

Etude du devenir de l'atrazine dans des sols limono-argileux du Bassin parisien par la combinaison de méthodes isotopiques et pyrolytiques

LUDOVIC LOISEAU¹, YAHYA ZEGOUAGH^{2,3}, GÉRARD BARDOUX², ENRIQUE BARRIUSO¹, SYLVIE DERENNE³,
ANDRÉ MARIOTTI², CLAIRE CHENU⁴ et CLAUDE LARGEAU³

Mots clés. – Atrazine, Micro-polluant organique, Matière organique des sols, Résidus liés, Minéralisation, Fractions granulométriques, Agrégats organo-minéraux, Incubations, Marquage ¹³C et ¹⁴C, Pyrolyse.

Résumé. – Le devenir de l'atrazine, en particulier la formation de résidus liés, a été examiné dans trois sols du Bassin parisien par incubation avec de l'atrazine marquée. Cette étude a montré (i) de grandes différences, fonction du pH du sol et de l'adaptation de la microflore, dans l'intensité de la minéralisation de l'atrazine et dans la distribution de l'atrazine résiduelle entre les résidus liés et les fractions solubles, (ii) une grande affinité des résidus liés de l'atrazine pour la matière organique peu (ou pas) humifiée, pour les acides fulviques et (iii) une plus grande stabilisation de l'atrazine résiduelle par les débris végétaux libres que par les agrégats organo-minéraux. La pyrolyse combinée avec des mesures isotopiques sur composés individuels et avec des analyses CG-SM a été effectuée, pour la première fois dans ce type d'étude. Les observations préliminaires ainsi réalisées montrent qu'une telle analyse combinée constitue un outil performant pour l'examen des résidus liés de micro-polluants organiques.

Study of atrazine fate in silty loamy soils of the Paris Basin via a combination of isotopic and pyrolytic methods

Key words. – Atrazine, Organic micro-pollutant, Soil organic matter, Bound residues, Mineralisation, Size fractions, Organo-mineral aggregates, Incubations, ¹³C and ¹⁴C label, Pyrolysis.

Abstract. –

Introduction

The fate of organic micro-pollutants in soil largely depends on their interactions with soil organic matter (SOM). Indeed, the intensity and nature of such interactions are major factors in the control of micro-pollutant bioavailability, and hence degradation and micro-pollutant mobility in the environment [Khan and Hamilton, 1980 ; Calderbank, 1989 ; Dec *et al.*, 1990, 1997 ; Barriuso and Koshinen, 1996]. Residual micro-pollutants, i.e. the remaining micro-pollutants and their various transformation products (metabolites), occur in soil both in the water phase and associated with the solid phase. A part of these associated molecules, termed bound residues (BRs), cannot be released via extraction with water or organic solvents like methanol. SOM plays a major role in BR formation [e.g. Loiseau *et al.*, 2000] and different types of interaction (like covalent bonds and trapping in organo-mineral aggregates) can be implied [Hsu and Bartha, 1976 ; Schiavon *et al.*, 1977 ; Bollag *et al.*, 1992 ; Dec and Bollag, 1997 ; Steinberg *et al.*, 1987 ; Providenti *et al.*, 1993].

The present study is concerned with the fate of atrazine in three silty loamy soils from the Paris Basin. Atrazine is largely used (ca. 5000 T/year in France) as herbicide for maize cropping and may cause important pollution problems through transfer to water resources.

Experimental

Incubations were performed for 60 days, using ¹⁴C labelled atrazine, with the selected soils. These incubations were carried out with 50 g of soil in closed vessels at room temperature in darkness. The production of ¹⁴C CO₂ was regularly measured so as to determine the rate of atrazine mineralisation in the three incubated soils. These three soils exhibit large differences in pH and atrazine use (tabl. I). Following incubations, radioactivity measurements were performed on the different fractions isolated : aqueous extract, methanol extract, BRs in various size fractions (< 20 µm, 20-50 µm, > 50 µm). In addition, BR distribution was determined in the fulvic and humic acids and humin isolated from the < 20 µm fraction. In a second set of incubation experiments, the distribution of residual atrazine was examined in size fractions of organo-mineral aggregates separated by sieving in water (< 50 µm, 50-200 µm, 200 µm-1 mm, 1-2 mm, > 2 mm) and in free plant debris separated by floating. The GB1 soil was also incubated for 60 days using ¹³C labelled atrazine. Curie point flash pyrolysis combined both with isotopic measurements on individual compounds (Py-GC-C-irMS) and with gas chromatography/mass spectrometry (GC-MS) analyses was used to examine atrazine BRs following the latter incubation.

¹ INRA, Unité Environnement et Grandes Cultures, BP 01, 78850 Thiverval-Grignon, France

² LBI, UMR CNRS/INRA, UPMC, 4 place Jussieu, 75252 Paris cedex 05, France

³ LCBOP, UMR CNRS 7573, ENSCP, 11 rue P. et M. Curie, 75231 Paris cedex 05, France

⁴ INRA, Unité de Sciences du Sol, Route de St Cyr, 78026 Versailles, France

Manuscrit déposé le 26 décembre 2000 ; accepté après révision le 26 novembre 2001.

Results and discussion

Atrazine mineralisation

The extent of atrazine mineralisation during incubation is sharply different for the three soils (fig. 1). The GM1 soil shows an intense mineralisation and ca. 85 % of the applied atrazine is transformed into CO₂. Moreover, this degradation is fast and mostly takes place during the first week. In contrast, much lower levels of mineralisation are observed for the other two soils, especially for VMSA (only ca. 8 % after 60 days). For the GB1 soil, weak mineralisation is noted, during the first week of incubation. However, following this lag phase, substantial mineralisation occurs and a value of ca. 20 % is obtained at the end of the experiment. It was previously observed [Houot *et al.*, 1998] that soil microflora can adapt to atrazine mineralisation following regular inputs of atrazine. Accordingly, the pronounced differences observed in the present study reflect the presence of a microflora adapted to atrazine degradation in the GM1 soil, due to yearly application of atrazine over 25 years whereas such a microflora is absent in the GB1 and VMSA soils, which had never been treated with atrazine before incubation. The substantial difference in mineralisation intensity observed between the latter two soils is probably related to the relatively low pH of the VMSA soil since such a feature is known to limit atrazine mineralisation [Houot *et al.*, 1998 ; Castéraz, 1998].

BRs and distribution of residual atrazine

The distribution of residual atrazine between the different fractions controls its biodisponibility and fate. Water-soluble molecules are considered as directly bioavailable, whereas the degree of availability is much lower for the bound compounds and, to a lesser extent, for the methanol-soluble ones. It appears (fig. 2) that, as expected, the relative abundance of water- and methanol-soluble residual atrazine is inversely correlated to mineralisation intensity. As a result, the contribution of BRs to total residual atrazine is much higher for GM1 (68 %) where soluble residues were strongly affected by mineralisation when compared to GB1 (36 %) and VMSA (51 %). The higher percentage observed for VMSA relative to GB1 suggests that BR formation is favored by a low pH.

BR distribution between the different size fractions (fig. 2) shows that the largest absolute amount of BRs is found for the three soils in the < 20 µm fraction. This fraction is both the most humified and the most abundant (as wt %). However, if BR concentration relative to OM is considered (tabl. II), it appears that the highest concentrations in BRs tend to occur in the fractions which contain non- (or weakly-) humified organic material. Atrazine BRs thus show a higher affinity with the latter material, as also previously observed for various soils [Barriuso *et al.*, 1991 ; Barriuso and Koshinen, 1996 ; Loiseau *et al.*, 2000].

