



HAL
open science

ÉVALUATION DU TRANSFERT DES POLLUANTS ORGANOSTANNIQUES DANS LE SYSTÈME SOL – PLANTE À PARTIR DE L'ÉPANDAGE DE BOUE DE STATION D'ÉPURATION

Christophe Marcic

► **To cite this version:**

Christophe Marcic. ÉVALUATION DU TRANSFERT DES POLLUANTS ORGANOSTANNIQUES DANS LE SYSTÈME SOL – PLANTE À PARTIR DE L'ÉPANDAGE DE BOUE DE STATION D'ÉPURATION. Autre. Université de Pau et des Pays de l'Adour, 2005. Français. NNT: . tel-00012183

HAL Id: tel-00012183

<https://theses.hal.science/tel-00012183>

Submitted on 27 Apr 2006

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



UNIVERSITE DE PAU ET DES PAYS DE L'ADOUR

Ecole Doctorale des Sciences Exactes et de leurs Applications

N°05|P|A|U|U|3|0|2|7|

THESE

pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE PAU ET DES PAYS DE L'ADOUR

Spécialité : Environnement et matériaux

Présentée et soutenue

par

Christophe MARCIC

Le 28 octobre 2005

**Evaluation du transfert des polluants organostanniques dans le système
sol – plante à partir de l'épandage de boue de station d'épuration**

Directeur de Thèse :

Mme Gaëtane LESPES, Professeur, Université de Pau et des Pays de l'Adour

Commission d'examen :

Mme C. KELLER (Rapporteur)	Professeur à l'Université Paul Cézanne Aix-Marseille III
M. A. BERMOND (Rapporteur)	Professeur à l'Institut National Agronomique Paris-Grignon
Mme M. POTIN-GAUTIER	Professeur à l'Université de Pau et des Pays de l'Adour
Mme L. DENAIX	Chargé de Recherche à l'INRA de Bordeaux
Mme I. LE HECHO	Maître de conférences à l'Université de Pau et des Pays de l'Adour
Mme G. LESPES	Professeur à l'Université de Pau et des Pays de l'Adour

Invité à la commission d'examen

M. A. BISPO	Ingénieur ADEME
-------------	-----------------

« Nous n'héritons pas la terre de nos parents, nous l'empruntons à nos enfants »
Antoine de Saint-Exupéry

RESUME

Les organoétains sont présents dans tous les compartiments environnementaux et représentent ainsi un risque pour les écosystèmes, compte tenu de leur toxicité et de leur action biocide non spécifique. Le but de la thèse était de comprendre leur réactivité et leur dynamique dans le système boue / sol / plante afin d'évaluer les risques liés à l'épandage de boue de station d'épuration contaminées par ces composés, pour les productions agricoles. Pour cela, une méthode analytique simple capable de détecter de faibles concentrations en organoétains rencontrées dans l'environnement et de conserver la spéciation a été mise au point. Une évaluation de l'influence de plusieurs paramètres comme le pH ou les concentrations en contaminants sur leur spéciation et leur dégradation a ainsi été réalisée. Plusieurs voies d'apport du contaminant, telles que de la boue dopée ou directement par des solutions d'organoétains ont été testées. Il apparaît que le TBT montre une persistance très grande dans le sol par rapport au TPhT. Une étude cinétique de sorption a permis de déterminer l'affinité de la boue pour le TBT, une quantité importante de sites de surface ainsi que la répartition solide – liquide du contaminant. Enfin le transfert des organoétains au végétal a pu être mis en évidence par l'identification de plusieurs facteurs influençant ce transport. La détermination de la répartition dans les parties constitutive de la plante a été réalisée et une approche des mécanismes de transfert décrite. L'ensemble de ces résultats met en évidence la dépendance entre les conditions de cultures, la rémanence des organoétains dans le sol et le niveau de contamination des légumes récoltés. La présence des organoétains dans les boues et les sols représente donc un risque non négligeable pour les cultures et donc pour la santé humaine.

Mots-clés : organoétains, boue de station d'épuration, spéciation, sorption, sol, végétaux cultivés, prélèvement, extraction, cinétique, dégradation.

