

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DES SCIENCES ET DE LA TECHNOLOGIE HOUARI BOUMEDIENE

FACULTE DE CHIMIE

MEMOIRE

*Présenté pour l'Obtention
du Diplôme de Post-Graduation Spécialisée*

*En : Chimie Analytique Appliquée
à l'Agro-alimentaire et à l'Environnement
Projet : « Chaire UNESCO - Gas Natural »*

Par : Mlle Nacera BESSAS

THEME

SUIVI PAR HPLC DE LA PHOTODEGRADATION DE L'ATRAZINE DANS DIFFERENTS MILIEUX

SOUTENU LE 23/06/2004, DEVANT LE JURY SUIVANT :

Mme Ouiza CHERIFI	Pr Présidente
Mr A. BAALIOUAMER	Pr Dteur de Thèse
Mr A. Y. BADJAH HADJ AHMED	Pr Dteur de Thèse
Mme Dalila NEDJRAOUI	Pr Examineur
Mr Abdelkrim TOUABET	Pr Examineur

SOMMAIRE

Introduction	7
---------------------	---

Chapitre I : Généralités sur les Triazines

Introduction	10
1. Structure chimique	10
2. Classement chimique	11
3. Atrazine	12
a. Définition	12
b. Utilisation	12
c. Usage	12
d. Mode d'action	12
e. Méthodes de détection	14
f. Dégradation	14
g. Elimination	14
h. Toxicité	16
i. Ecotoxicité	16
4. Réglementation algérienne	16
Conclusion	17

Chapitre II : Echantillonnage et extraction de l'Atrazine

1. Introduction	19
2. Partie expérimentale	19
a. Préparation des échantillons	19
b. Extraction de l'atrazine à partir des échantillons	21
Conclusion	21

Chapitre III : Suivi par HPLC de la dégradation de l'Atrazine dans différents milieux

Introduction	24
I- Généralités sur la chromatographie liquide à haute performance	24
1. Classement des méthodes chromatographiques	25
2. Notions fondamentales	25
3. La séparation en chromatographie liquide	25
4. Analyse qualitative	26
a. Grandeurs de rétention	26
b. Temps mort	26
c. Temps de rétention réduit ou corrigé	26
d. Facteur de capacité	26
e. Sélectivité	26
f. Facteur de résolution	27
g. Efficacité	27

5. Appareillage en HPLC	
a. Réservoir de solvant	28
b. Système de pompage	28
c. Gradient d'éluion	28
d. Injecteur	29
e. Colonne	29
f. Détection en HPLC	29
II- Analyse par HPLC de l'atrazine et de ses produits de dégradation	31
1. Conditions de travail	31
2. Résultats et discussion	32
3. Conclusion	35
4. Mélange des étalons	36
III- Suivi de la dégradation de l'atrazine dans différents milieux	39
1. Matériel et méthode	39
2. Résultats et discussion	41
a) atrazine seule sous ensoleillement	41
b) atrazine dans l'eau distillée sous ensoleillement	43
c) atrazine dans l'eau de robinet sous ensoleillement	45
d) atrazine dans le maïs sous ensoleillement	47
Conclusion	49
Conclusion Générale	53
Bibliographie	56

LISTE DES TABLEAUX

- Tableau 1-1** : Classement chimique des triazines
- Tableau 2-1** : Caractéristiques physico chimiques des eaux utilisées
- Tableau 2-2** : Représentation chimique de l'atrazine et de ses produits de dégradation
- Tableau 3-1** : Les différentes techniques chromatographiques
- Tableau 3-2** : Programme de gradient en HPLC
- Tableau 3-3** : L'ordre d'éluion de l'atrazine et de ses métabolites
- Tableau 3-4** : Variation du nombre de plateaux théoriques en fonction de la composition de la phase mobile
- Tableau 3-5** : Variations du facteur de sélectivité
- Tableau 3-6** : Variations du facteur de résolution
- Tableau 3-7** : Variations du temps de rétention et du facteur de capacité
- Tableau 3-8** : Temps de rétention et facteur de capacité du mélange d'étalons
- Tableau 3-9** : Temps de rétention et facteur de capacité des produits de dégradation non injectés
- Tableau 3-10** : Les méthodes d'analyse réalisées pour la détection de l'atrazine et de ses métabolites
- Tableau 3-11** : Temps de rétention et pourcentage de l'atrazine et de ses métabolites
- Tableau 3-12** : Temps de rétention et pourcentage de l'atrazine et de ses métabolites
- Tableau 3-13** : Temps de rétention et pourcentage de l'atrazine et de ses métabolites
- Tableau 3-14** : Temps de rétention et pourcentage de l'atrazine et de ses métabolites

LISTE DES FIGURES

- Figure 1-1** : Formule générale des s-triazines
- Figure 1-2** : Les premiers symptômes de l'atrazine résiduaire dans le sol
- Figure 1-3** : Les symptômes tardifs de l'atrazine résiduaire dans le sol
- Figure 1-4** : Les symptômes tardifs de l'atrazine résiduaire dans le sol
- Figure 1-5** : Sucrière tuée par l'atrazine résiduaire dans le sol
- Figure 1-6** : Schéma probable de la dégradation de l'atrazine
- Figure 3-1** : Schéma représentatif d'un chromatographe liquide
- Figure 3-2** : Chromatogramme du mélange des étalons obtenus par HPLC
- Figure 3-3** : Chromatogrammes de la dégradation de l'atrazine seule après 15 et 90 jours obtenus par HPLC
- Figure 3-4** : Chromatogrammes de la dégradation de l'atrazine dans l'eau distillée après 15 et 90 jours obtenus par HPLC
- Figure 3-5** : Chromatogrammes de la dégradation de l'atrazine dans l'eau de robinet après 15 et 90 jours obtenus par HPLC
- Figure 3-6** : Chromatogrammes de la dégradation de l'atrazine dans le maïs après 15 et 90 jours obtenus par HPLC
- Figure 3-7** : Pourcentage de l'atrazine desethyl desisopropyl en fonction du temps
- Figure 3-8** : Pourcentage de l'atrazine desisopropyl-2-hydroxy en fonction du temps
- Figure 3-9** : Pourcentage de l'atrazine desisopropyl en fonction du temps
- Figure 3-10** : Pourcentage de l'atrazine desethyl en fonction du temps
- Figure 3-11** : Pourcentage de l'atrazine-2-hydroxy en fonction du temps
- Figure 3-12** : Pourcentage de dégradation de l'atrazine en fonction du temps

INTRODUCTION

L'Agriculture constitue l'une des plus anciennes activités humaines. Elle est, depuis longtemps, l'objet d'attaques parasitaires. Autrefois attribuées à la malédiction céleste, les pertes de récoltes ont rapidement été associées à la présence de plantes ou insectes nuisibles. Dans l'histoire, on relève l'utilisation de différentes substances ou procédés afin d'enrayer les mauvaises herbes. En effet, pour éviter la croissance de parasites végétaux, les romains épandaient du sel sur leurs cultures. Démocrate, quant à lui, suggérait de fournir aux racines des arbres une solution de ciguë préalablement immergée de fleurs de lupins afin de les protéger des mauvaises herbes [1].

Avant l'apparition des herbicides chimiques commerciaux, les fermiers utilisaient des méthodes physiques ou mécaniques telles que la lutte par le feu, l'inondation ou la chaleur. Puis, vinrent les méthodes écologiques comme le chaulage, le drainage et l'élévation de la fertilité du sol qui modifient le milieu afin de réduire les risques d'invasion de nuisances végétales. Une autre technique employée consiste en la lutte biologique qui permet l'élimination des mauvaises herbes par l'introduction de parasites sélectifs.

Les méthodes chimiques sont apparues pour la première fois dans les années 1900 mais n'ont été réellement exploitées que vers les années 1930, principalement avec l'essor de la biochimie. Le premier herbicide synthétique de chimie organique permettant la sélectivité des mauvaises herbes fût conçu en 1932 lorsque Pastac et Truffaux ont préparé les dinitrophénols [2]. A partir de ce moment, plusieurs substances furent développées telles que les triazines (1955) et les chloroacétamides (1956)[1]. Certains produits chimiques étaient d'abord utilisés en tant qu'insecticides ou fongicides mais, en voyant leurs effets correspondant davantage à ceux des herbicides, ils furent intégrés comme tels sur le marché. Avec l'accroissement des herbicides depuis la deuxième guerre mondiale, les méthodes traditionnelles ont été quelque peu délaissées au profit d'une méthode chimique moins coûteuse au niveau de la main-d'œuvre et plus rentable.

Aujourd'hui, il y a plus de 30 000 types de mauvaises herbes dans le monde et plus de 200 groupes d'herbicides. Ces derniers représentent 60% des ventes totales mondiales de pesticides et 90% de ces produits sont utilisés en agriculture[1]. Bref, les herbicides ont été développés dans le but de répondre à une demande grandissante exigeant une meilleure qualité de récolte, une production abondante et ce, tout en diminuant les coûts. Pour satisfaire ce besoin toujours actuel, les scientifiques poursuivent leurs recherches afin de formuler un produit de plus en plus sélectif, davantage actif et de persistance optimale, ce qui permettra de diminuer les fréquences et les doses d'applications, ainsi que les impacts environnementaux.

Les triazines en général sont aujourd'hui très utilisés pour la protection de l'agriculture, ils forment 30% des herbicides utilisées en agriculture [3] mais via les processus microbiologiques, photochimiques ou physico-chimiques, ils se décomposent en résidus qui peuvent nuire à l'environnement.

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à l'un des triazines les plus utilisés, l'atrazine. Nous suivrons sa photodégradation par H.P.L.C seule, dans l'eau potable, dans l'eau distillée et dans le maïs.

Nous aborderons ce thème en trois grands chapitres :

- ♦ Des généralités sur les triazines en particulier l'atrazine,
- ♦ L'échantillonnage et l'extraction de l'atrazine dans différents milieux,
- ♦ L'analyse par HPLC.