BR distribution between the fulvic and humic acids and humin was examined for the < 20 µm fraction (fig. 3). For the three soils, the largest amount of BRs is associated with humin, especially in the case of GB1 and GM1. Substantial amounts of BRs are also found with the fulvic acid fractions. Moreover, when BR concentration is considered (tabl. III), a higher affinity is noted for fulvic acids. The latter features should have important environmental consequences since fulvic acids are rather readily transferred from soil to surface and ground water. The high affinity of atrazine BRs for fulvic acids is probably related to interactions with the polar groups that abundantly occur in the latter fraction [Khan and Hamilton, 1980 ; Bertin and Schiavon, 1989 ; Capriel and Haisch, 1983 ; Capriel *et al.*, 1985].

Comparison of the three soils therefore shows pronounced differences in mineralisation levels, related to microflora adaptation and pH. Large differences are also observed in the distribution of residual atrazine between the BRs and the soluble fractions. In contrast, the three soils exhibit similar features for BR distribution (absolute amounts and concentrations) between the three size fractions and also between the fulvic acids, humic acids and humin of the < 20 µm fraction. Concentration values show higher affinity of atrazine BRs for weakly humified OM and for fulvic acids.

Atrazine distribution in organo-mineral aggregates and fresh debris of plants

This study was performed on the GM1 and VMSA soils. Measurements were performed (i) at time zero (just one hour after the addition of ¹⁴C atrazine to soils) i.e. when no significant atrazine mineralisation and transformation had occurred and (ii) at the end of the experiment after 60 days of incubations.

Distribution at time 0 is similar for the two soils (fig. 4a) and the bulk of the atrazine is mostly associated with the 0.2-1 mm fraction followed by the 1-2 mm fraction. When content is considered (fig. 4b), the highest value is observed, by far, for the free plant debris. Such a feature reflects, as observed in previous studies [Barriuso *et al.*, 1994 ; Puget *et al.*, 2000], the high affinity of atrazine for fresh or weakly humified material. These results are therefore consistent with the preferential association of atrazine and of its metabolites with weakly humified OM observed in the BRs in the first set of incubations.

After 60 days, the amount of residual atrazine observed in a given fraction shall both reflect the extent of mineralisation in this fraction and possible transfer from other fractions. As already stressed, only weak mineralisation occurs in the VMSA soil and similar atrazine distributions are noted for both soils at time 0. Thus, the results obtained after incubation shall mostly reflect the transfer processes for the VMSA soil and a combination of such processes and of biodegradation for GM1. Accordingly, the relative changes observed, between the two soils, for label concentration in the different fractions (fig. 4c) reflect the relative efficiency of the stabilisation of residual atrazine. Large (ca. 90 %) and similar decreases are observed for all the fractions of organo-mineral aggregates whereas only a limited decrease of ca. 15 % occurs for the free debris. Therefore residual atrazine stabilisation is more important in the latter fraction than in the organo-mineral aggregates and no preferential stabilisation takes place in some size fractions of these aggregates.

Pyrolytic studies of atrazine BRs

Various types of interactions between bound residual atrazine and SOM, ranging from relatively weak linkages like hydrogen bonds to much stronger linkages like covalent bonds, can occur in soil. The nature of such interactions should have major consequences for the stabilisation and fate of residual atrazine. Information on this nature could be derived from successive pyrolyses at increasing temperatures, as recently shown for pyrene retention in sediments [Guthrie *et al.*, 1999] and 2-aminobenzothiazole interactions with humic acids [Schulze *et al.*, 1997]. This type of pyrolytic study, combined with GC/MS identifications, should thus be useful to decipher (i) the structure of the different metabolites in bound residual atrazine, (ii) their relative abundance and (iii) their modes of linkage with SOM. However, this is made

difficult by the extremely high dilution of bound residual atrazine both by soil minerals and SOM and it seems that no such study has been reported so far. The above drawbacks could be overcome via incubation with labelled atrazine followed by elimination of the bulk of soil minerals.

To test the suitability of this approach, the GB1 soil was incubated for 60 days with ^{13}C atrazine. After incubation, soluble compounds were eliminated by water and methanol extractions and minerals via a mild treatment with 2 % HF which should not largely affect organic components in soil [Skjemstad *et al.*, 1994]. Atrazine BRs were then examined by pyrolysis combined both with GC-C-irMS and GC-MS. The pyrolysis products derived from bound residual atrazine can be located by isotopic analysis owing to their very high enrichment in ^{13}C (in the 100-1 000 ‰ range) (fig. 5a). As expected, when the GC-MS trace is considered (fig. 5b), the latter products are overwhelmed by the pyrolysis products from the natural OM of the soil. However, they can be identified and analysed owing to the above isotopic localisation and to the presence of typical fragments of the triazine ring (such as m/z 68) in their mass spectra. The retention times and mass spectra of the five compounds derived from bound residual atrazine thus identified indicate that they do not correspond either to atrazine itself or to the metabolites, like hydroxy- and dealkyl-atrazines, classically observed in the soluble phase. Residual atrazine occurring as BRs and as soluble components in the incubated soil thus appears to exhibit different chemical composition. These preliminary results confirm the suitability and interest of such a combined pyrolytic approach, applied for the first time to the best of our knowledge, for the study of BRs of micro-pollutants.

INTRODUCTION

La matière organique (MO) subit dans le sol des dégradations diagenétiques intenses connues sous le nom de processus d'humification. La MO fraîche, essentiellement des débris végétaux, est ainsi progressivement transformée en des débris de plus en plus fins et de degré d'humification croissant. La MO ne représente, en général, qu'une faible fraction du sol total, de l'ordre au plus de quelques % en masse. Néanmoins, les matières organiques des sols (MOS) jouent un rôle majeur dans la fertilité et la stabilité du sol et dans le cycle global du carbone. Elles ont aussi un rôle déterminant dans le devenir des micro-polluants et leur impact sur les autres compartiments de l'environnement. En effet, les interactions plus ou moins grandes des micro-polluants avec les MOS vont conditionner en grande partie (i) leur biodisponibilité et, donc, l'efficacité de leur destruction par minéralisation par les micro-organismes et (ii) leur degré de mobilité.

Le terme micro-polluant résiduel sera utilisé ici pour désigner globalement le micro-polluant lui-même et l'ensemble de ses produits de transformation partielle (métabolites). Ces résidus se trouvent dans le sol sous forme soluble dans l'eau et sous forme d'association avec la phase solide du sol. Suivant la force plus ou moins grande de cette association, le micro-polluant résiduel sera désorbable par extraction, ou non-extractible. Dans ce dernier cas on parle de « résidus liés ». Les MOS ont un rôle majeur dans la formation des résidus liés non-extractibles [e.g. Loiseau *et al.*, 2000]; elles peuvent intervenir par toute une gamme de processus allant de la formation de liaisons covalentes avec les résidus [Hsu et Bartha, 1976; Bollag *et al.*, 1992; Dec et Bollag, 1997] à leur piégeage physique dans les substances humiques [Schiavon *et al.*, 1977; Dec et Bollag, 1997]. De plus les résidus liés pourraient correspondre pour partie à des molécules piégées dans des agrégats organo-minéraux du sol [Steinberg *et al.*, 1987; Providenti *et al.*, 1993]. La formation de résidus liés entraîne une forte diminution de la biodisponibilité [Calderbank, 1989] et de la mobilité du polluant [Dec *et al.*, 1990, 1997; Barriuso et Koshinen, 1996]. Cette stabilisation sous forme de résidus liés peut donc être considérée comme une voie de détoxification. Cependant, (i) la limitation de la biodégradation conduit à la persistance du micro-polluant résiduel dans le sol [Khan et

Hamilton, 1980], (ii) on ignore le degré de réversibilité de ce stockage à long terme et (iii) une libération est possible suite à des modifications de la structure physique du sol par changement des techniques de culture et d'utilisation du sol.