ABSTRACT

Organotin compounds (OTC) are of anthropogenic sources. They are employed in many industrial, agricultural or domestic products. Their presence in the entire environment is now largely highlighted. Due to their toxicity and their non specific biocide action, OTC represent a risk for eco- and agro-systems. The aim of this thesis was to acquire information to understand the OTC fate in the sewage sludge / soil / plant system and to evaluate the risk lined to the contaminated sludge amendment. This represents a major stake in the quality of soil, water and agricultural crops.

To begin with this work, analytical development of the OTC extraction step from vegetal was achieved. Afterwards, complementary steps were undertaken in order to evaluate the role of the sewage sludge in OTC fate.

TBT sorption kinetic onto the sludge was studied and leaching tests were performed on TBT and TPhT spiked sludge. It highlighted the high affinity of the sludge for the TBT and the sludge capacity to sorb these two triorganotins. Then, OTC speciation in sludge / soil / plant system was assessed. Influence of the pH, initial OTC concentration and sludge quantity mixed with soil were studied. Positive influence of the sludge was pointed out on TBT preservation. TPhT, more exchangeable at the sludge / water interface, appears less persistent. Soil initial pH has an influence on the OTC bioavailability on condition that their concentrations in soil are high. OTC transfer from amended soil to plant was demonstrated by different vegetal cultures. Thus, the plant uptake is emphasized. It is largely dependant on plant nature, its growth, climatic condition and OTC nature. Potato tubers are largely more contaminated than lettuce and French beans. OTC uptake could be explained by passive transport with convective flux. Their accumulation in roots could be the consequence of a sorption phenomenon on the extern root tissue in contact with the soil. These data highlight that sludge play a “well” role after its soil amendment. This practice represents then a real risk for soil and crop quality and, in general, for water / soil / plant system.

Keywords: organotins, speciation, sewage sludge, soil, persistence, sorption, vegetal, plant uptake.

REMERCIEMENTS

Les recherches présentées dans ce mémoire ont été réalisées au Laboratoire de Chimie Analytique BioInorganique et Environnement de l'Université de Pau et des Pays de l'Adour dans le cadre d'un cofinancement de l'Agence De l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie et du Conseil Régional d'Aquitaine.

Arrivant au terme de ce travail, je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance à toutes les personnes qui m'ont apporté leur soutien durant ces quelques années paloises.

Olivier DONARD, directeur du LCABIE, m'a accueilli au sein du LCABIE et Martine POTIN-GAUTIER, professeur à l'UPPA, m'a accueilli dans son équipe de Chimie Analytique et a présidé la commission d'examen devant laquelle a été soutenue cette thèse. Qu'ils trouvent ici l'expression de ma respectueuse gratitude.

Je remercie Gaëtane LESPES pour avoir dirigé ma thèse ainsi que pour ses conseils, son soutien, sa disponibilité, sa foi dans mon projet, sa longue patience, ses corrections. Elle a su attendre, suivre et aimer, étape après étape, mon travail dans sa durée.

Je suis très reconnaissant à Isabelle LE HÉCHO, maître de conférence, pour son encadrement, pour son implication dans mon travail et pour son positivisme. Ma reconnaissance va également à mon encadrante bordelaise, Laurence DENAIX, chargée de recherche à l'INRA, qui a repris ma thèse en cours de route, pour son aide très précieuse, sa vision constructive de ma recherche et sa bonne humeur permanente. Elles m'ont également fait l'honneur de participer au jury de ma thèse.

Monsieur le Professeur Alain BERMOND (INA Paris Grignon) et Madame Catherine KELLER (CEREGE – Université d'Aix-Marseille) ont accepté d'examiner ce travail. Qu'ils trouvent ici l'expression de ma gratitude pour l'honneur qu'ils m'ont fait en acceptant d'être rapporteurs et en se déplaçant jusqu'à Pau pour assister à la soutenance malgré leur emploi du temps très chargé ou leur nouveau-né.

Mes remerciements vont également aux partenaires financier de ses travaux : Monsieur Antonio BISPO et à travers lui l'ADEME et le Conseil Régional d'Aquitaine. Je remercie également les fournisseurs de matières premières (sol, plantes, boue) que sont l'INRA de Bordeaux et la société EPURETEC à Artix.

Je ne saurais oublier de remercier Chrystelle BANCON-MONTIGNY, notre référence en organoétains, pour son sourire, sa gentillesse, sa patience, sa disponibilité et ses formations à l'analyse en GC-PFPD. Je tiens également à remercier très sincèrement tout le personnel de l'INRA de Bordeaux (Sylvie, Cécile, Valérie, ...) qui ont pris soin de mes laitues et mes haricots verts et pour leur aide très précieuse lors des différentes récoltes.