CHAPITRE I

GENERALITES SUR LES ATRAZINES

Introduction

Les triazines forment une famille importante d'herbicides. En raison de son utilisation à grande échelle dans l'agriculture, cette famille est très fréquemment détectée dans le sol et les eaux de surface [4].

Parmi les triazines, l'atrazine est le plus employé [5], il est utilisé à grande échelle depuis de nombreuses années en raison de son faible coût, de sa facilité d'emploi et de son large spectre d'action pour lutter contre les mauvaises herbes.

Depuis leur première autorisation de mise sur le marché (1962) [6], les triazines sont essentiellement utilisés dans les cultures du maïs (71 % de l'atrazine utilisée en 1999, 80 % de la surface de maïs désherbée avec cette préparation) et du sorgho (100 % des surfaces de sorgho reçoivent de l'atrazine). Les autres matières actives de la famille des triazines (simazine, terbuthylazine, cyanazine, ametryne, prometryne, terbutryne) sont utilisées sur diverses cultures (vigne, arbres fruitiers, cultures légumières...). Ces substances sont également employées en association avec d'autres substances actives, notamment en viticulture et en arboriculture. Pour ce qui concerne les usages non-agricoles, l'atrazine et la simazine sont interdites depuis 1997 [6].

1. Structure chimique

A cause de la disposition symétrique des atomes d'azote dans la molécule, ces hétérocycles sont également appelés s-triazines et qui présentent la formule suivante :

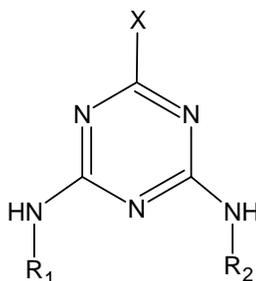


Figure 1-1 Formule générale des s-triazines

X : Cl, O-OCH₃, S-CH₃

R1, R2 : Ethyl, Isopropyl, Tertiobutyl

Les triazines présentent un avantage scientifique dans le sens où elles forment une famille de composés homologues constituée d'un cycle commun qui change de structure en fonction de la nature de X, R1 et / ou R2 [2].

2. Classement chimique

Les triazines sont des produits qui présentent tous un noyau hexagonal comprenant trois atomes de carbone et trois atomes d'azote, ils se subdivisent en trois groupes : Les chloro (suffixe zine), les méthoxy (suffixe ton), et méthylthio (suffixe yne) illustrés dans le tableau 1-1 [2].

Tableau 1-1 : Classement chimique des triazines

Groupe de triazines	Exemples
Chloro-triazines	Chloro bis éthylamino s-triazine
	Simazine
	Chloroéthylamino isopropyl amino-s-triazine
	Atrazine
	Chloro bis isopropylamino-s-triazine
Propazine	
Méthoxy triazines	Bis isopropylamino méthoxy triazine
	Prometon
	Sec butyl amino éthylamino méthoxy triazine
	Secbumeton
Méthyl thio triazines	Méthylthio-éthylamino-iso-propylamino-s-triazine
	Ametryne
	Méthylthio- bis éthylamino-triazine
	Simetryne
	Méthylthio-éthylamino-tertiobutylamino-s-triazine
Terbutryne	

L'atrazine étant le sujet choisi dans ce travail, les propriétés et modes d'usage relatifs à cette molécule sont données ci-dessous :

3. Atrazine

a. Définition

Cet herbicide d'origine suisse appartenant à la famille des triazines se présente sous forme de cristaux incolores, d'une solubilité dans l'eau égale à 28mg/l à 20°C. Il est absorbé par les racines, mais également en partie par les feuilles [7] ;

L'atrazine présente une remarquable efficacité à l'égard des graminées adventices et de nombreuses herbes dicotylédones ; sa demi-vie est d'environ 60 jours dans les conditions chaudes et humides et dans les sols de surface, dans les sols plus profonds ou dans l'eau, la demi-vie est généralement plus longue. Il est stable en conditions neutres et faiblement acides ou basiques [7].

Toutefois, il reste un bon indicateur de pollution pour les phytosanitaires car c'est le pesticide le plus fréquemment rencontré, aux concentrations les plus élevées.

b. Utilisation

La dose d'emploi de l'atrazine ne peut excéder 1500g/ha quel que soit l'usage considéré (journal officiel du 13 juillet 1990) [8].

c. Usage

L'atrazine est principalement utilisé pour détruire les mauvaises herbes en pré-émergence et en post-émergence dans le maïs et dans le sorgho à grain, mais aussi dans le lin, et pour détruire totalement la végétation dans les secteurs non cultivés et dans les zones industrielles [8].

d. Mode d'action

L'atrazine étant un herbicide systémique agit comme inhibiteur de la photosynthèse. Cette molécule bloque le processus permettant aux plantes vertes d'assimiler le gaz carbonique de l'air pour synthétiser des sucres à partir de l'eau et des éléments minéraux puisés par les racines, grâce à l'énergie fournie par la lumière solaire[8].

Ainsi, les mauvaises herbes traitées avec l'atrazine jaunissent puis se nécrosent.

Les photos ci-dessous montrent l'effet de l'atrazine résiduaire dans le sol sur une sucrière en quatre périodes de suite.



Figure 1-3 Les premiers symptômes de l'atrazine résiduaire dans le sol
Les bouts et bords de feuilles sont jaunâtres



Figure 1-4 Les symptômes tardifs de l'atrazine résiduaire dans le sol
Les bouts et bords de feuilles brunissent



Figure 1-5 Les symptômes tardifs de l'atrazine résiduaire dans le sol
La couleur brune se propage vers de nouvelles feuilles



Figure 1-6 Sucrière tuée par l'atrazine résiduaire dans le sol

e. Méthodes de détection

Il est possible de surveiller la présence de l'atrazine dans l'eau par chromatographie en phase gazeuse (CPG) couplée à divers systèmes de détections, notamment l'ionisation de flamme, la capture d'électrons, la spectrométrie de masse (SM) et les détecteurs spécifiques azote-phosphore [9].

Cependant, certains métabolites de cette molécule ne sont pas élués en CPG d'où notre choix de la HPLC.

f. Dégradation

Comme tous les produits phytosanitaires, l'atrazine subit une dégradation d'origine biologique qui conduit aux métabolites désalkylés, et une dégradation chimique qui conduit aux métabolites hydroxylés (voir figure 1-1)

Ses métabolites peuvent parfois être de toxicité égale ou supérieure à celle de l'Atrazine.

g. Elimination

Le charbon actif en grain (CAG) ou en poudre (CAP), l'osmose inverse, l'échange ionique, l'oxydation à l'ozone et le rayonnement ultra-violet ont tous été utilisés avec succès pour éliminer l'atrazine et ses métabolites dans l'eau [9].

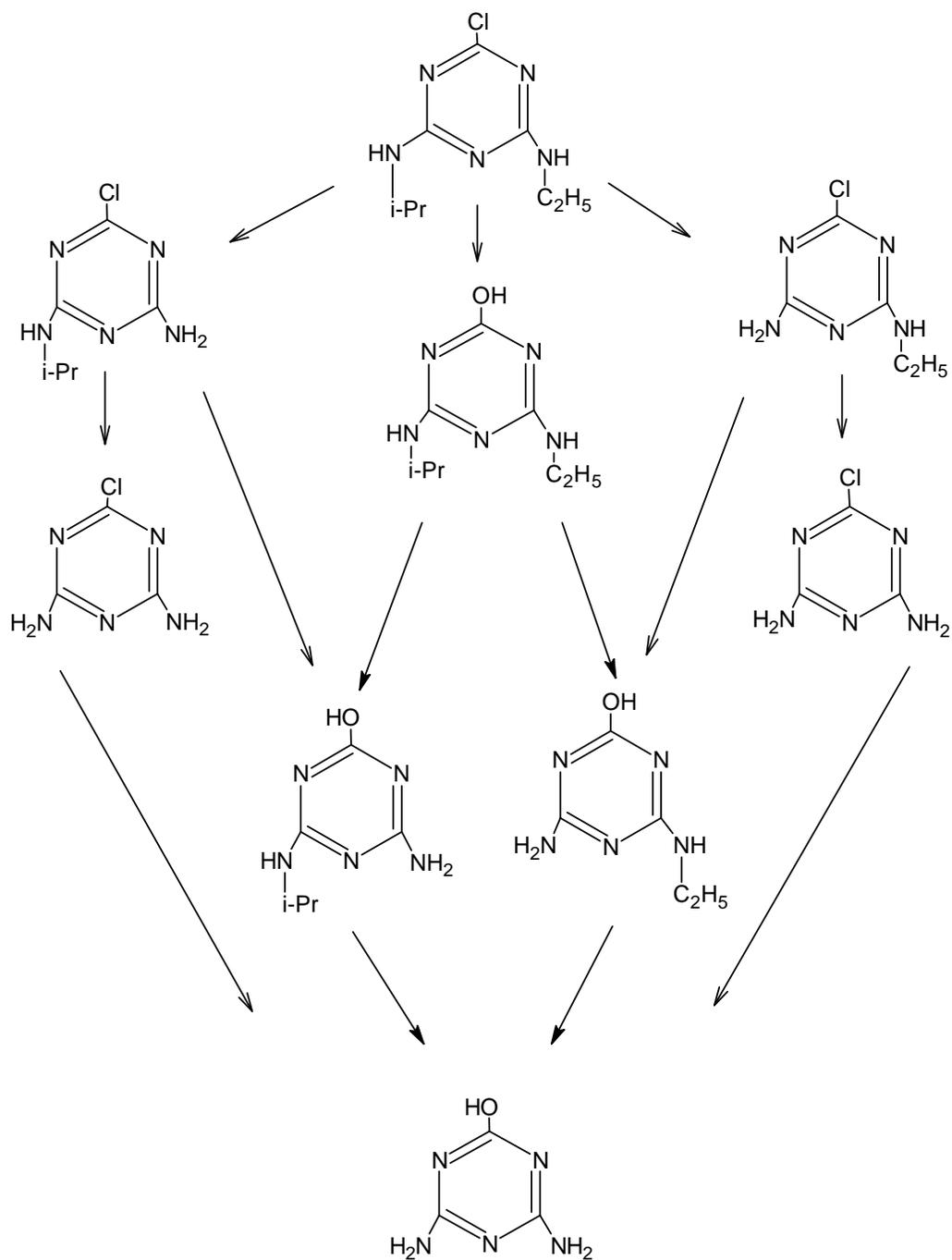


Figure 1-2 Schéma probable de la dégradation de l'atrazine

h. Toxicité

Etant fabriqué et utilisé depuis près d'un demi-siècle dans le monde entier, l'atrazine n'est pas répertorié comme source majeure d'intoxications.