Ce travail porte sur l'atrazine résiduelle dans des sols limoneux de grande culture. Cet herbicide (6-chloro- N^2 -ethyl- N^4 -isopropyl-1,3,5-triazine-2,4-diamine) est utilisé de façon massive (ca. 5000T/an en France), surtout pour la culture de maïs, et des problèmes de pollution importants peuvent résulter de son transfert vers les ressources en eau. Les principaux objectifs étaient de mieux connaître les différents compartiments impliqués dans le devenir de l'atrazine dans différents sols, en particulier dans la formation des résidus liés. Ces derniers représentent souvent une part importante, ca. 50 %, de la quantité totale d'atrazine appliquée [Khan, 1982; Capriel *et al.*, 1985]. Des incubations ont été effectuées avec de l'atrazine marquée au carbone 14 ou au carbone 13. Nous avons ensuite examiné (i) la distribution de l'atrazine résiduelle entre les fractions extractibles et les résidus liés, (ii) la distribution de ces derniers entre diverses fractions granulométriques, ainsi qu'entre les acides fulviques, les acides humiques et l'humine de la fraction < 20 μm , (iii) la distribution de l'atrazine résiduelle entre diverses fractions d'agrégats de taille et stabilité différente. Une étude préliminaire a été également menée sur la mise au point de l'étude du type de liaison intervenant dans la formation des résidus liés d'atrazine. Pour cela nous avons mis parallèlement en oeuvre, pour la première fois dans une telle étude, la pyrolyse au point de Curie couplée à des analyses isotopiques de composés individuels (Py-CG-C-SMri) et à des analyses par chromatographie gazeuse/spectrométrie de masse (Py-CG-SM).

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Sols

Les trois sols utilisés ont des teneurs en MO voisines et une texture limono-argileuse classiquement rencontrée dans les sols du Bassin parisien. Leurs principales caractéristiques sont rassemblées dans le tableau I. Ils se différencient par

TABLE I. – Principales caractéristiques globales des trois sols.
TABLE I. – *Main bulk features of the three soils.*

Nom	Localisation	Culture et Historique	Argile	Limon	Sabre	C orga	PH eau
				(g/kg)			
GMI	Grignon	Monoculture de maïs Atrazine annuelle (1973)	272	587	125	17.1 ± 0.1	8.1
GB	Grignon	Monoculture de blé sans Atrazine (1973)	269	590	124	19.9 ± 1.8	8.0
VMSA	Versailles	Monoculture de maïs sans Atrazine (1993)	168	527	304	12.3 ± 0.4	6.4

leur historique d'application d'atrazine et par leur pH. Le sol de Grignon (GM1) est sous monoculture de maïs depuis 1973 avec apport annuel d'atrazine ; le sol de Grignon (GB1) est sous monoculture de blé depuis 1973 sans apport d'atrazine et le sol de Versailles (VMSA) est sous monoculture de maïs depuis 1993 sans apport d'atrazine. Ces deux derniers sols n'ont jamais été traités avec de l'atrazine.

Mesure du carbone organique total

Le carbone total des échantillons (CT) a été mesuré par combustion à 900 °C sous oxygène (Analyseur de carbone organique total – 5050A couplé à un module solide SSM – 5 000A, Shimadzu). Le CO₂ produit est mesuré par un détecteur infra-rouge. La détermination du carbone inorganique (CI) a été effectuée avec le même appareil mais les échantillons sont préalablement acidifiés avec 0.5 ml de H₃PO₄ 25 % puis brûlés à 200 °C. Le carbone organique total (COT) résulte de la différence entre CT et CI.

Incubations avec de l'atrazine marquée au ¹⁴C

Elles ont été réalisées avec de l'atrazine Sigma (activité spécifique de 0.78 GBq/mmol) marquée au carbone 14 (> 99 %) sur le noyau triazinique. Les dosages de radioactivité ont été faits par scintillation en milieu liquide (compteur Kontron Instruments BETAMATIC V). Pour les échantillons liquides, les mesures ont été faites directement sur des aliquotes de 1 ml. Pour les échantillons solides, les dosages ont été faits sur des aliquotes de 150 mg par mesure du ¹⁴C-CO₂ obtenu par combustion à 800 °C sous courant d'oxygène (Sample Oxidizer 307, Packard) et piégeage du ¹⁴C-CO₂ par une base organique (Carlo-sorb E Packard).

Etude des résidus liés

Une solution aqueuse d'atrazine ¹⁴C (1.8 ml, concentration de 27.4 mg/l, 62.7 kBq ml⁻¹) est ajoutée à 50 g de sol équivalent sec tamisé à 2 mm, de façon à obtenir une teneur en atrazine représentative de la dose agronomique (de l'ordre de 1 mg.kg⁻¹). L'humidité du sol est ajustée à 100 % de la capacité de rétention et les incubations sont effectuées dans des récipients fermés à l'obscurité, 60 jours à 28 °C. Le ¹⁴C CO₂ venant de la minéralisation de l'atrazine par la flore microbienne du sol est récupéré dans un piège contenant 2 ml d'une solution aqueuse de NaOH 2N qui est changé régulièrement au cours de l'incubation. Pour chaque sol, 3 répétitions sont faites en parallèle. Après incubation on extrait les résidus hydrosolubles puis ensuite les résidus solubles dans le méthanol. Ces deux traitements sont faits par extractions successives sous agitation pendant 24h à 20 °C, comme décrit par Barriuso *et al.* [1992]. Ces extractions sont répétées jusqu'à ce que la quantité de matériel radioac-

tif relâchée soit négligeable (soit 5 fois pour l'eau et pour le MeOH). Après ces deux phases d'extraction, le matériel solide est dispersé dans l'eau et tamisé sous eau à 50 et 20 µm. Le marquage est ensuite mesuré dans les fractions ainsi obtenues pour chaque expérience : extrait aqueux, extrait méthanol, résidu lié < 20 µm, résidu lié 20-50 µm, résidu lié > 50 µm. Afin de déterminer la distribution des résidus liés dans les différentes fractions chimiques de la fraction < 20 µm, une séparation des acides fulviques (AF), humiques (AH), et de l'humine a été réalisée par extraction alcaline : 5 g de fraction 20 µm ont été additionnés de 15 ml d'une solution NaOH / Na₄P₂O₇ 0.1 M et agités par retournement pendant 1 h. Après centrifugation, le surnageant contenant les AF et AH a été récupéré, et le culot a été de nouveau extrait par un volume de NaOH / Na₄P₂O₇ 0.1 M équivalent au surnageant enlevé. Le deuxième surnageant récupéré après centrifugation a été additionné au premier obtenu. Les AH contenus dans les deux extraits cumulés ont été précipité à pH = 1.5 (par ajout de HCl 2N) pendant 1h à 4 °C et séparés des AF en solution par centrifugation. Les AH précipités ont ensuite été solubilisé dans 15 ml de NaOH 0.1 M.