Je remercie l'ensemble du personnel et des étudiants du LCABIE qu'ils soient d'Hélioparc ou de la Fac. Un clin d'œil particulier à mon collègue et ami de tous les moments depuis que je suis à Pau, Laurent OUERDANE. Après toutes les aventures qu'on a vécues, je peux bien l'attendre tous les midis pour aller manger à l'Oasis !!!

Et je n'oublie pas les copains du « 4^{ème} » : mes deux amis de la Gae-team, Stéphane DUBASCOUX (dit monsieur Inquiet) toujours prêt pour un match de tennis en 5 sets, quelques longueurs de piscine ou plusieurs jours de Féria et Julien HÉROULT, ses blagues légendaires et sa fameuse reprise de « J'ai dix ans ». Merci aussi pour toutes les MP3 et les soirées « Urgences » du dimanche. Je citerai aussi dans ce paragraphe, Céline BOUKHELIF

qui fait partie intégrante de notre bureau. Pauline PINEL (Madame depuis peu), Stéphanie BÉTELU (et sa sœur, son frère, son cousin ...), Tea ZULIANI, ma compatriote de l'ex-Yougoslavie (Sretno za tvoje doctorat !), Jérôme FRAYRET (ah les batailles d'eau vont me manquer !), Corinne PARAT (championne de VTT), Christine GLEYZES et les nouveaux venus, Yan YVON, Elodie FOURNIER et Sébastien SANNAC. Ils ont tous contribué à mettre une bonne ambiance de travail et de détente dans ce « bureau du 4^{ème} » et j'ai vraiment apprécié venir travailler tous les jours avec vous.

Une dédicace spéciale à notre très cher Biquet (Claude GUIHAL), indispensable au laboratoire, qui a toujours répondu présent pour réparer le GC-PFPD, les ordinateurs (...) et avec qui nous avons passé de tellement bons moments (les matchs de Roland Garros, les châtaignes, les galettes des rois, Arricau, Gripp, les repas à la salle café, les observations du soleil et tout le reste).

Je remercie l'ensemble du personnel du SUAPS pour toutes les activités sportives qu'il m'a permis de pratiquer et pour m'avoir fait confiance pour les cours de snowboard et spécialement Jean-François GILLES et toute sa merveilleuse famille (Edwige, Diethlinde, Anouchka, Ludwig, Ulrika et Julien) avec qui j'ai passé de tellement bons moments (les soirées à Lourenties, les week ends à Capbreton et les sorties ski entre autres).

Je souhaiterais dire un grand MERCI à tous les gens que j'ai côtoyés durant ces 5 années à Pau qui m'ont soutenu dans mon travail, avec qui j'ai partagé des moments de fiesta, sportifs, culturels (...) et qui sont devenus des amis.

Dans le désordre, je citerai Laurent CAZENAVE, Marine POUYANNE, la Famille RIXENS, Laetitia GILLES, Fanette LAFITTE, Xavier DUBOIS et Nathalie QUIRIN, Guillaume BACKÉ et Helen, Bettina KÖBLER, Luc BALLARIN, Sylvain BORDENAVE et Julie, Anthony RANCHOU PEYRUSSE, Patrick RÉMY, Florent DESTÉING, France-Maryline SCHANDELER, Emilie ROUANET, Christophe CANTAU, Fanny LAGAN, Jérôme PAMART et tous les autres.

Pour terminer, il me reste encore à remercier mes amis strasbourgeois : Vincent GUTH, Samuel LELIÈVRE et Stéphanie CONTE, Frédéric DAUSSIN et Florine VALDENNAIRE, Yves NUSS, Laurent COLE, Bruno SCHMALTZ et Stéphanie RULHMANN, Séverine DAUSSIN. Malgré la distance (1300 km, c'est long en voiture !!!), nous avons toujours gardé le contact et je reviens toujours avec grand plaisir à Strasbourg pour partager de bons moments et j'espère, bientôt, pour célébrer quelques grands événements.