Ses risques (irritations, problèmes digestifs) sont consécutifs à des contacts du produit avec la peau ou à son inhalation [10]. L'atrazine a été classé comme une molécule potentiellement cancérigène et a été interdite en Europe [11]. Mais, il s'est avéré que cette molécule n'est plus considérée comme cancérigène par la commission des toxiques auprès du ministère français de l'agriculture et de la pêche qui a conclu à « l'absence de danger pour la santé humaine », selon la revue Agroline du 22 juin 2001 [12]. Tout cela n'empêche pas de se poser la question sur la toxicité de ses produits de dégradation [fig.1-2].

L'Organisation Mondiale de la Santé O.M.S recommande pour cette substance une valeur guide dans l'eau de boisson de 2µg/l, alors que la Directive Européenne du 15 juillet 1980 a fixé une valeur unique de 0,1µg/l [13].

i. Ecotoxicité

L'utilisation réglementaire de l'atrazine n'a pas d'effet défavorable sur les oiseaux, les abeilles et les vers de terre ainsi que sur les poissons et les microorganismes du sol [8].

4. Réglementation algérienne

L'utilisation et le contrôle des produits phytosanitaires en agriculture sont très stricts et concernent les deux textes de base suivant :

- La loi 87-17 du 1^{er} août 1987 relative à la protection phytosanitaire [3,14],
- Le décret 95-405 du 2 décembre 1995 relatif au contrôle des produits phytosanitaires à usage agricole [3].

Conclusion

L'usage même de cette molécule, destinée à éliminer les mauvaises herbes dans les champs de maïs notamment, sera interdit à compter du 30 juin 2003 «www.web-agri.fr». Ne bénéficiant plus de la protection de son brevet depuis les années 1970, l'atrazine est peu coûteuse et n'a pas de réel concurrent sur le marché, selon le groupe chimique Novartis, qui en commercialise un pourcentage important. Mais le problème est que cette molécule se retrouve systématiquement dans l'eau, et parfois à des teneurs impressionnantes, d'où l'intérêt de son analyse et du suivi de sa dégradation.

CHAPITRE II

ECHANTILLONNAGE ET EXTRACTION
DE L'ATRAZINE

1. Introduction

Les triazines sont sélectionnés comme les produits les plus utilisés dans l'agriculture et dont la dégradation est plus lente que celle des autres pesticides ; ces herbicides sont bien connus comme étant polluants potentiels de l'eau naturelle [15].

Cette pollution ou contamination des eaux passe par des mécanismes de transfert de triazine à partir des compartiments air et sol. Pour ce qui est de l'interface air-eau, les masses d'air ont un rôle de transport de ces produits sur de longues distances, alors que L'interface sol-eau intervient à deux niveaux : contamination des eaux souterraines par lessivage et contamination des eaux de surface par ruissellement et érosion [16].

Les transformations de produits contaminants dans le sol du fait des micro-organismes et/ou des réactions chimiques, sont confondues sous le vocable de dégradations.

Généralement, le taux de dégradation augmente avec la température et avec la teneur d'eau dans le sol [16].

2. Partie expérimentale

Dans cette partie la photodégradation de l'atrazine est suivie en fonction des milieux d'application.

- Atrazine en solution dans l'eau (distillée et eau de robinet),
- Atrazine seule,
- Atrazine appliqué sur le maïs.

Les échantillons ont été exposés au soleil entre le mois de mai et septembre 2002, car en littérature les contrôles visent particulièrement les périodes appelées " à haut risque" (mai et juin), ainsi, 27% des analyses sont réalisées pendant ces mois [17].

a. Préparation des échantillons

1) Atrazine seule

0,5 mg d'atrazine sont introduites dans un récipient en verre, placé dans un milieu bien aéré et ensoleillé*.

2) *Atrazine dans l'eau distillée :*

0,5 mg d'atrazine en solution dans l'hexane sont ajoutés à 100ml d'eau distillée qui présente les caractéristiques physico-chimiques données par le tableau 2-1 ci-dessous.

3) *Atrazine dans l'eau de robinet :*

0,5 mg d'atrazine dans l'hexane sont également ajoutés à 100ml d'eau de robinet qui présente les caractéristiques physico-chimiques données par le tableau 2-1 ci-dessous.

4) *Traitement du maïs avec l'atrazine :*

0,5 mg d'atrazine dans l'hexane sont mélangés à 100g de grains de maïs en prenant le soin d'imprégner tous les grains avec l'atrazine.

Tableau 2-1 Caractéristiques physico-chimiques des eaux utilisées [18]

Eléments à analyser	Unité	Eau distillée	Eau de robinet
Ca ²⁺	mg/l	1,8	72
Mg ²⁺	mg/l	6,2	158
Cl ⁻	mg/l	7,1	106,5
Carbonate TAC	°F	0,64	24,5
pH	-	4,7	7,46
Salinité	mg/l	10	587
Turbidité	NTU	0,35	0,64

Ces analyses ont été réalisées au niveau du laboratoire de l'entreprise nationale des gaz industriels.

Ces quatre échantillons ont été exposés au soleil durant 15 jours et 90 jours respectivement.

Notons que les échantillons ont été exposés sur une terrasse d'un immeuble de hauteur d'environ 9mètres dans la ville de kolea à l'ouest d'Alger.

b. Extraction de l'atrazine à partir des échantillons

L'échantillon est transféré dans une ampoule à décanter ; 3×150ml de dichlorométhane¹ sont utilisés pour récupérer la phase organique, après agitation de 30mn et filtration, le solvant est éliminé à l'évaporateur rotatif et concentré jusqu'à un volume de 8ml environ.

Conclusion

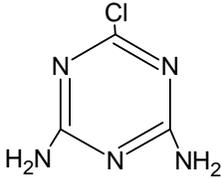
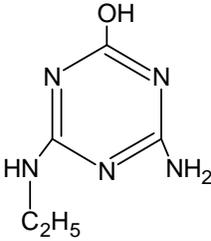
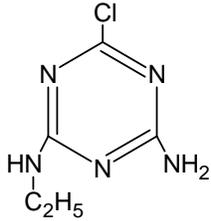
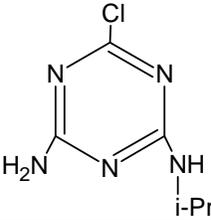
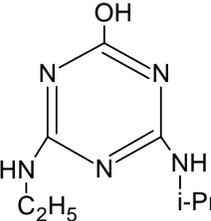
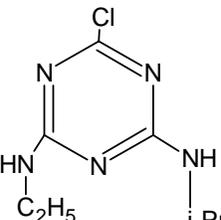
Les milieux d'applications choisis devraient nous permettre de nous rapprocher du mode de dégradation de l'atrazine en substances dérivées qui se résumerait comme suit :

- Désalkylation donnant l'atrazine desisopropyl, l'atrazine desethyl et/ou l'atrazine desethyl desisopropyl,
- Hydroxylation donnant l'atrazine 2-hydroxy,
- Hydroxylation-desalkylation donnant l'atrazine desisopropyl 2-hydroxy.

Les quatre échantillons d'atrazine après mise à l'essai et extraction, sont injectés en HPLC dans les même conditions que les étalons purs correspondant aux produits de dégradation présentés ci-dessous (Tableau 2-2) :

¹ Le dichlorométhane est le solvant qui permet l'extraction d'un maximum de pesticides avec le meilleur rendement.

Tableau 2-2 Représentation chimique de l'atrazine et de ses produits de dégradation

Composé	Structure chimique
1) Atrazine desisopropyl desethyl	
2) Atrazine desisopropyl-2 hydroxy	
3) Atrazine desisopropyl	
4) Atrazine desethyl	
5) Atrazine-2 hydroxy	
6) Atrazine	

CHAPITRE III

SUIVI PAR HPLC DE LA DEGRADATION
DE L'ATRAZINE
DANS DIFFERENTS MILIEUX

Introduction

L'analyse environnementale montre souvent la présence courante de composés dangereux en petites concentrations.

Plusieurs traces de composés organiques spécialement ceux présent dans les rejets industriels, sont toxiques et souvent cancérigènes. La détermination des herbicides et les pesticides dans les aliments et l'eau a reçu plus d'attention et depuis, plusieurs méthodes analytiques ont été élaborées [21].

Deux méthodes sont particulièrement utilisées : la chromatographie gaz CPG couplée a plusieurs systèmes (MS^2 , ECD^3 , FID^4 ...), et la chromatographie liquide HPLC qui s'avère la plus intéressante dans ce cas, car les produits étalons dérivés de l'atrazine y sont mieux élués et facilement détectés en UV du fait de leurs insaturations.