Distribution de l'atrazine dans les agrégats du sol

Des échantillons correspondant, soit au début (temps 0, 1 heure après l'apport) soit à la fin de l'incubation (2 mois), ont été séchés fractionnés en agrégats de taille et stabilité différentes selon Puget *et al.* [1999]. Pour cela, des aliquotes de 10 g de sol sec ont été immergés dans de l'eau pendant 10 mn, les débris végétaux libres ont été récupérés par flottation et aspiration avec un trompe à vide, et 5 classes granulométriques comprenant des agrégats et particules, ont été séparées par tamisage dans l'eau. Les agrégats stables se retrouvent dans les classes granulométriques les plus grossières. Les masses des fractions ont été pesées, le ¹⁴C présent dans les fractions a été mesuré par scintillation liquide après combustion à l'oxydizer, et le ¹⁴C présent dans les eaux de lavage (fraction soluble) par scintillation liquide.

Incubations avec de l'atrazine marquée au ¹³C

Des incubations ont été réalisées avec de l'atrazine marquée au ¹³C sur le noyau triazinique (99 % d'enrichissement en ¹³C, Isotopchim) à une concentration de 20 mg kg⁻¹. Les conditions d'incubation et le traitement après incubation, par extractions successives à l'eau et au méthanol, sont les mêmes que pour l'étude des résidus liés dans les échantillons ¹⁴C. La plus grande partie des constituants de la matrice minérale sont ensuite éliminés, en utilisant le traitement par l'acide fluorhydrique 2 % décrit par Skjemstad *et al.* [1994], avant d'effectuer les études pyrolytiques. Les pyro-

lyses ont été effectuées avec un pyrolyseur flash au point de Curie, Fisher 0316 (échantillon pyrolysé pendant 10 secondes sur un filament ferro-magnétique avec une température de Curie de 610 °C), couplé à un chromatographe en phase gazeuse HP 5890. Pour les analyses isotopiques par Py-CG-C-SMri, le chromatographe est couplé à un four à combustion CuO (850 °C), un piège à eau cryogénique et un spectromètre de masse à rapport isotopique, Micromass Isochrom III. Pour les analyses moléculaires par Py-CG-SM, le chromatographe est couplé à un spectromètre de masse HP 5989 opérant à 70 eV et 0,7 scans.s⁻¹, sur une échelle de masse m/z de 40 à 600.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Etude des résidus « liés »

Ces expériences étaient axées sur la distribution de l'atrazine et de ses métabolites, après 60 jours d'incubation, en fonction de la solubilité. Des extractions ont été effectuées sur les trois sols, afin d'obtenir successivement la fraction hydrosoluble, la fraction méthanol-soluble et les résidus liés. De plus, le matériel insoluble a été soumis à une séparation granulométrique de façon à déterminer la répartition des résidus liés entre la fraction « fine » (< 20 µm), la fraction 20-50 µm et la fraction « grossière » (> 50 µm), suivi d'un fractionnement chimique sur la fraction < 20 µm.

Minéralisation de l'atrazine

Les taux de minéralisation (en % de l'atrazine appliquée), observés à différents temps d'incubation, montrent des comportements nettement différents pour les trois sols (fig. 1). On note une minéralisation intense, atteignant environ 85 % après 60 jours pour le sol GM1. Cette minéralisation est rapide et s'effectue essentiellement durant la première semaine. Au contraire, la minéralisation est beaucoup moins intense pour GB1 et surtout pour VMSA, res-

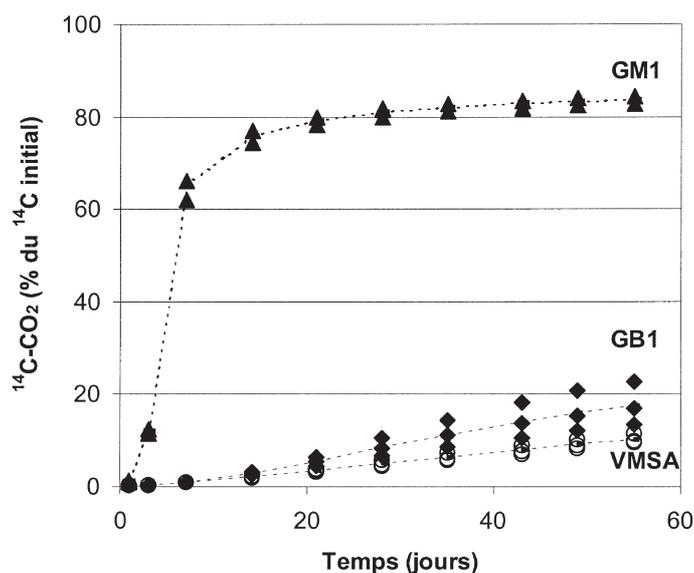


FIG. 1. – Cinétique de minéralisation de l'atrazine ¹⁴C durant l'incubation des trois sols.

FIG. 1. – Kinetics of atrazine mineralisation during the incubation of the three soils.

pectivement de l'ordre de 20 et 8 % en fin d'incubation. Cette situation contrastée entre GM1, d'une part, et GB1 et VMSA, d'autre part, reflète le fait que le premier a été soumis depuis plus de 25 ans à des applications annuelles d'atrazine, alors que les deux autres sols n'ont jamais connu de telles applications. Il a été montré que les applications répétées d'atrazine conduisent à une adaptation de la microflore du sol [Houot *et al.*, 1998]. Une microflore spécifiquement adaptée à la minéralisation de l'atrazine est donc présente, dès le début de l'incubation, dans GM1 ce qui n'est pas le cas pour les deux autres sols. Néanmoins, il existe des différences notables entre ces deux derniers. La minéralisation est très faible pendant la première semaine pour GB1. Mais, après cette période de latence, on note une minéralisation relativement rapide durant toute la durée de l'expérience. Ce sol, n'ayant jamais été traité à l'atrazine, ne possède pas une microflore adaptée. Dans ces conditions, l'atrazine est dégradée, en tant que co-substrat, par des micro-organismes qui utilisent des constituants de la MO du sol comme source principale de carbone. Ce type de comportement a été précédemment observé pour d'autres sols, comparables à GB1 par leur nature et leur histoire culturale [Barriuso et Houot, 1996]. Enfin, pour le sol VMSA, la minéralisation reste faible durant toute l'incubation. Comme dans le cas précédent, aucune microflore adaptée n'existe. De plus, le pH plus faible de VMSA va à l'encontre du développement d'une microflore spécifique adaptée à la minéralisation du noyau triazinique de l'atrazine, comme observé dans des études récentes [Houot *et al.*, 1998 ; Castéraz, 1998].

Distribution de l'atrazine résiduelle

Après 60 jours d'incubation, la distribution de l'atrazine résiduelle (en % de l'atrazine appliquée) a été déterminée entre les fractions suivantes : hydrosoluble, méthanol-soluble, insoluble « fine » (< 20 µm), insoluble 20-50 µm et insoluble « grossière » (> 50 µm). Une telle distribution va contrôler la plus ou moins grande biodisponibilité de l'atrazine résiduelle et donc son devenir dans le sol. En effet, il est considéré que les composés hydrosolubles sont directement disponibles pour les dégradations bactériennes. Par contre, la disponibilité diminue pour les composés extractibles uniquement au méthanol et encore plus pour les résidus liés qui ne sont extraits ni par l'eau ni par le méthanol.