SOMMAIRE

Résumé	i
Abstract	ii
Remerciements	iii
Sommaire	v
Liste des Figures.....	xi
Liste des Tableaux.....	xiv

Introduction générale..... 1

CHAPITRE 1. LES ORGANOÉTAINS ET LE SYSTEME SOL / PLANTE 7

1. A propos des Organoétains 9

1.1. L'histoire des organoétains	9
1.2. Propriétés Physico-Chimiques	9
1.2.1 Propriétés acido-basiques	12
1.2.2 Solubilité	12
1.2.3 Hydrophobicité.....	13
1.3. Toxicité.....	13
1.3.1 Le tributylétain, TBT.....	14
1.3.2 Le triphénylétain, TPhT.....	16
1.3.3 Le tricyclohexylétain, TcHexT.....	18
1.4. Réglementation.....	19

2. Origine anthropique des organoétains dans les sols..... 21

2.1. Le sol : une interface entre le monde minéral et organique	21
2.2. Les principales voies d'apport des organoétains dans les sols.....	24
2.2.1 Les traitements à base de composés organostanniques en agriculture.....	24
2.2.2 Les boues de station d'épuration	25

3. La sorption des organoétains dans l'environnement 29

3.1. Les modèles empiriques et les processus de sorption	29
3.1.1 L'approche empirique des isothermes de sorption : le concept du K_d	30
3.1.1.1. Les isothermes linéaires.....	30
3.1.1.2. Les isothermes de Langmuir.....	30
3.1.1.3. Les isothermes de Freundlich	32
3.1.1.4. Bilan.....	32
3.1.2 Description des principaux processus de sorption.....	33
3.1.2.1. L'échange d'ions.....	33
3.1.2.2. La complexation de surface	34
3.1.2.3. L'adsorption liée au caractère hydrophobe	36
3.1.2.4. Bilan.....	36
3.1.3 La cinétique de sorption	37
3.1.3.1. Définition générale de la cinétique d'une réaction.....	37
3.1.3.2. Mécanismes réactionnels et cinétique appliqués au sol	38
3.2. La sorption des composés organostanniques dans l'environnement	40
3.2.1 Introduction	40
3.2.2 Influence du pH et de la force ionique.....	42
3.2.3 Influence de la nature du solide, de la matière organique et de la concentration en organoétains	46
3.2.4 Cinétiques et mécanismes de sorption des organoétains	48

4. Les organoétains et leurs interactions avec le monde vivant.....	51
4.1. Biodisponibilité, biotransformations et biodégradations	51
4.1.1. Biodisponibilité	51
4.1.2. Biodégradations et biotransformations	52
4.2. Les organoétains dans les végétaux	56
4.2.1. Prélèvement et accumulation des éléments dans les plantes	56
4.2.1.1. Evaluation du transfert sol-plante	56
4.2.1.2. Du sol aux racines	57
4.2.1.3. Des racines aux feuilles	60
4.2.2. Présence et conséquence des organoétains dans les végétaux	62
5. Références	64

CHAPITRE 2.

DEMARCHE EXPERIMENTALE..... 75

1. Objectifs.....	77
2. Mise en place des cultures de végétaux	79
2.1. Choix des supports d'étude : le sol, la boue et les végétaux	79
2.1.1. Le sol de Pierroton	79
2.1.2. La boue de station d'épuration	80
2.1.2.1. La boue de Clos de Hilde.....	80
2.1.2.2. La boue non contaminée	80
2.1.3. Les végétaux.....	81
2.2. Mise en place des cultures de végétaux	82
2.3. La récolte des végétaux	83
3. Méthodes analytiques.....	84
3.1. Le protocole analytique	84
3.1.1. Extraction des composés organostanniques avant analyse	84
3.1.1.1. L'Extraction Solide / Liquide (SLE).....	84
3.1.1.2. L'Extraction par Solvant Pressurisé (PSE)	85
3.1.2. Dérivation et analyse par GC-PFPD.....	86
3.2. La sorption en réacteur fermé de type Batch.....	88
3.2.1. Le pH de la solution	88
3.2.2. La force ionique.....	88
3.2.3. Le rapport sol / solution.....	89
3.2.4. Détermination du temps d'équilibre	89
3.2.5. La concentration du soluté étudié.....	90
3.2.6. Bilan	90
3.3. Titration acide-base de la boue.....	90
4. Les plans d'expériences.....	92
4.1. Présentation de la méthodologie des plans d'expériences	92
4.2. Choix de la matrice	94
4.2.1. Les plans factoriels et les plans composites centrés	94
4.2.1.1. Présentation générale	94
4.2.1.2. Applications	96
4.2.2. Les plans d'expériences de Doehlert	97
4.2.2.1. Présentation générale	97
4.2.2.2. Applications	98
5. Références.....	101