I. Généralités sur la chromatographie liquide à haute performance

La chromatographie liquide à haute performance connaît depuis quelques années un renouveau remarquable grâce aux applications de plus en plus nombreuses qu'elle permet et aux solutions qu'elle propose aux problèmes posés dans divers domaines de l'analyse organique et inorganique. En effet, bien que la chromatographie en phase liquide sur colonne soit la plus ancienne des techniques chromatographiques, son développement a été plus lent en raison principalement de la lenteur des séparations et de l'absence de détecteurs universels et performants. Actuellement, ces limitations ont été dépassées avec la mise au point de nouvelles phases stationnaires plus performantes et de détecteurs adaptés à la plupart des solutés.

² MS : Spectrométrie de Masse.

³ ECD : Détecteur a Capture d'Electrons.

⁴ FID : Détecteur a l'Ionisation de Flamme.

1. Classification des méthodes chromatographiques

Toutes les techniques chromatographiques sont basées sur le partage et l'adsorption des solutés analysés entre deux phases : l'une stationnaire et l'autre mobile (Tableau 3-1) [3].

Tableau 3-1 Les différentes techniques chromatographiques

Phénomènes	Adsorption		Partage	
Phase stationnaire	Solide		Liquide	
Phase mobile	<i>Gaz</i>	<i>Liquide</i>	<i>Gaz</i>	<i>Liquide</i>
Nature physique des phases	Chromatographie gaz-solide	Chromatographie liquide-solide	Chromatographie gaz-liquide	Chromatographie liquide-liquide
Procédé utilisé	Chromatographie en phase gazeuse	- Chromatographie sur colonne - Chromatographie sur couche mince - Chromatographie liquide-solide à haute performance	Chromatographie en phase gazeuse	- Chromatographie sur papier - Chromatographie liquide-liquide à haute performance

2. Notions fondamentales

En chromatographie liquide, comme dans toutes les techniques chromatographiques, la séparation est basée sur la différence de distribution des solutés étudiés entre deux phases non miscibles [19] :

- La phase stationnaire (Solide vierge ou greffé),
- La phase mobile (Solvant ou mélange de solvants).

3. La séparation en chromatographie liquide

Une bonne séparation chromatographique signifie :

- **Une rétention suffisante des solutés injectés, donc une certaine affinité pour la phase stationnaire,**
- **Une bonne séparation des différents pics chromatographiques,**
- **Une durée d'analyse suffisamment courte.**

4. Analyse qualitative

Elle consiste à faire une comparaison des paramètres de rétention d'un échantillon à analyser avec ceux de l'étalon sous les mêmes conditions chromatographiques qui doivent être optimisées au préalable et ceci avec le concours d'un certain nombre de grandeurs chromatographiques, dont les plus importantes sont rappelées ci-dessous [20].

a. Grandeurs de rétention

La quantité d'échantillon injectée étant suffisamment petite, chaque composé élué donne un pic symétrique et gaussien. On appelle t_R le temps d'élution au maximum du pic, mesuré à partir de l'injection [20].

b. Temps mort

t_m : C'est le temps de rétention d'un composé non retenu par la colonne c'est généralement le pic du solvant[4].

c. Temps de rétention réduit ou corrigé

t_R' : C'est le temps qui sépare les deux sommets du pic du soluté à analyser et celui non retenu par la colonne (pic du solvant), correspondant au temps mort.

$$t_R' = t_R - t_m \quad (1)$$

d. Facteur de capacité K'

K' : C'est le rapport entre le temps de rétention réduit et le temps mort.

$$K' = t_R' / t_m \quad (2)$$

e. Sélectivité

Pour caractériser la distance séparant les sommets de deux pics consécutifs, on utilise la sélectivité.

α : C'est le facteur de séparation entre deux pics adjacents, il correspond au rapport des facteurs de capacité de la colonne pour les deux composés :

$$\alpha = (t_R' / t_R') = (K' / K') \quad (3)$$

f. Facteur de résolution

Le facteur de résolution R entre deux pics est donné par la formule :

$$R = 2(t_{R2} - t_{R1}) / (w1 + w2) \quad (4)$$

Il découle directement de cette définition que la séparation entre deux pics est d'autant meilleure que R est plus grand.

t_{R1} : temps de rétention du premier composé élué,

t_{R2} : temps de rétention du deuxième composé élué,

w1: largeur à la base du pic du premier composé élué,

w2: largeur à la base du pic du deuxième composé élué.

g. Efficacité

L'efficacité d'une colonne chromatographique, dont dépend l'étalement des pics, est mesurée, pour chaque composé, par le nombre de plateaux théoriques N correspondant à la colonne.

Plus N est grand, plus le pouvoir de séparation de la colonne est grand.

$$N = 16(t_R / w)^2 \quad (5)$$

t_R : temps de rétention du composé,

w : largeur du pic à la base.

5. Appareillage en HPLC

Le chromatographe liquide est constitué des parties suivantes [20] :

- **Un réservoir contenant la phase mobile,**
- **Une pompe pour pousser la phase mobile à travers un système à pression élevée,**
- **Un injecteur pour introduire l'échantillon dans la phase mobile,**
- **La colonne,**
- **Le détecteur.**

La figure 3-1 nous montre le schéma de principe d'un chromatographe en phase liquide.

a. Réservoir de solvant

La première caractéristique du réservoir est son volume utile, dont dépend le nombre d'analyses réalisables sans interruption. Un volume d'au moins un litre est satisfaisant dans notre cas ; l'utilisation d'un réservoir de solvant étanche est nécessaire pour en limiter l'évaporation [20].

b. Système de pompage

Il se caractérise par :

- **Un rendement indépendant de la nature du solvant,**
- **Un débit constant pour permettre la reproductibilité des temps de rétention,**
- **Une grande gamme de débit.**

c. Gradient d'élution

L'élution graduée lors de la séparation de mélanges complexes permet, en modifiant la composition de l'éluant, d'optimiser les valeurs des facteurs de capacité et par-là de réduire les temps d'analyse.

Dans notre cas, on a utilisé une seule pompe couplée avec des vannes proportionnelles commandées par un microprocesseur, qui permet d'obtenir des gradients de forme quelconque.

d. Injecteur

Il existe deux méthodes d'injection de l'échantillon au sommet de la colonne :

- **Les injecteurs à seringue,**
- **Les vannes à boucle d'échantillonnage ou à tiroir.**

L'injecteur utilisé dans ce travail est constitué d'une vanne d'injection à boucle. La solution à injecter, préalablement introduite dans une boucle de volume connu, est entraînée en tête de colonne par la phase éluante, après rotation ou translation de la vanne [20].

e. Colonne

Les dimensions de colonne les plus fréquemment utilisées sont de l'ordre de 5 à 25cm de long et 4 à 5mm de diamètre intérieur.

Elles sont généralement en acier inoxydable. On peut aussi utiliser du verre gainé dans l'acier. Les connexions doivent être bien adaptées pour éviter les volumes morts importants qui provoquent une perte en efficacité et en résolution.

f. Détection en HPLC

C'est l'une des parties essentielles de l'appareil puisqu'elle permet de suivre l'élution et la séparation des solutés et de mesurer leur concentration.

Contrairement à la chromatographie en phase gazeuse, il n'existe pas de détecteur universel suffisamment sensible. Les plus utilisés sont le réfractomètre différentiel et le détecteur à absorption dans l'ultraviolet et le visible. Il existe aussi de nombreux détecteurs très sensibles mais spécifiques.

Dans notre cas, c'est le détecteur à absorption dans l'ultra -violet /visible qui est utilisé.

