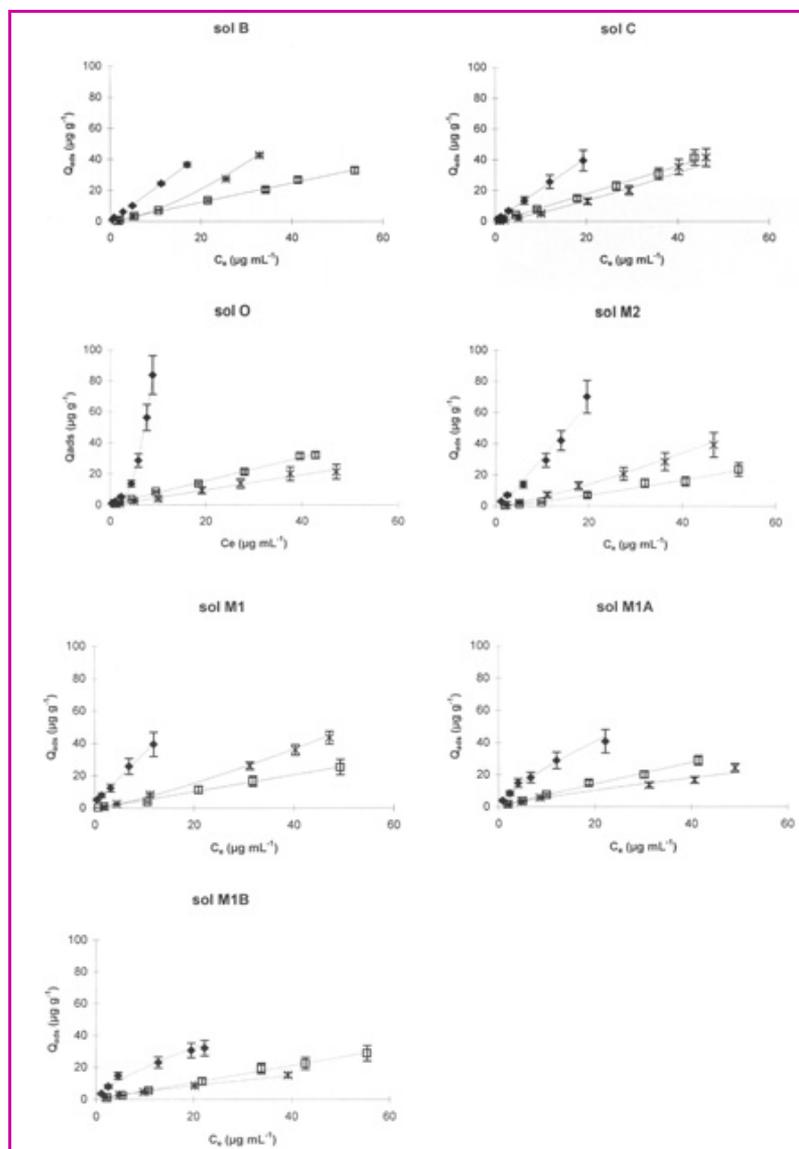


Figure 11 - Isothermes d'adsorption de l'IFT, du DKN et de l'AB sur les sept sols étudiés.

favoriser la complexation du DKN et de l'AB et entraîner des adsorptions plus fortes à la surface de ce sol. Dans tous les autres cas de figure, le modèle de Freundlich a donné de meilleurs résultats [9].

Conclusions et perspectives

Le travail présenté a permis d'élargir le domaine des connaissances relatives au comportement de l'IFT dans l'environnement, et plus particulièrement dans l'eau et dans le sol. En milieu aqueux, l'influence de facteurs tels que le

pH, la température, la nature des solutions tamponnées, la présence de micro-organismes a pu être définie. Dans le sol, l'isomérisation de l'IFT en DKN et la dégradation biologique du DKN en AB ont été confirmées. Enfin, les processus d'adsorption-désorption ont été également étudiés.

Parmi les perspectives qui se dégagent du travail présenté, il pourrait être intéressant d'approfondir l'influence des micro-organismes du sol sur la dégradation de l'IFT et la formation d'autres dérivés tels que le NO par exemple, ou encore de pousser plus avant la modélisation du comportement de cet herbicide à travers tous les compartiments de l'environnement.

Références

- [1] Pallett K.E., Little J.P., Veerasekaran P., Viviani F., Inhibition of 4-HPPD : the mode of action of the herbicide RPA 201772 (isoxaflutole), *Pestic. Sci.*, **1997**, *50*, p. 83.
- [2] Viviani E., Little J.P., Pallett K.E., The mode of action of isoxaflutole. II. Characterization of the inhibition of carrot 4-HPPD by the diketonitrile derivative of isoxaflutole, *Pestic. Biochem. Physiol.*, **1998**, *62(2)*, p. 125.
- [3] Logan S., *Fundamentals of chemical kinetics*, Longman Group Ltd, Dunod, Paris, **1996**.
- [4] Beltràn E., Fenet H., Cooper J.F., Coste C.M., Kinetics of chemical degradation of Isoxaflutole : influence of the nature of aqueous buffers (alkanoic acid/sodium salt vs phosphate), *Pest Manag Sci.*, **2001**, *57*, p. 366.
- [5] Beltràn E., Fenet H., Cooper J.F., Coste C.M., Kinetics of abiotic hydrolysis of Isoxaflutole. Influence of pH and temperature in aqueous mineral buffered solutions, *J. Agric. Food Chem.*, **2000**, *48(9)*, p. 4399.
- [6] Mougin C., Boyer F.D., Caminade E., Rama R., Cleavage of the diketonitrile derivative of the herbicide isoxaflutole by extracellular fungal oxidases, *J. Agric. Food Chem.*, **2000**, *48*, p. 4529.
- [7] Pallett K.E., Cramp S.M., Little J.P., Veerasekaran P., Crudace A.J., Slater A.E., Isoxaflutole : the background to its discovery and the basis of its herbicidal properties, *Pest Manag Sci.*, **2001**, *57*, p. 133.
- [8] Beltràn E., Fenet H., Cooper J.F., Coste C.M., Fate of Isoxaflutole in soil under controlled conditions, *J. Agric. Food Chem.*, **2003**, *51*, p. 146.
- [9] Beltràn E., Fenet H., Cooper J.F., Coste C.M. (WR), Influence of the physical and chemical properties of soil on the retention process of Isoxaflutole and its two main derivatives (*sous presse*).



Estelle Beltràn

est consultante en environnement et en écotoxicologie au sein de CEHTRA* (Consultancy for Environmental and Human Toxicology and Risk Assessment).

* CEHTRA, Le Space C, 208-212 route de Grenoble, 06200 Nice.
Tél. : 04 67 66 33 82 ou 04 93 72 00 88.
Fax : 04 93 72 10 90.
E-mail : estelle.beltran@cehtra.fr