On constate (fig. 2) que la proportion d'atrazine résiduelle hydrosoluble augmente fortement en passant de GM1 à GB1 et VMSA. Cette augmentation est particulièrement marquée entre les deux premiers sols. Comme attendu, il existe donc une relation inverse entre l'intensité de la minéralisation et l'abondance de résidus hydrosolubles. Ainsi dans le sol GM1, qui connaît une minéralisation intense, la plus grande partie de l'atrazine résiduelle soluble dans l'eau, donc facilement disponible, a été minéralisée. Une situation similaire est observée pour les résidus solubles dans le méthanol : ils sont peu abondants dans GM1 mais représentent à une quantité substantielle de l'atrazine appliquée (de l'ordre de 20 %) pour les deux sols sans microflore adaptée. En relation avec les observations ci-dessus, il apparaît que la contribution de l'ensemble des résidus liés dans les résidus totaux, i.e. liés/(hydrosolubles + méthanol-soluble + liés), est nettement plus forte dans le cas du sol GM1 où une intense minéralisation a fortement

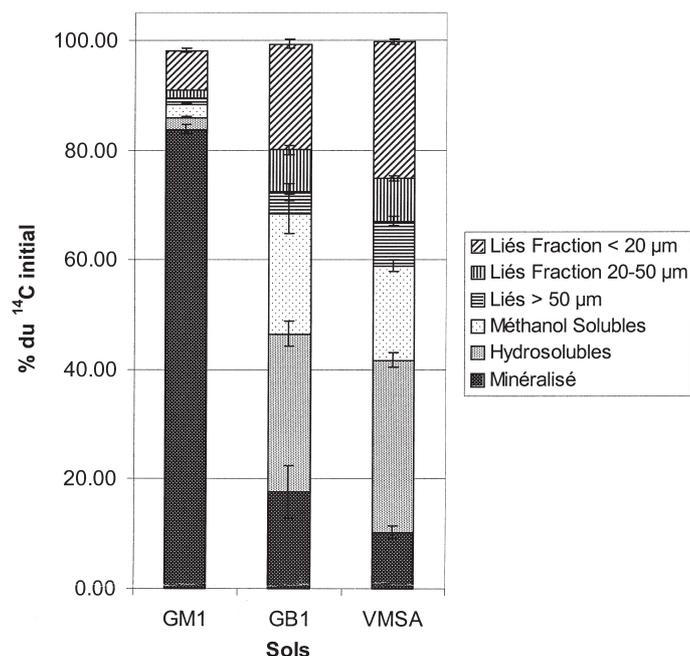


FIG. 2. – Distribution du marquage ^{14}C pour les trois sols (en % du marquage appliqué) après incubation, extractions et fractionnement physique.
 FIG. 2. – Distribution of ^{14}C label for the three soils (as % of applied label) after incubation, extractions and size fractionation.

affecté les composés solubles (rapport de 0.68 contre 0.36 et 0.51 pour GB1 et VMSA). Par ailleurs, la proportion de résidus liés est relativement plus importante dans VMSA que dans GB1, il semble donc que la formation de tels résidus soit favorisée par un pH faible.

La distribution des résidus liés entre les différentes fractions granulométriques (fig. 2) montre que la plus grande partie se retrouve toujours dans la fraction fine (< 20 μm) c'est-à-dire la fraction fortement humifiée qui est aussi la plus importante en masse (tabl. II). Si on considère non plus les quantités absolues mais la concentration par rapport à la MO de chaque fraction (tabl. II), on observe des valeurs similaires dans les trois fractions pour le sol fortement minéralisateur GM1. Par contre, il apparaît que les plus fortes concentrations en résidus liés se trouvent dans les fractions « grossière » (> 50 μm) et 20-50 μm , c'est-à-dire celles contenant la MO peu (ou pas) humifiée, pour le sol VMSA et dans une moindre mesure pour le sol GB1. De telles caractéristiques ont déjà été observées pour divers sols [Barriuso *et al.*, 1991 ; Barriuso et Koshinen, 1996 ; Loiseau *et al.*, 2000]. D'une façon générale, il apparaît donc que la plus grande masse de résidus d'atrazine

liée est associée avec la fraction granulométrique la plus fine, donc la plus humifiée. Mais ceci doit surtout refléter le fait que la plus grande partie des MOS est localisée dans cette fraction. En fait, si on raisonne en terme de concentration on constate que les résidus liés tendent à avoir une plus grande affinité pour s'associer avec la matière organique peu (ou pas) humifiée.

La distribution des résidus liés entre les acides fulviques, les acides humiques et l'humine, en pourcentage des résidus liés totaux, a été examinée pour la fraction fine (fig. 3). Pour les trois sols, la plus grande partie de ces résidus se retrouve dans l'humine, cette préférence étant particulièrement marquée pour GM1 et GB1. Des pourcentages assez importants sont observés dans les acides fulviques, surtout pour le sol VMSA. Les acides fulviques étant assez facilement transférés vers les autres compartiments de l'environnement, comme les eaux de surface et souterraines, cette relative richesse en résidus liés pourrait avoir des conséquences importantes. La plus faible proportion des résidus liés pour les trois sols se rencontre toujours dans les acides humiques. La localisation de la plus grande partie des résidus liés dans l'humine et, dans une moindre mesure, dans les acides fulviques a été observée pour divers pesticides dont l'atrazine et pour divers sols [Khan et Hamilton, 1980 ; Bertin et Schiavon, 1989 ; Capriel et Haisch, 1983 ; Capriel *et al.*, 1985 ; Barriuso *et al.*, 1991 ; Loiseau *et al.*, 2000]. Ceci est généralement interprété comme reflétant l'incorporation des résidus liés (i) dans l'humine via les réactions de polycondensations qui jouent un rôle majeur dans les processus d'humification et (ii) dans les acides ful-

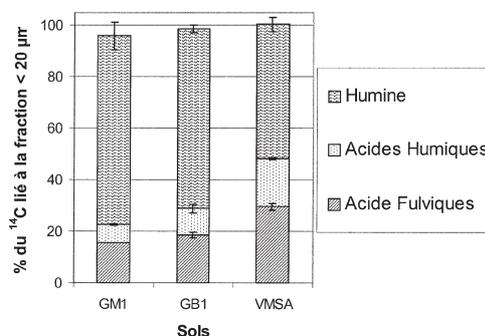


FIG. 3. – Distribution du marquage ^{14}C des résidus liés de la fraction < 20 μm entre les acides fulviques, les acides humiques et l'humine (en % du marquage dans les résidus liés totaux de la fraction).
 FIG. 3. – Distribution of the ^{14}C label of the bound residues of the < 20 μm fraction between fulvic acids, humic acids and humin (as % of label in the total bound residues of the fraction).

TABLE II. – Bilan massique et distribution du carbone dans les fractions granulométriques obtenues.
 TABLE II. – Mass balance and carbon distribution between the separated size fractions.

	F > 50 μm	F 20-50 μm (% massique)	F < 20 μm	F > 50 μm	F 20-50 μm (% carbone total)	F < 20 μm
				et ($\mu\text{g } ^{14}\text{C}$ -équivalent atrazine g Carbone fraction ⁻¹)		
GM1	15.7 \pm 0.8 \ddagger	32.9 \pm 0.4 \ddagger	51.7 \pm 0.3 \ddagger	34.0 \pm 11.0 \ddagger (5.4 \pm 0.4)	13.2 \pm 0.9 \ddagger (6.7 \pm 0.5)	60.9 \pm 1.5 \ddagger (7.1 \pm 0.4)
GB1	15.4 \pm 0.6 \ddagger	33.9 \pm 0.6 \ddagger	50.9 \pm 0.9 \ddagger	32.7 \pm 2.2 \ddagger (18.6 \pm 4.5)	14.5 \pm 1.4 \ddagger (27.3 \pm 0.6)	55.5 \pm 0.7 \ddagger (18.1 \pm 0.7)
VMSA	31.5 \pm 0.6 \ddagger	31.2 \pm 0.6 \ddagger	37.2 \pm 0.4 \ddagger	12.6 \pm 0.7 \ddagger (57.4 \pm 6.9)	11.2 \pm 0.9 \ddagger (58.2 \pm 2.7)	77.0 \pm 1.4 \ddagger (27.1 \pm 0.9)

\ddagger : écart type ; standard deviation

viques grâce aux interactions avec les groupes polaires présents en abondance dans ces derniers. Par ailleurs, si on considère la concentration en résidus liés dans les AF, les AH, et l'humine (tabl. III), on constate une affinité plus importantes des résidus liés pour les acides fulviques.