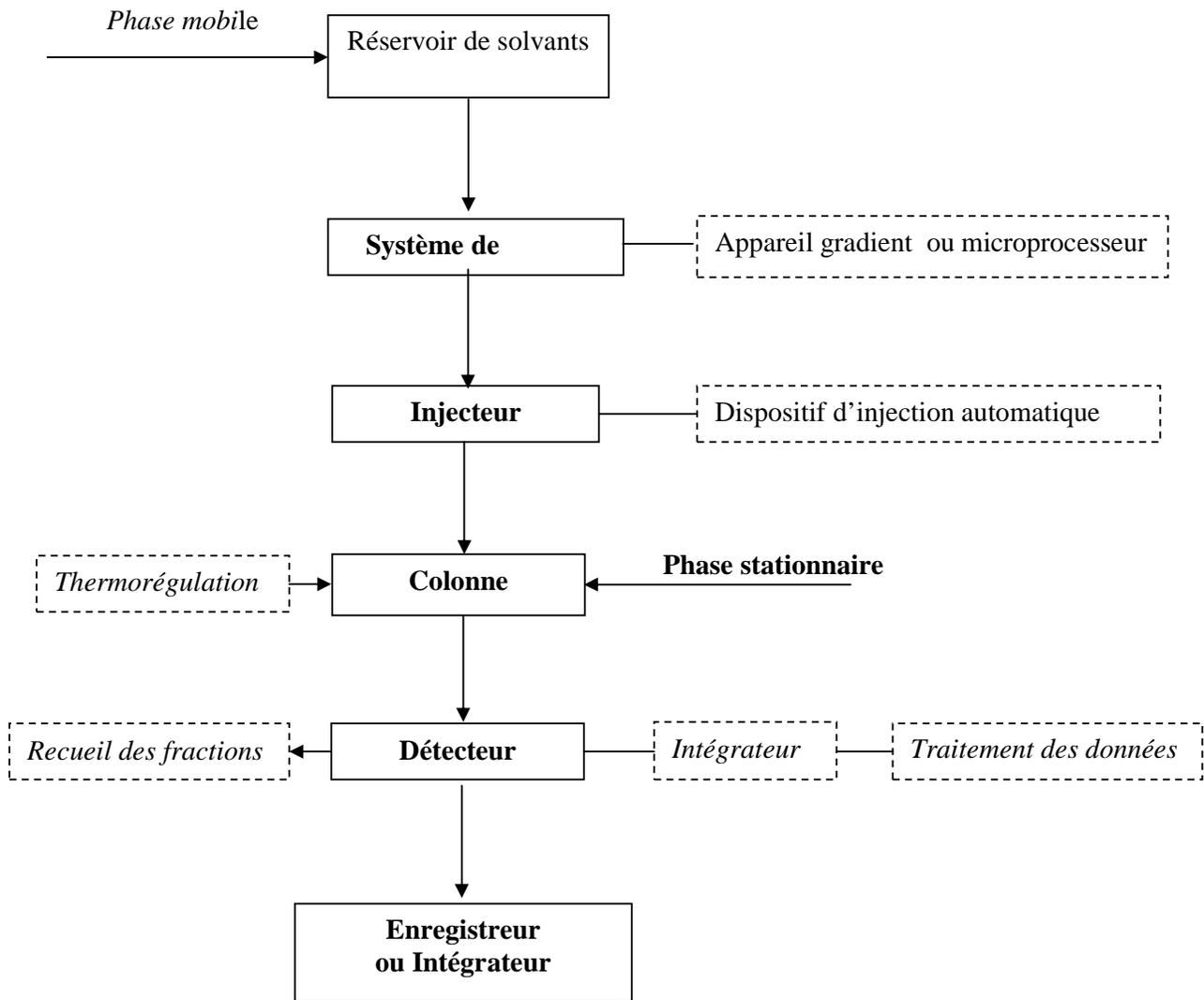


Figure 3-1 Schéma représentatif d'un chromatographe liquide

II- Analyse par HPLC de l'atrazine et de ses produits de dégradation

1. Conditions de travail

- Appareillage : HPLC TSP (Thermo Séparation Products),
- Colonne : μ Bondapak-Phenyl,
- Longueur : 28 cm,
- Diamètre intérieur : 4,6 mm,
- Solvant : acétonitrile pour HPLC et eau distillée préalablement dégazée,
- Détecteur (UV) : $\lambda = 227$ nm (λ_{max} des triazines) [3],
- Quantité injectée : 0,2 μ l,
- Etalons SUPELCO purs.

Gradient d'élution

Tableau 3-2 Programme de gradient en HPLC

Temps (mn)	% en Acetonitrile	% en Eau
0	10	90
25	10	90
26	30	70
45	30	70
50	10	90

2. Résultats et discussion

Dans un premier temps, nous avons recherché les meilleures conditions de séparation de ces étalons en faisant varier la composition de la phase mobile CH₃CN/H₂O.

Le Tableau 3-3 nous donne l'ordre d'élution de l'atrazine et de ses produits de dégradation en fonction de la composition de la phase mobile.

Tableau 3-3 L'ordre d'élution de l'atrazine et de ses métabolites

Soluté	Ordre de d'élution			
	Composition de la phase mobile (Acetonitrile/eau)			
	50/50	30/70	10/90	Gradient ⁵
1. Atrazine déséthyl désisopropyl	2	2	1	1
2. Atrazine désisopropyl- 2hydroxy	1	1	2	2
3. Atrazine désisopropyl	3	3	3	3
4. Atrazine déséthyl	4	5	4	4
5. Atrazine –2hydroxy	5	4	5	5
6. Atrazine	-	6	6	6

⁵ Les composés 1, 2, 3, 4, élués en (10/90 CH₃CN / Eau) et 5, 6 en (30/70 CH₃CN / Eau).

Nous pouvons relever dans ce cas une inversion de position entre le composé (1) et (2) et entre le (4) et (5) en passant dans la composition de la phase mobile de 10%, 30% à 50% en acétonitrile.

Le nombre de plateaux théorique a été calculé pour chaque étalon en fonction de la composition de la phase mobile (tableau 3-4).

Tableau 3-4 Variation du nombre de plateaux théoriques (5) en fonction de la composition de la phase mobile

Soluté	Nombre de plateaux			
	Composition de la phase mobile (acétonitrile/eau)			
	50/50	30/70	10/90	Gradient ⁶
1. Atrazine déséthyl désisopropyl	4303	490	891	1787
2. Atrazine désisopropyl 2-hydroxy	973	443	778	1421
3. Atrazine désisopropyl	566	856	943	3078
4. Atrazine déséthyl	600	1318	1639	3593
5. Atrazine 2-hydroxy	686	544	1123	34355
6. Atrazine	-	2694	1842	18623

On peut relever de ce tableau les points suivants :

- Le nombre de plateaux théoriques varie avec la composition de la phase mobile pour chaque soluté,
- La phase mobile qui donne le plus grand nombre de plateaux est la phase graduée.

Le Tableau 3-5 montre la variation du facteur de sélectivité (3) en fonction de la composition de la phase mobile.

⁶ Les composés 1, 2, 3, 4, élués en (10/90 CH₃CN / Eau) et 5, 6 en (30/70 CH₃CN / Eau).

Tableau 3-5 Variations du facteur de sélectivité

Sélectivité	Composition de la phase mobile (Acetonitrile/eau)			
	50/50	30/70	10/90	Gradient ¹
α 1-2	1,05	1,11	1,43	1,23
α 2-3	1,36	1,56	1,63	2
α 3-4	1,09	1,26	1,53	1,56
α 4-5	1,07	1,04	2,43	1,49
α 5-6	-	2,44	1,94	1,10

La sélectivité dans le gradient d'élution est plus proche à celle obtenue dans la phase mobile 10/90 en mode isocratique.

Le Tableau 3-6 donne les variations du facteur de la résolution (4) en fonction de la composition de la phase mobile

Tableau 3-6 Variations du facteur de résolution

Résolution	Composition de la phase mobile (Acétonitrile/eau)			
	50/50	30/70	10/90	Gradient ⁷
R12	0,18	0,13	0,82	0,96
R23	0,94	0,8	1,21	2,81
R34	0,22	0,45	1,39	2,37
R45	0,17	0,1	2,66	5,85
R56	-	0,3	2,66	1,58

Nous remarquons que la résolution est globalement meilleure avec le gradient d'élution.

⁷ Les composés 1, 2, 3, 4, élués en (10/90 CH₃CN / Eau) et 5, 6 en (30/70 CH₃CN / Eau).

Comme dans la chromatographie gaz, l'élution des composés est décrite par le temps de rétention et le facteur de capacité K' , qui dépend de la nature chimique de la composition et du débit de la phase mobile [22].

Le tableau 3-7 donne la variation du temps de rétention et le facteur de capacité(2) en fonction de la composition de la phase mobile

Tableau 3-7 Variations du temps de rétention et du facteur de capacité

Soluté	Composition de la phase mobile (Acétonitrile/Eau)							
	50/50		30/70		10/90		Gradient ¹	
	tr	K'	tr	K'	tr	K'	tr	K'
1. Atrazine déséthyl désisopropyl	3,28	1,73	4,27	1,90	5,92	3,85	6,34	4,76
2. Atrazine désisopropyl 2-hydroxy	3,12	1,60	3,99	1,71	7,98	5,54	7,54	5,85
3. Atrazine désisopropyl	4,46	2,72	5,84	2,97	12,28	9,06	13,87	11,60
4. Atrazine déséthyl	4,9	3,08	7,26	3,93	18,22	13,93	20,98	18,07
5. Atrazine 2-hydroxy	5,24	3,37	7,01	3,76	42,57	33,89	37,07	32,7
6. Atrazine	-	-	15,57	9,59	81,55	65,84	40,94	36,21

Le gradient a donné une bonne séparation avec des temps de rétentions suffisamment courts.

3. Conclusion

Les résultats obtenus par cette technique chromatographique, nous permettent de noter les points suivants :

- ◆ La composition de la phase mobile qui sépare le mieux les six composés injectés suivant le temps de rétention est la 10% en acétonitrile et 90% en eau. On a choisi le gradient d'élution afin d'accélérer plus l'élution des deux derniers composés.

- ◆ Les composés les moins encombrés sortent en premier c'est le cas de l'atrazine désisopropyl déséthyl qui sort avant l'atrazine désisopropyl puis l'atrazine déséthyl et cela par rapport aux groupements R1 et R2, mais par rapport au groupement X, l'atrazine 2-hydroxy sort avant l'atrazine.

4. Mélange des étalons

Afin qu'il y ait le moins d'erreur sur les données de rétention, nous avons préféré injecter le mélange de tous les étalons en gradient de solvants (Tableau 3-8), et cela à chaque injection d'échantillon.

Ainsi, le mélange d'étalons a été injecté trois fois en HPLC comme le montre le tableau suivant :

Tableau 3-8 : Temps de rétention et facteur de capacité du mélange d'étalons

Soluté	Date : 12/01/03 Heure : 09:46:30		Date : 14/01/03 Heure : 09:18:30		Date : 15/01/03 Heure : 11:50:50	
	tr	K'	tr	K'	tr	K'
1) Atrazine déséthyl désisopropyl	6,34	4,76	6,53	4,93	6,57	4,97
2) Atrazine désisopropyl 2-hydroxy	7,54	5,85	-	-	8,01	6,28
3) Atrazine désisopropyl	13,87	11,60	14,56	12,23	14,74	12,4
4) Atrazine déséthyl	20,98	18,07	21,67	18,3	22,32	19,29
5) Atrazine 2-hydroxy	37,07	32,7	37,57	33,15	37,62	33,2
6) Atrazine	40,94	36,21	41,7	36,90	42,06	37,23

Nous pouvons relever les remarques suivantes :

- L'atrazine totalement désalkylée sort en premier, elle est donc la moins retenue,
- Lorsque le groupement hydroxyle remplace le chlore, la rétention diminue ; c'est le cas de l'atrazine désisopropyl 2-hydroxy ($t_R = 7,54$) et l'atrazine désisopropyl ($t_R = 13,87$) ; donc le chlore retient plus la molécule que le groupement hydroxyle,
- L'atrazine déséthyl est plus retenue que l'atrazine désisopropyl ; donc le groupement isopropyl retient plus la molécule que l'éthyl.