CHAPITRE 3.
COMPARAISON DES DIFFERENTES METHODES D'EXTRACTION
..... 103

Article : Pressurised Solvent Extraction for organotin speciation in vegetable matrices..... 107

Abstract 107
Keywords..... 107

1. Introduction 108

2. Materials and Methods 109

2.1. Apparatus 109
2.2. Reagents 110
2.3. Analytical procedure 111
2.3.1 vegetal materials..... 111
2.3.2 Extraction 111
2.3.3 Derivatization and analysis..... 112
2.3.4 Quantitation..... 112
2.4. Experimental design..... 112

3. Results and Discussion. 113

3.1. Preliminary experimental choices 113
3.2. Optimisation 114
3.2.1 Extracting solvent..... 114
3.2.2 Optimisation..... 118
3.2.2.1. Experimental Design..... 118
3.2.2.2. Influential factors, modelling and validation 118
3.2.2.3. Determination of optimized conditions..... 121
3.3. Analytical performances and applications 121

4. Conclusion 124

5. Acknowledgments 125

6. References..... 125

CHAPITRE 4.
DEVENIR DES OTC DANS UN SOL CULTIVE AMENDE PAR UNE
BOUE DE STATION D'EPURATION..... 127

Article A : Kinetics of Tributyltin (TBT) sorption at trace levels on a sewage sludge..... 131

Abstract 131
Keywords..... 131

1. Introduction 132

2. Materials and methods.....	134
2.1. Sludge sample and characterization	134
2.2. Reagents	134
2.3. Acidobasic TBT titrations	135
2.4. Sorption isotherms.....	135
2.5. Analysis description	136
3. Results and Discussion	138
3.1. Characteristics of sludge surface properties.....	138
3.2. Kinetic experiments and modeling of TBT sorption on sludge	138
3.2.1 First order kinetic model	139
3.2.2 Pseudo-first-order model	140
3.2.3 Pseudo-second-order model	140
3.2.4 Intra-particle diffusion parameters	141
3.3. Sorption isotherms.....	142
4. Acknowledgements	147
5. References.....	147
Article B : Organotin fate in a soil contaminated by TBT and TPhT via a sludge.....	151
Abstract	151
Keywords.....	151
1. Introduction	152
2. Materials and Methods	154
2.1. Spiked Soil Preparation procedure	154
2.2. Experiment setup.....	154
2.3. Analytical description	157
2.3.1 Extraction	157
2.3.2 Derivatisation	158
2.3.3 Quantitation.....	158
2.3.4 Apparatus	158
2.3.5 Chemicals	158
2.3.6 Analytical validation	159
2.4. Data Analysis	159
3. Results and discussion.....	160
3.1. OTC distribution between liquid and solid phases in the spiked sludge.....	160
3.2. OTC fate in the soil: speciation, temperature and time influence	163
3.3. Sludge amount and OTC concentration influence on the OTC preservation.....	166
3.4. pH influence on the OTC preservation	168
4. Conclusion	170
5. Acknowledgments	171
6. References.....	171

CHAPITRE 5.
LES OTC DANS LES VEGETAUX CULTIVES..... 177

Article : Speciation of organotins in French beans and potatoes cultivated on soils spiked with solutions or amended with a sewage sludge..... 183

Abstract 183
Keywords:..... 183

1. Introduction 184

2. Materials and methods 186

- 2.1. Apparatus 186
- 2.2. Reagents 186
- 2.3. Samples 187
- 2.4. Analytical procedure 187
 - 2.4.1 Sample extraction 187
 - 2.4.2 Derivatization 188
 - 2.4.3 Quantitation 188

3. Results and discussion 190

- 3.1. Validation of the analytical process 190
- 3.2. Speciation in plants 192
 - 3.2.1 Transfer and bioaccumulation 193
 - 3.2.2 Speciation, degradation and bioconversion 195

4. Conclusion..... 196

5. Acknowledgments 197

6. References 197

Chapitre : Cultures de végétaux sur un sol amendé par une boue de station d'épuration dopée en TBT et TPhT..... 199