La comparaison entre les trois sols montre donc des différences marquées dans les taux de minéralisation et la distribution de l'atrazine résiduelle entre les fractions hydrosolubles, méthanol-solubles et liées. Par contre, les trois sols montrent des caractéristiques similaires concernant la distribution des résidus liés, en masse et en teneur, entre les trois fractions granulométriques, ainsi qu'entre les acides fulviques, les acides humiques et l'humine de la fraction fine. Toutes ces caractéristiques sont susceptibles d'avoir des conséquences importantes sur le devenir de l'atrazine résiduelle dans le sol, son caractère polluant et son transfert vers les autres compartiments de l'environnement.

Distribution de l'atrazine dans les différentes classes d'agrégats

Dans ces expériences la quantité totale de ¹⁴C présente dans le sol et dans les fractions séparées a été dosée. Au temps 0, il s'agit exclusivement d'atrazine et au temps 60 jours d'atrazine résiduelle. Aucune extraction extensive n'a été réalisée dans le cas présent, nous n'avons donc pas quantifié les résidus liés et les composés solubles en phase

aqueuse obtenus correspondent aux produits facilement extractibles dissous au cours des opérations de tamisage.

Les deux sols limoneux étudiés ont une faible stabilité structurale et leur distribution granulométrique est centrée sur les agrégats 0,2-1 mm. Cette distribution est peu affectée par les incubations. Au temps 0, l'atrazine facilement solubilisable représente, pour les deux sols, de l'ordre de 50 % de l'atrazine appliquée. Le reste de l'atrazine se répartit, de façon inégale, entre les différentes fractions granulométriques (fig. 4a). Dans les deux cas, la plus grande partie se retrouve dans la fraction 0,2-1 mm, suivie de la fraction 1-2 mm. Ces distributions reflètent des concentrations très hétérogènes selon les fractions (fig. 4b) : la concentration en atrazine est maximale dans les débris végétaux libres. Par ailleurs, la concentration en atrazine tend à augmenter avec la taille des agrégats organo-minéraux, surtout dans le cas du sol GM1 (fig. 4b). Ces différences de concentration doivent donc refléter (i) la forte capacité de rétention de l'atrazine par les débris végétaux non ou peu humifiés [Barriuso *et al.*, 1994] et (ii) le fait que l'abondance de tels débris dans les agrégats tend à augmenter avec la taille de ces derniers [Puget *et al.*, 2000]. On retrouve donc, ici, l'association préférentielle avec la MO jeune (peu ou pas humifiée) déjà observée, pour l'atrazine et ses métabolites, au niveau des résidus liés.

Après 60 jours d'incubation, les distributions de ¹⁴C observées selon les classes d'agrégats dépendent à la fois

TABL. III. – Distribution du carbone et concentration en résidus liés dans les acides fulviques (AF), les acides hhumiques (AH) et l'humine.

TABLE III. – Carbon distribution and bound residue concentration in fulvic acids (FA), humic acids (HA) and humin.

	AF	AH	Humine	AF	AH	Humine
	(% carbone de la fraction < 20 µm)			(µg ¹⁴ C-équivalent atrazine g Carbone fraction ⁻¹)		
GM1	10.4 ± 0.6‡	12.8 ± 2.3‡	78.1 ± 5.4‡	10.5	3.8	6.1
GB1	11.9 ± 1.9‡	16.8 ± 1.3‡	76.8 ± 3.2‡	28.3	11.1	16.5
VMSA	21.9 ± 3.2‡	22.6 ± 3.9‡	63.3 ± 1.8‡	36.5	22.4	22.3

‡ : écart type ; standard deviation.

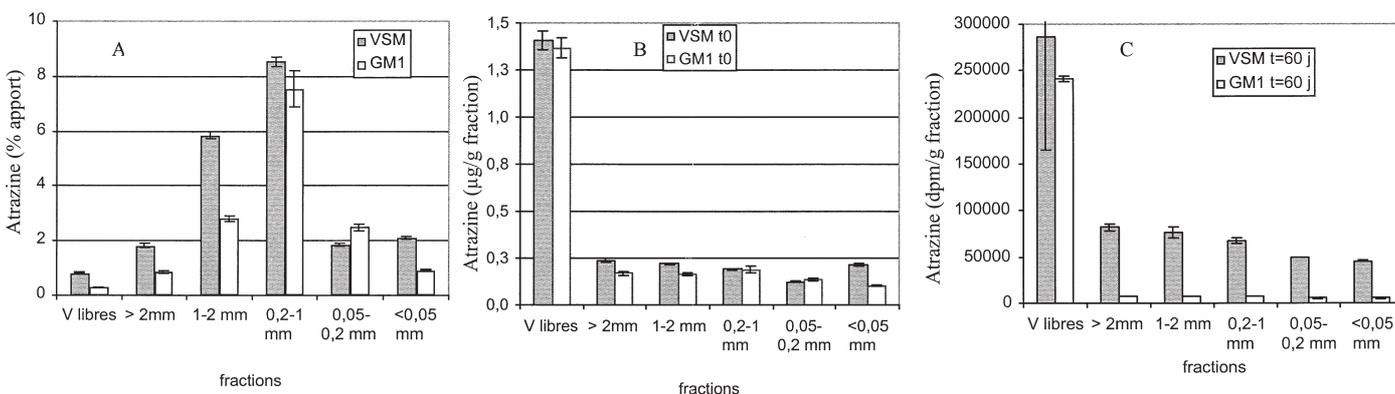


FIG. 4. – (a) Distribution de l'atrazine ¹⁴C (en % du marquage appliqué) entre les débris végétaux libres et les fractions granulométriques d'agrégats pour les sols GM1 et VMSA au temps 0 ; (b) Teneur en atrazine ¹⁴C dans les débris végétaux libres et dans les fractions granulométriques d'agrégats pour les sols GM1 et VMSA au temps 0 ; (c) Comparaison de la concentration en atrazine résiduelle ¹⁴C dans les débris végétaux libres et dans les fractions granulométriques d'agrégats pour les sols GM1 et VMSA après incubation.

FIG. 4. – (a) ¹⁴C Atrazine distribution (as % of applied label) between free plant debris and size fractions of organo-mineral aggregates for the GM1 and VMSA soils at time 0 ; (b) ¹⁴C atrazine content in free plant debris and in size fractions of organo-mineral aggregates for the GM1 and VMSA soils at time 0 ; (c) Comparaison of the concentration of residual ¹⁴C atrazine in free plant debris and in size fractions of organo-mineral aggregates for the GM1 and VMSA soils after incubation.