- L'atrazine 2-hydroxy sort avant l'atrazine donc comme remarqué ci-dessus, le chlore retient plus que le groupement hydroxyle. La différence des temps de rétentions et le facteur de capacité entre ces deux produits sont :

$$\Delta t_{r4-3} = 3,87 ; 4,13 ; 4,44$$

$$\Delta K'_{4-3} = 3,51 ; 3,75 ; 4,03$$

- Cette dernière constatation peut être exploitée pour prévoir dans les mêmes conditions des temps de rétention des produits de dégradations non injectés (voir le tableau 3-9).

Tableau 3-9 Temps de rétention et facteur de capacité des produits de dégradation non injectés

Soluté	Date : 12/01/03 Heure : 09:46:30		Date : 14/01/03 Heure : 09:18:30		Date : 15/01/03 Heure : 11:50:50	
	tr	K'	tr	K'	tr	K'
1) Atrazine déséthyl désisopropyl 2-hydroxy	2,47	1.25	2,40	1.18	2,13	0,94
2) Atrazine déséthyl 2-hydroxy	17,11	14,55	17,54	14,95	17,88	15.25

La figure 3-2 nous donne le chromatogramme des mélanges étalon injectés en phase graduée.

Après avoir caractérisé les dérivés de l'atrazine (disponibles et non disponibles) par leurs temps de rétention t_r et coefficient de capacité K' , nous passons à la 3^e partie de ce chapitre qui concerne le suivi de la dégradation de l'atrazine dans différents milieux.

Les pics :

1 : Atrazine desethyl desisopropyl,

2 : Atrazine desisopropyl2-hydroxy,

3 : Atrazine desisopropyl,

4 : Atrazine desethyl,

5 : Atrazine 2-hydroxy,

6 : Atrazine,

* : une impureté qui accompagne
l'atrazine 2-hydroxy.

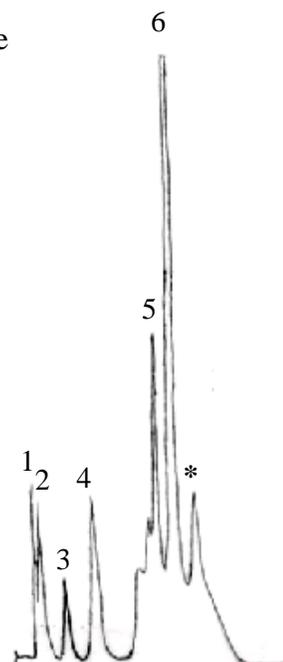


Figure 3-2 : Chromatogramme du mélange d'étalons obtenus par HPLC

III- Suivi de la dégradation de l'atrazine dans différents milieux

1. Matériel et méthode

Les expériences ont été réalisées avec des étalons Riedel-deHaën purs nommés ci-dessous :

Atrazine désisopropyl (96,1%) ; Atrazine 2-hydroxy (94,7%) ; Atrazine déséthyl (99,9%) ; Atrazine déséthyl désisopropyl (98,3%) ; Atrazine désisopropyl 2-hydroxy (95,4%).

Et Atrazine pur (Chrompack).

La détermination des triazines par HPLC est souvent précédée par une extraction et concentration de l'échantillon.

Extraction liquide-liquide LLE

La méthode d'extraction liquide-liquide LLE utilisée est une méthode traditionnelle ; elle est très utilisée et est considérée souvent comme celle donnant les résultats les plus fiables [23].

L'inconvénient de cette méthode est l'utilisation d'un grand volume de solvant qui est en général toxique et inflammable.

Les solvants organiques généralement utilisés sont le dichlorométhane, l'acétone, l'hexane, l'acétate d'éthyle et le chloroforme.

Le tableau 3-10 regroupe les principaux travaux effectués par cette technique sur les pesticides en particulier sur l'atrazine dans l'eau et le sol.

L'analyse des traces d'atrazine et/ou de ses métabolites par HPLC est donnée dans le tableau 3-10, en référence à la littérature.

Tableau 3-10 Les méthodes d'analyse réalisées pour la détection de l'atrazine et de ses métabolites

Molécule étudiée	Conditions opératoires	Applications	Réf.
- Atrazine - Atrazine déséthyl desisopropyl 2-hydroxy (MET) - Atrazine 2-hydroxy	Colonne charcoal packed $\lambda = 220\text{nm}$ Phase mobile: Acetonitrile/phosphate Buffer (60/40) Débit = 1ml min ⁻¹	Détermination des triazines à partir du sol	23
- Atrazine - Atrazine desisopropyl (DEA) - Atrazine déséthyl (DIA)	Colonne Spherisorb ODS-2 (20×0,46cm I.D, 5 μm particule size) $\lambda = 240\text{nm}$ Phase mobile : Methanol/eau acidifiée (en gradient d'élution) Débit = 1ml/mn	Détermination des pesticides dans l'eau de rivière	24
Atrazine déséthyl	Colonne : 25cm × 4,6 mm I.D packed with 5 μm octylsilica gel Phase mobile: Acetonitrile/eau HPLC (en gradient d'élution) $\lambda = 215\text{nm}$ Débit de 1ml/mn	Détermination des pesticides dans les eaux souterraines	25
Atrazine	Colonne : Zorbax B-C ₁₈ S156 × 4,6mm, 3,5 μm Phase mobile : Acetonitrile/eau purifiée $\lambda = 220\text{-}240\text{nm}$ Débit de 1-2ml/mn	Détermination des herbicides dans l'eau potable	26

2. Résultats et discussions

Les échantillons obtenus sont injectés en HPLC dans les conditions chromatographiques optimisées, les résultats obtenus apparaissent dans les figures 3-(3, 4, 5, 6), un mélange d'étalons purs a été également injecté dans les mêmes conditions (Figure 3-2) pour la comparaison des temps de rétention.

a. Atrazine seule sous ensoleillement

Le tableau 3-11 nous donne les résultats d'analyse par HPLC de l'atrazine seule après 15 jours et 90 jours d'ensoleillement (Figure 3-3).

Tableau 3-11 Temps de rétention et pourcentage de l'atrazine et de ses métabolites

Soluté	tr Mélange étalon	Après 15 jours		Après 3 mois	
		tr	%	tr	%
1) Atrazine déséthyl désisopropyl 2-hydroxy	2,40	-	-	2,54	1,1
2) Atrazine déséthyl désisopropyl	6,53	6,48	0,51	6,93	0,06
3) Atrazine désisopropyl 2-hydroxy	-	7,00	0,23	7,57	0,14
4) Atrazine désisopropyl	14,56	14,18	0,54	-	-
5) Atrazine déséthyl	21,67	21,35	1,22	-	-
6) Atrazine 2-hydroxy	37,57	38,02	8,24	34,63	16,14
7) Atrazine	41,7	41,7	64,01	39,08	44,76

A partir du tableau 3-11, nous pourrions tirer les remarques suivantes :

- Le pourcentage de l'atrazine diminue de 64,01 % (après 15 jours) à 44,76 % (après 90 jours),
- L'atrazine 2-hydroxy est le principal produit de dégradation et qui augmente de 8,24 % (après 15 jours) à 16,14 % (après 90 jours),

- L'atrazine désisopropyl et l'atrazine déséthyl apparaissent avec un pourcentage respectivement de 0,54 % et 1,22 % puis disparaissent après 90 jours,

- Apparition d'un pic à 2,54 qui correspondrait à l'atrazine déséthyl désisopropyl 2-hydroxy à un pourcentage relativement important de 1,1 %.

Les pics :

1 : Atrazine desethyl desisopropyl,

5 : Atrazine 2-hydroxy,

2 : Atrazine desisopropyl2-hydroxy,

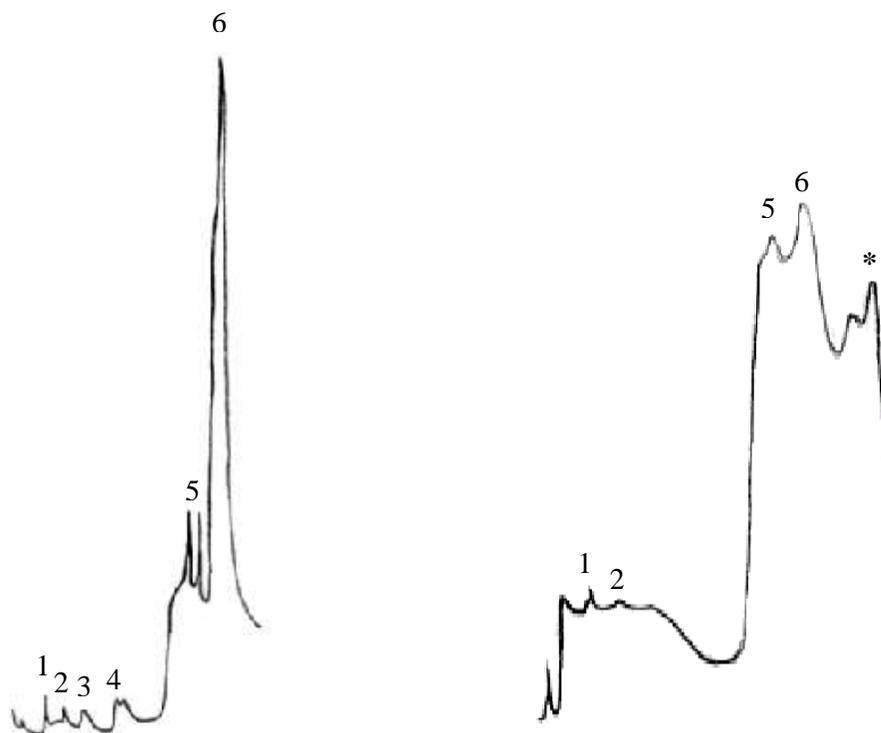
6 : Atrazine,

3 : Atrazine desisopropyl,

* : une impureté qui accompagne

4 : Atrazine desethyl,

l'atrazine 2-hydroxy.