1. Introduction 199

2. Approche méthodologique 199

3. Résultats et discussion..... 204

- 3.1. Transfert vers la plante 204
 - 3.1.1 Influence des paramètres physico-chimiques initiaux du sol 206
 - 3.1.2 Première approche des mécanismes de prélèvement 208
- 3.2. Répartition et spéciation des organoétains au sein des végétaux 218
 - 3.2.1 Répartition dans les différentes parties constitutives des végétaux 219
 - 3.2.2 Première approche des phénomènes de transport et stockage au sein du végétal 222
- 3.3. Influence de l'exposition aux organoétains sur les masses végétales 227

4. Bilan et conclusion 229

5. Références 231

Synthèse Générale & Perspectives.....	233
--	------------

ANNEXES.....	241
---------------------	------------

A. Liste des abréviations	243
B. Photographies de la mise en place des cultures	245
C. Curriculum Vitae	247

Listes des Figures

Chapitre 1

- Figure 1.1 :** Le sol, interface de l'environnement
- Figure 1.2 :** Types d'isothermes d'adsorption les plus communes (avec $[SA]$, la concentration à l'équilibre du composé adsorbé et $[A]$ la concentration du composé en solution)
- Figure 1.3 :** Représentation tridimensionnelle des complexes de sphère externe et interne qui peuvent être formés à la surface d'un solide
- Figure 1.4 :** Mécanisme de sorption, en deux temps, du TBT
- Figure 1.5 :** Deux mécanismes de sorption possibles pour le TBT sur une surface organique
- Figure 1.6 :** Tendance de la biodisponibilité en fonction des formes des métaux dans les sols et les sédiments
- Figure 1.7 :** Schéma des voies de métabolisation du TBT dans les microalgues *C. vulgaris* et *Chlorella sp.*
- Figure 1.8 :** Schéma d'une plante dans un sol
- Figure 1.9 :** Présentation schématique d'une coupe de racine d'une plante
- Figure 1.10** Schéma de principe de l'absorption des éléments par la plante

Chapitre 2

- Figure 2.1 :** Schéma de fonctionnement du système d'Extraction par Solvant Pressurisé (PSE)
- Figure 2.2 :** Plan composite centré pour l'étude de deux facteurs
- Figure 2.3 :** Disposition des points d'expériences d'un plan de Doehlert à trois facteurs. C'est un empilement compact et régulier de billes

Chapitre 3

- Figure 3.1 :** Efficiency of extraction from **French beans (A) and potatoes (B)** according to the procedure of extraction (PSE or SLE 2) and the nature of the extracting solutions.
- Figure 3.2 :** Organotin preservation (evaluated by the qualitative index I_c) after extraction from **French beans (A) and potatoes (B)** according to the procedure of extraction (PSE or SLE 2) and the nature of the extracting solutions.
- Figure 3.3 :** Curves of (A) S response and (B) I_c response obtained after PSE optimisation on French beans.

Chapitre 4

- Figure 4a.1 :** Evolution of aqueous TBT concentration ($\mu\text{g}(\text{Sn}) \text{L}^{-1}$) in the presence of sewage sludge, with time
- Figure 4a.2 :** First-order and pseudo second-order kinetic fit for the sorption of TBT onto a sewage sludge
- Figure 4a.3 :** pH sorption edge of TBT on a sewage sludge
- Figure 4a.4 :** Adsorption isotherm of TBT on sewage sludge for two solid/liquid ratio values. The zoom shows the linear behaviour of the TBT sorption for the low values of TBT in the liquid phase
- Figure 4a.5 :** Freundlich and Langmuir plots for the TBT sorption on sewage sludge
- Figure 4b.1 :** Ratio between TBT and TPhT amounts in solid and aqueous phases (F_p) as a function of the initial OTC concentration, according to the leaching run number
- Figure 4b.2 :** Final TBT and TPhT speciation according to the initial concentration in soil (in $\mu\text{g}(\text{Sn}) \text{kg}^{-1}$) after sludge/ soil mixing and experiment type A) 32 days in climatic chamber, B) 54 days in greenhouse and C) 69 days in greenhouse
- Figure 4b.3 :** Relative effect of the interaction between sludge and triorganotin on OTC preservation (expressed in %)
- Figure 4b.4 :** Evolution of modelled I_p (TBT) as a function of initial TBT concentration in sludge
- Figure 4b.5 :** Influence of pH on butyl- and phenyltin preservation (values calculated with experimental designs model; initial TBT and TPhT concentrations: A) 50 and 150 and B) 150 and 50 $\mu\text{g}(\text{Sn}) \text{kg}^{-1}$ in soil, respectively)