(i) de la fixation d'atrazine résiduelle aux fractions granulométriques à partir de la fraction soluble identifiée au temps 0 et (ii) de la minéralisation au sein de ces fractions. Comme la minéralisation est limitée dans le sol VM5A et que les distributions de l'atrazine aux temps 0 sont proches entre les deux sols, on peut considérer que les deux échantillons après 60 jours décrivent les distributions de ^{14}C résultant (i) de processus d'adsorption seuls dans le sol VM5A et (ii) d'adsorption et biodégradation dans le sol GM1. La figure 4c montre que la diminution relative de la radioactivité entre les deux sols est du même ordre dans toutes les fractions d'agrégats (environ 90 %), alors qu'elle n'est que de 15 % dans la fraction débris végétaux libres. Il y aurait donc une stabilisation beaucoup plus importante de l'atrazine résiduelle dans cette fraction que dans les fractions d'agrégats. Par contre, on ne met pas en évidence de stabilisation préférentielle du carbone de l'atrazine résiduelle dans certaines fractions agrégées du sol au cours d'une incubation de deux mois.

Etude du mode de liaison des résidus liés de l'atrazine

Plusieurs types de liaisons sont envisageables entre l'atrazine résiduelle liée et la MO du sol, allant de liaisons relativement faibles comme les liaisons hydrogène et les interactions électrostatiques à des liaisons covalentes beaucoup plus fortes. Ceci doit avoir des conséquences majeures sur la stabilisation et le devenir de l'atrazine résiduelle dans le sol. Par exemple, les liaisons faibles peuvent être coupées suite à des changements des caractéristiques physico-chimiques du sol, tel le pH, conduisant ainsi à un relargage massif du micro-polluant résiduel. Il est donc important de connaître la nature de ces liaisons. Pour cela on peut envisager d'utiliser des pyrolyses successives à température croissante, la température de libération étant contrôlée par l'énergie des liaisons mises en jeu. Ainsi, la PY-CG-SM a été récemment utilisée pour l'étude de la rétention du pyrène dans des sédiments [Guthrie *et al.*, 1999] et pour l'étude des interactions du 2-aminobenzothiazole avec des acides humiques [Schulze *et al.*, 1997]. Par ailleurs, l'identification de l'atrazine et de ses métabolites est favorisée par la présence d'un noyau hétérocyclique triazinique qui est absent dans les composés naturels des MOS. Des études pyrolytiques, couplées avec des identifications par spectrométrie de masse, pourraient ainsi permettre de déterminer (i) la structure chimique des différents métabolites qui constituent l'atrazine résiduelle liée, (ii) leur abondance et (iii) la nature des liaisons par lesquelles ils sont associés avec la MO du sol. Cependant, à notre connaissance, aucune étude de ce type n'a été précédemment publiée. En fait, de telles études sont rendues difficiles par la très grande dilution de l'atrazine résiduelle liée à la fois par les constituants de la MO du sol et de la matrice minérale. En effet, même pour des expériences avec une dose d'atrazine appliquée de 20 mg.kg^{-1} , c'est-à-dire environ 20 fois la dose agronomique, et une teneur du sol en MO relativement faible de 2 %, l'atrazine et ses dérivés se trouvent en concentration 10^3 fois plus faible que cette MO. De plus, ce calcul ne tient pas compte de (i) la minéralisation de l'atrazine qui peut être de l'ordre de 90 % dans certains sols comme illustré ci-dessus et (ii) la présence d'une partie, pouvant être importante (fig. 2), de l'atrazine résiduelle sous forme soluble. Les produits de pyrolyse provenant de l'atrazine résiduelle liée risquent donc d'être complètement

masqués par ceux provenant de la MO du sol. Par ailleurs, il est bien connu à partir d'études sur les roches sédimentaires [Espitalié *et al.*, 1980 ; Katz, 1983], que la présence d'une abondante matrice minérale va entraîner des phénomènes de rétention intenses et ainsi altérer fortement les données de pyrolyse. Pour pallier à ces deux difficultés, nous avons (i) réalisé les incubations avec de l'atrazine marquée au carbone 13 et (ii) éliminé la plus grande partie de la matrice minérale avant pyrolyse.

Une étude préliminaire de mise au point a été effectuée en examinant les résidus liés d'atrazine du sol GB1 après une incubation de 60 jours avec de l'atrazine ^{13}C . Pour cela, nous avons éliminé les composés solubles de la MO, puis la plus grande partie de la matrice minérale par un traitement avec de l'acide fluorhydrique 2 %, considéré comme éliminant efficacement les minéraux tout en n'affectant pas de façon significative la composition des MOS [Skjemstad *et al.*, 1994]. Les résidus liés d'atrazine ont été ensuite examinés par pyrolyse flash au point de Curie à 610°C associée, d'une part, à l'analyse isotopique de composés individuels par CG-C-SMri et, d'autre part, à leur identification par CG-SM.

Comme illustré dans la figure 5a, l'analyse isotopique permet de repérer les produits dérivés de l'atrazine parmi les constituants du pyrolysats grâce à leur enrichissement en carbone 13. On identifie ainsi cinq pics hautement enrichis

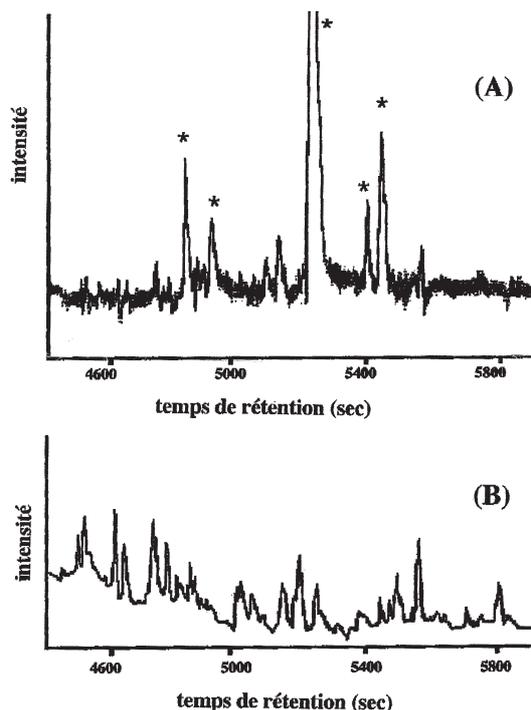


FIG. 5. – Analyse des résidus liés du sol GB1, après incubation avec de l'atrazine ^{13}C , par couplage Py-GC-C-SMri (A) et par couplage Py-GC-SM (B) (vue partielle des chromatogrammes totaux montrant la zone d'éluion des produits de pyrolyse de l'atrazine résiduelle liée. * : constituants dérivés de l'atrazine résiduelle liée, détectés grâce à leur enrichissement en ^{13}C ; sur le chromatogramme obtenu par analyse GC-SM ces composés sont mineurs ou masqués par des co-élutions.

FIG. 5. – Analysis of the bound residues of the GB1 soil, after incubation with ^{13}C atrazine, by combined Py-GC-C-irMS (A) and by combined Py-GC-SM (B) (partial view of total traces showing the elution zone of the pyrolysis products of residual bound atrazine). * : constituents derived of residual bound atrazine detected owing to their enrichment in ^{13}C ; on the chromatogram obtained by GC-MS analysis such constituents are minor or hidden by co-elutions.

en ^{13}C qui se situent dans la même zone du chromatogramme. Ces pics présentent des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ dans la gamme 100-1 000 ‰ révélant qu'ils dérivent bien des résidus liés d'atrazine. Comme attendu, ces composés sont mineurs par rapport aux produits de pyrolyse de la MO naturelle du sol (fig. 5b). Cependant, grâce à leur repérage préalable par l'analyse isotopique, l'étude CG-SM de ces produits peut être effectuée. La présence de fragments caractéristiques du noyau atrazine dans leurs spectres de masse (tel m/z 68) confirme bien l'origine de ces composés. Cependant leurs temps de rétention et leurs spectres de masse montrent qu'aucun ne correspond à l'atrazine elle-même ou à un de ses métabolites classiquement observés dans la phase soluble comme les hydroxy- et déalkyl-atrazines. L'atrazine résiduelle correspondant aux résidus liés

paraît donc se différencier nettement par sa structure chimique de l'atrazine résiduelle soluble.