**Chromatogramme de la dégradation
de l'atrazine seule après 15 jours**

**Chromatogramme de la dégradation
de l'atrazine seule après 3 mois**

Figure 3-3 Chromatogrammes de la dégradation de l'atrazine seule après 15 et 90 jours
obtenus par HPLC

b. Atrazine dans l'eau distillée sous ensoleillement

Le tableau 3-12 nous donne les résultats d'analyse par HPLC de l'atrazine dans l'eau distillée sous ensoleillement (Figure 3-4).

Tableau 3-12 Temps de rétention et pourcentage de l'atrazine et de ses métabolites

Soluté	tr Mélange étalon	Après 15 jours		Après 3 mois	
		tr	%	tr	%
1. Atrazine déséthyl désisopropyl	6,34	6,38	0,41	6,37	0,05
2. Atrazine désisopropyl 2-hydroxy	7,54	7,57	0,17	7,95	0,15
3. Atrazine désisopropyl	13,87	14,1	0,40	14,02	0,09
4. Atrazine déséthyl	20,98	21,36	0,91	21,2	0,09
5. Atrazine 2-hydroxy	37,07	37,52	19,95	37,01	16,5
6. Atrazine	40,94	42,16	40,49	41,74	37,37

- Le pourcentage de l'atrazine diminue de 40,49 % (après 15 jours) à 37,37 % (après 90 jours),
- Comme dans l'atrazine seule, il y'a un pourcentage relativement important en atrazine 2-hydroxy 19,95 % (après 15 jours) et 16,5 % (après 90 jours),
- Dans le cas de l'atrazine déséthyl désisopropyl, de l'atrazine désisopropyl et de l'atrazine déséthyl, leurs pourcentages diminuent fortement après 90 jours,
- L'atrazine désisopropyl 2-hydroxy reste pratiquement constant 0,17 % (après 15 jours) et 0,15 % (après 90 jours).

Les pics :

1 : Atrazine desethyl desisopropyl,

5 : Atrazine 2-hydroxy,

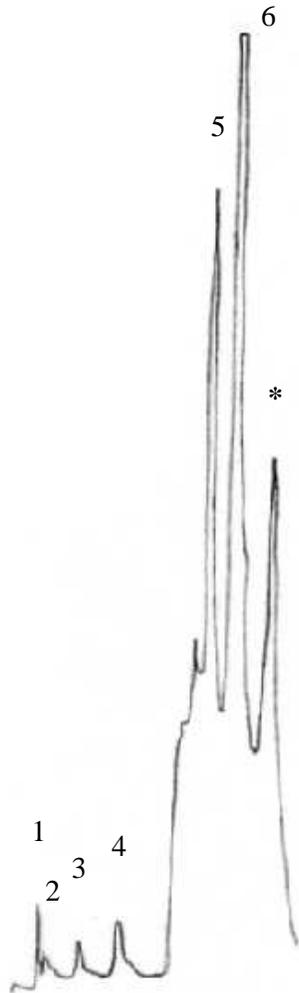
2 : Atrazine desisopropyl2-hydroxy,

6 : Atrazine,

3 : Atrazine desisopropyl,

* : une impureté qui accompagne l'atrazine 2-hydroxy.

4 : Atrazine desethyl,



**Chromatogramme de la dégradation
de l'atrazine dans l'eau distillée
après 15 jours**



**Chromatogramme de la dégradation
de l'atrazine dans l'eau distillée
après 3 mois**

Figure 3-4 Chromatogrammes de la dégradation de l'atrazine dans l'eau distillée après 15 et 90 jours obtenus par HPLC

c. Atrazine dans l'eau de robinet sous ensoleillement

Le tableau 3-13 donne les résultats d'analyse par HPLC de l'atrazine dans l'eau de robinet sous ensoleillement (figure 3-5).

Tableau 3-13 : Temps de rétention et pourcentage de l'atrazine et de ses métabolites

Soluté	tr Mélange étalon	Après 15 jours		Après 3 mois	
		tr	%	tr	%
1. Atrazine déséthyl désisopropyl	6,34	6,26	0,08	6,52	0,03
2. Atrazine désisopropyl 2-hydroxy	7,54	8,11	0,26	7,82	0,26
3. Atrazine désisopropyl	13,87	13,54	0,1	-	-
4. Atrazine déséthyl	20,98	20,32	0,15	20,93	0,26
5. Atrazine 2-hydroxy	37,07	35,66	16,16	36,81	24,9
6. Atrazine	40,94	43,73	34,53	40,84	24,97

A partir du tableau ci-dessous, nous tirons les remarques suivantes :

- Le pourcentage de l'atrazine diminue de 34,53 % (après 15 jours) à 24,97 % (après 90 jours),
- L'augmentation remarquée pour l'atrazine 2-hydroxy 24,9 % (après 90 jours) est plus grande que dans l'eau distillée 16,5 % (après 90 jours),
- L'atrazine déséthyl augmente de 0,15 % (après 15 jours) à 0,26% (après 90 jours) ceci est plus important dans l'eau de robinet que dans l'eau distillée,
- Globalement, on peut remarquer que l'atrazine se dégrade plus facilement dans l'eau de robinet que dans l'eau distillée, ceci serait dû à la présence d'oligo-éléments et d'éléments minéraux dans l'eau de robinet par rapport à l'eau distillée.

Les pics :

1 : Atrazine desethyl desisopropyl,

2 : Atrazine desisopropyl2-hydroxy,

3 : Atrazine desisopropyl,

4 : Atrazine desethyl,

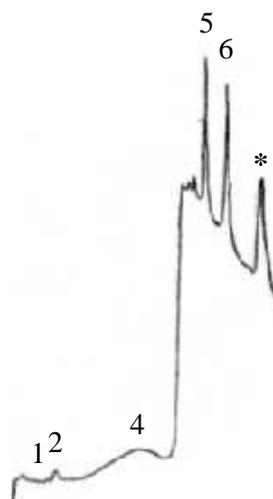
5 : Atrazine 2-hydroxy,

6 : Atrazine,

* : une impureté qui accompagne l'atrazine 2-hydroxy.



Chromatogramme de la dégradation de l'atrazine dans l'eau de robinet après 15 jours



Chromatogramme de la dégradation de l'atrazine dans l'eau de robinet après 3 mois

Figure 3-5 Chromatogrammes de la dégradation de l'atrazine dans l'eau de robinet après 15 et 90 jours obtenus par HPLC

d. Atrazine dans le maïs sous ensoleillement

Le tableau 3-14 nous donne les résultats d'analyse par HPLC de l'atrazine dans le maïs sous ensoleillement (Figure 3-6).

Tableau 3-14 Temps de rétention et pourcentage de l'atrazine et de ses métabolites

Soluté	tr Mélange étalon	Après 15 jours		Après 3 mois	
		tr	%	tr	%
1. Atrazine déséthyl désisopropyl	6,57	-	-	-	-
2. Atrazine désisopropyl 2-hydroxy	8,01	7,86	0,15	7,86	0,20
3. Atrazine désisopropyl	14,74	-	-	-	-
4. Atrazine déséthyl	22,32	-	-	-	-
5. Atrazine 2-hydroxy	37,62	38,38	26,96	36,40	71,30
6. Atrazine	42,06	43,66	39,48	40,59	7,54

- L'atrazine diminue de 39,48 % à 7,54 % pour une période qui s'étale de 15 à 90 jours,

- Le produit de dégradation de l'atrazine 2-hydroxy augmente de 26,96 % à 71,3 % de 15 à 90 jours, c'est le plus grand pourcentage remarqué,

- Obtention de l'atrazine désisopropyl 2-hydroxy qui augmente également de 0,15 % (15 jours) à 0,2 % (90 jours).

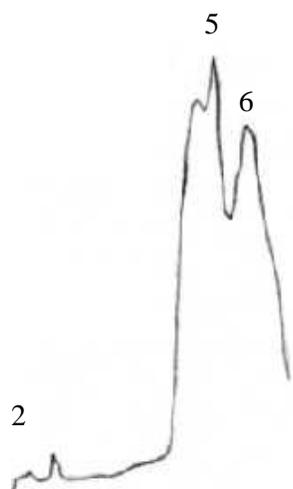
Les pics :

2 : Atrazine desisopropyl-2-hydroxy,

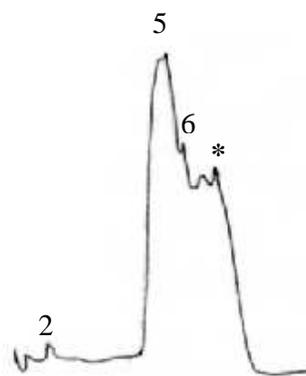
5 : Atrazine 2-hydroxy,

6 : Atrazine,

* : une impureté qui accompagne l'atrazine 2-hydroxy.



**Chromatogramme de la dégradation
de l'atrazine dans le maïs
après 15 jours**



**Chromatogramme de la dégradation
de l'atrazine dans le maïs
après 3 mois**

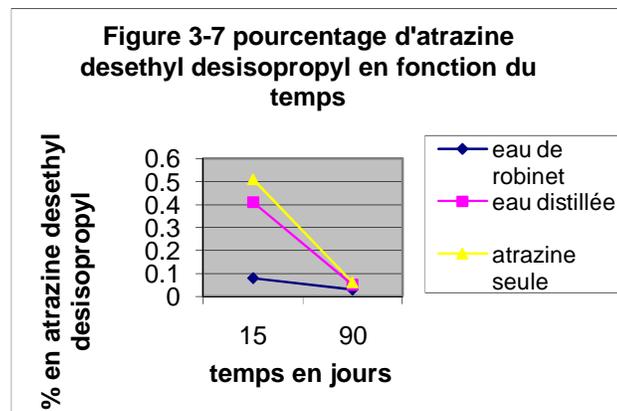
Figure 3-6 Chromatogrammes de la dégradation de l'atrazine dans le maïs
après 15 et 90 jours obtenus par HPLC

Conclusion

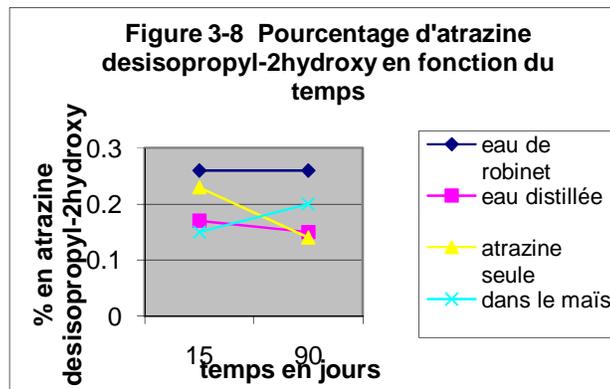
Les connaissances actuelles sur l'évolution des triazines dans les compartiments sol et eau de l'environnement permettent de décrire les processus de dégradation sur le plan qualitatif, mais ne permettent pas encore de conclure dans le cas général quant à leur importance quantitative.

L'atrazine, dont le prix est particulièrement attractif depuis la fin de validité de son brevet, reste, malgré ses imperfections, le produit de base en matière de désherbage du maïs [8].

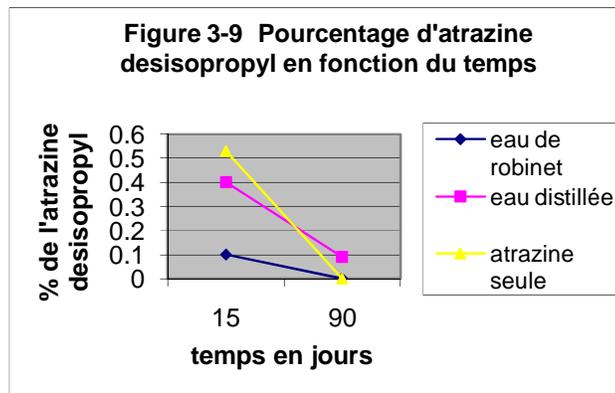
Dans les figures qui suivent 3-(7, 8, 9, 10, 11, 12), on donne une représentation graphique du comportement des différents métabolites dans les quatre milieux : l'eau distillée, l'eau de robinet, seule et dans le maïs.



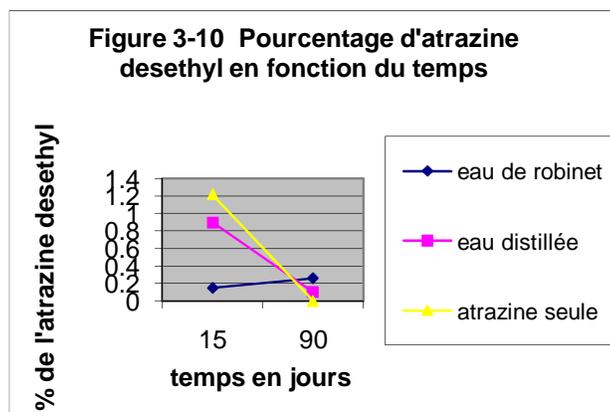
L'atrazine déséthyl desisopropyl diminue dans les trois milieux



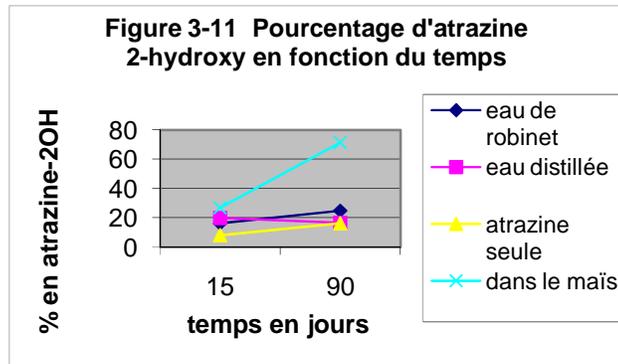
L'atrazine desisopropyl-2 hydroxy diminue dans l'eau distillée et l'atrazine seule
 Il est stable dans l'eau de robinet et augmente dans le maïs



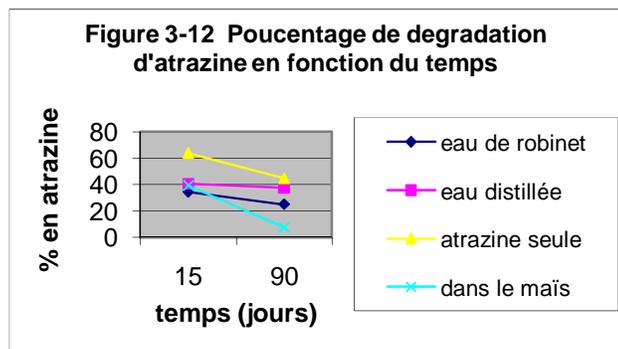
L'atrazine desisopropyl diminue dans les trois milieux



L'atrazine déséthyl diminue dans l'eau distillée et l'atrazine seule
 et augmente dans l'eau de robinet



L'atrazine-2hydroxy augmente sauf dans l'eau distillée ou il reste stable



L'atrazine diminue dans les quatre milieux

CONCLUSION GENERALE

Ce travail nous a permis avant tout de nous familiariser aux techniques d'extraction des herbicides et à la chromatographie liquide à haute performance HPLC.

En premier lieu, nous avons essayé d'améliorer la séparation en HPLC de l'Atrazine et de ses cinq produits de dégradation en faisant varier la composition de la phase mobile (CH₃CN/H₂O).

Il s'est ainsi avéré que le gradient d'élution a donné une bonne séparation des six échantillons, lesquels ont été caractérisés aussi bien par leurs t_r que leurs K'.

Nous nous sommes intéressés en second lieu au suivi de la dégradation de l'Atrazine sous ensoleillement durant 15 jours et 90 jours.

Ainsi, quatre cas ont été adoptés :

1. l'Atrazine seule,
2. l'Atrazine dans l'eau distillée,
3. l'Atrazine dans l'eau de robinet,
4. l'Atrazine dans le maïs.

La dégradation de l'Atrazine en fonction du temps a été la plus importante dans le maïs (-31,94 %) ensuite dans l'Atrazine seule (-19,25 %), puis dans l'eau de robinet (-0,56 %) et enfin dans l'eau distillée (-3.12 %).

Par comparaison des temps de rétention obtenus après 15 et 90 jours dans les quatre cas cités ci-dessus, avec les étalons des produits de dégradation injectés dans les mêmes conditions, il s'est avéré que l'Atrazine 2-hydroxy est le plus important produit de dégradation ; comme le montre le tableau ci-après :

Milieux traités avec l'Atrazine				
	Maïs	Eau de robinet	Seule	Eau distillée
Diminution du % en Atrazine entre 15 et 90 jours	-31,94	-9,56	-19,25	-3,12
Augmentation du % en Atrazine 2-hydroxy entre 15 et 90 jours	+44,34	+8,74	+7,9	-3,45

Par conséquent, la dégradation de l'Atrazine est beaucoup plus d'origine photochimique puisqu'elle a conduit à l'obtention majoritaire du métabolite hydroxylé que biologique puisqu'elle a conduit à des pourcentages très faibles en métabolites désalkylés «www.agpn.com».

Il serait intéressant par la suite d'effectuer des analyses utilisant le couplage LC/MS pour confirmer l'identité des produits de dégradation et de mener également des analyses quantitatives plus précises sur des temps de dégradation plus longs.

BIBLIOGRAPHIE

Références Bibliographiques

1. www.agr.gc.ca.html
2. Z. Baba Amer, « Analyse d'une famille d'herbicide Triazines par FT/IR ET GC/MS, Application à la recherche de polluants organiques dans un puits d'EL ATTEUF (GHARDAÏA) », Thèse de magister, 2001, Université de OUARGLA.
3. Glauca Maria F.Pinto, Isabel Cristina S.F. Jardim, J. Chromatogr. A, 869, 2000, p 436-469.
4. A Keddad, « Analyse de quelques herbicides par (HPLC) et (CPG). Suivi de la dégradation de l'Atrazine et de la Simazine dans le sol », Mémoire d'Ingénieur, 2001, USTHB.
5. www.epa.gov
6. www.amisdubochet.free.fr
7. www.medvet.umontreal.ca
8. www.phytoweb.fgov.be
9. www.hc-sc.gc.ca
10. www.uvp5.univ-paris5.fr
11. C.Hidalgr, J.V.Sancho, F.Hernandez, Anal. Chim. Acta 338, 1997, 223.
12. www.coordinationrurale.fr
13. www.villes-rennes.fr
14. www.gene.ch
15. Maria E. Baez, Manuel Rodriguez, Olga Lastra, and Paolo Contreras, J. High Resol. Chromatogr, Vol.20, 1997, p 591.
16. www.61.com
17. www.rexheim.com
18. J. Rodier, « Analyse de l'eau », 1992.

19. C. Charreteur, J.M. Huet, J.J. Peron, CL Madec, *Analisis* 26, 1998, p 8.
20. R. Rosset, M. Caude, A. Jardy, « Manuel pratique de chromatographie en phase liquide », 2^e édition Masson, 1982.
21. Bashir M. MAhara, J. Borossay, and K. Torkos, *Microchemical, Journal* 58, 1998, p 31.
22. *Codex General Tests and Assays*, 1996, p 734.
23. S. Papilloud, W. Haerdi, *Chromatographia*, Vol. 38, N° 7/8, 1994.
24. C. Aguilar, I. Ferrer, F. Borrull, R.M. Marce, D. Barcelo, *Anal Chim Acta*, p 386, 1999.
25. I. Ferrer, D. Barcelo, *J. Chromatogr. A*, 778, 1997.
26. G.R. Mills, *J. Chromatogr. A*, 813, 1998.
27. R. Scalla, « Les herbicides mode d'action et principe d'utilisation », édition INRA, France, 1991.