Ces travaux constituent, à notre connaissance, le premier exemple d'une étude du mode de liaison d'un micro-polluant organique avec la MO des sols faisant intervenir, parallèlement, la pyrolyse couplée avec l'analyse isotopique de composés individuels et avec l'analyse CG-SM. Les résultats préliminaires ainsi obtenus confirment la faisabilité et l'intérêt de cette approche combinée pour l'étude des résidus liés.

Remerciements. – Ce travail a été financé par les programmes PROSE et PNSE (CNRS-INSU). Les auteurs remercient également J. Guillemot et A.M. Tabareau pour leur aide technique dans l'étude des agrégats organo-minéraux et Yves Pouet pour les analyses par pyrolyse/CG-SM.

Références

- BARRIUSO E., SCHIAVON M., ANDREUX F. & PORTAL J.M. (1991). – Localization of atrazine non-extractable (bound) residues in soil size fractions. – *Chemosphere*, **22**, 1131-1140.
- BARRIUSO E., KOSKINEN W.C. & SORENSON B. (1992). – Modification of atrazine desorption during field incubation experiments. – *Sci. Tot. Environ.* **123/124**, 333-344.
- BARRIUSO E., BENOIT P. & BERGHEAUD V. (1994). – Rôle of soil fractions in retention and stabilisation of pesticides in soils. In : A. COPIN, G. HOUINS, L. PUSSEMIER et J.F. SALEMBIER, Ed., Environmental behaviour of pesticides and regulatory aspects, COST, European Study. – Service, Rixensart, Belgique, 138-143.
- BARRIUSO E. & HOUOT S. (1996). – Rapid mineralisation of the S-triazine ring of atrazine in soils in relation to soil management. – *Soil Biol. Biochem.*, **28**, 1341-1348.
- BARRIUSO E. & KOSKINEN W.C. (1996). – Incorporating nonextractable atrazine residues into soil size fractions as a function of time. – *Soil Sci. Soc. Am. J.*, **60**, 150-157.
- BERTIN G. & SCHIAVON M. (1989). – Les résidus non extractibles de produits phytosanitaires dans les sols. – *Agron.* **9**, 117-124.
- BOLLAG J.M., MYERS C.J. & MINARD R.D. (1992). – Biological and chemical interactions of pesticides with soil organic matter. – *Sci. Total Environ.* **123/124**, 205-217.
- CALDERBANK A. (1989). – The occurrence and significance of bound pesticide residues. – *Soil. Rev. Environ. Cont. Toxicol.* **108**, 71-103.
- CAPRIEL P. & HAISCH A. (1983). – Persistenz von Atrazin und seiner Metaboliten im Boden nach einmaliger Herbizidanwendung. – *Z. Pflanzenernähr. Bodenk.* **146**, 474-480.
- CAPRIEL P., HAISCH A. & KHAN S.U. (1985). – Distribution and nature of bound (nonextractable) residues of atrazine in a mineral soil nine years after the herbicide application. – *J. Agric. Food Chem.* **33**, 567-569.
- CASTÉRAS R. (1998). – Influence du pH sur le devenir de l'atrazine dans un sol. – Mém. DEA, INRA/INA-PG, Paris.
- DEC J., SHUTTLEWORTH K.L. & BOLLAG J.M. (1990). – Microbial release of 2,4-dichlorophenol bound to humic acid or incorporated during humification. – *J. Envir. Quality* **19**, 546-551.
- DEC J., HAIDER K., RANANGASWAMY V., SCHÄFFER A., FERNANDES E. & BOLLAG J.M. (1997). – Formation of soil bound residues of cypronidil and their plant uptake. – *J. Agric. Food Chem.*, **45**, 514-520.
- DEC J. & BOLLAG J.M. (1997). – Determination of covalent and non-covalent binding interactions between xenobiotic chemicals and soil. – *Soil Sci.* **162**, 858-874.
- ESPITALIÉ J., MADEC M. & TISSOT B. (1980). – Role of mineral matrix in kerogen pyrolysis : influence on petroleum generation and migration. – *AAPG Bull.*, **64**, 59-66.
- GUTHRIE E.A. *et al.* (1999). – Determination of [^{13}C]pyrene sequestration in sediment microcosms using flash pyrolysis-GC-MS and ^{13}C NMR. – *Environ. Sci. Technol.* **33**, 119-125.
- HOUOT S., BARRIUSO E., BERGHEAUD V. & RAMPON J.N. (1998). – Influence des caractéristiques physico-chimiques des sols sur la dégradation accélérée de l'atrazine. – *28^e Congrès du Groupe Français des Pesticides* : « Pesticides : diagnostic, devenir, évaluation des risques ». – Ecole des mines d'Alès.
- HSU T.S. & BARTHA R. (1976). – Hydrolysable and non-hydrolysable 3,4-dichloroaniline-humus complexes and their respective rates of bio-degradation. – *J. Agric. Food Chem.*, **24**, 118-122.
- KATZ B. (1983). – Limitations of « Rock-Eval » pyrolysis for typing organic matter. – *Org. Geochem.* **4**, 195-199.
- KHAN S.U. (1982). – Distribution and characteristics of bound residues of prometryn in an organic soil. – *J. Agric. Food Chem.* **30**, 175-179.
- KHAN S.U. & HAMILTON H.A. (1980). – Extractable and bound (nonextractable) residues of prometryn and its metabolites in an organic soil. – *J. Agric. Food Chem.* **28**, 126-132.
- LOISEAU L., BARRIUSO E., ZEGOUAGH Y., LARGEAU C. & MARIOTTI A. (2000). – Release of the atrazine non-extractable (bound) residues of two soils using degradative techniques. – *Agronomie* **20**, 513-524.
- PROVIDENTI M.A., LEE H. & TREVORS J.T. (1993). – Selected factors limiting the microbial degradation of recalcitrant compounds. – *J. Industrial Microbiol.*, **12**, 379-395.
- PUGET P., ANGERS D.A. & CHENU C. (1999). – Nature of carbohydrates associated with water-stable aggregates of two cultivated soils. – *Soil Biol. Biochem.*, **31**, 55-63.
- PUGET P., CHENU C. & BALESSENT J. (2000). – Incorporation and dynamics of carbon in particle size fractions of aggregates. – *Eur. J. Soil Sci.*, **50**, 4 (sous presse).
- SCHIAVON M., JACQUIN F. & GOUSSAULT C. (1977). – Blocage de molécules S-triaziniques par la matière organique. – IAEA-SM-211 327-332.
- SCHULZE M., WILKES H., WITTE E.G. & VEREECKEN H. (1997). – Characterization of natural organic matter and its adducts with organic pollutants by Curie-point pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry. – *18th International Meeting on Organic Geochemistry*, Maastricht, Abstract Book Part II, 831-832.
- SKJEMSTAD J.O., CLARKE P., TAYLOR J.A., OADES J.M. & NEWMAN R.H. (1994). – The removal of magnetic materials from surface soils. A solid state ^{13}C CP/MAS N.M.R. study. – *Aust. J. Soil Res.* **32**, 1215-1229.
- STEINBERG S.M., PIGNATELLO J.J. & SAWHNEY B.L. (1987). – Persistence of 1,2-dibromoethane in soils : entrapment in intraparticle micropores. – *Environ. Sci. Technol.* **21**, 1201-1208.