Chapitre 5

- Figure 5a.1 :** Bio-Concentration Factor (BCF) of TBT in different parts of French beans according to the culture conditions (organotin source, soil type) and the growth period
- Figure 5b.1 :** Variabilité analytique et variabilité globale du système (Echantillon) pour les expériences menées pendant 32 et 54 jours (culture de laitues)
- Figure 5b.2 :** Variabilité analytique et variabilité globale du système (Echantillon) pour les expériences menées pendant 69 jours dans la laitue et les haricots verts (HV).
- Figure 5b.3 :** Correspondance entre les concentrations ou les quantités finales en triorganoétains dans le sol et dans la plante (laitue) pour les trois séries d'expérimentations
- Figure 5b.4 :** Correspondance entre les concentrations en organoétains dans la plante (laitue) et les concentrations finales dans le sol - Apport initial dans le sol : 20- 50 $\mu\text{g}(\text{Sn}) \cdot \text{kg}^{-1}$
- Figure 5b.5 :** Correspondance entre les concentrations en organoétains dans la plante (laitue et haricots verts) et les concentrations finales dans le sol - Apport initial dans le sol : 50- 150 $\mu\text{g}(\text{Sn}) \cdot \text{kg}^{-1}$
- Figure 5b.6 :** Mécanismes de prélèvement et de transformation des organoétains dans la laitue
- Figure 5b.7 :** Répartition relative des différentes espèces butylées et phénylées dans les racines et les feuilles de laitue
- Figure 5b.8 :** Répartition relative des différentes espèces butylées et phénylées dans les racines et les feuilles (* ou parties aériennes) de laitue et des haricots verts
- Figure 5b.9 :** Les différents mécanismes envisagés lors du prélèvement et du transport des organoétains dans les laitues et les haricots verts

Listes des Tableaux

Chapitre 1

- Tableau 1.1 :** Temps de demi-vie (50% de dégradation) de quelques composés organostanniques dans les différents compartiments de l'environnement
- Tableau 1.2 :** Valeurs du log K_{ow} pour quelques triorganoétains
- Tableau 1.3 :** Toxicité aiguë du TcHexT pour différents animaux
- Tableau 1.4 :** Les utilisations des composés organostanniques susceptibles de représenter une source d'apport dans les sols
- Tableau 1.5 :** Exemples de concentrations moyennes de TBT et TPhT dans les stations d'épuration
- Tableau 1.6 :** Valeurs du coefficient de partition K_d en fonction du pH et de la phase sorbante utilisée, pour le quelques organoétains

Chapitre 2

- Tableau 2.1 :** Caractéristiques physico-chimiques du sol de Pierroton
- Tableau 2.2 :** Concentrations en organoétains dans la boue de Clos de Hilde
- Tableau 2.3 :** Caractéristiques physico-chimiques de la boue de station d'épuration
- Tableau 2.4 :** Tableau récapitulatif des conditions expérimentales pour les manipulations en batchs.
- Tableau 2.5 :** Domaine d'étude du plan d'expériences de Doehlert à trois facteurs : la boue, la concentration en TBT et en TPhT
- Tableau 2.6 :** Domaine d'étude du plan d'expériences de Doehlert à trois facteurs : la valeur du pH du sol, la concentration en TBT et en TPhT

Chapitre 3

Tableau 3.1 : Experimental field

Tableau 3.2 : Calculation of the effects and validation of the models (IC response and S response)

Tableau 3.3 : Analytical performances

Tableau 3.4 : Analysis of trisubstituted organotins in spiked French beans and potatoes after PSE (Concentrations in ng(Sn) g⁻¹).

Tableau 3.5 : Analysis of contaminated lettuce (Concentrations in ng(Sn) g⁻¹) (RSD in %)

Chapitre 4

Tableau 4a.1 : Physicochemical properties of the sewage sludge used in this study

Tableau 4a.2 : Comparison of the different model parameters obtained for the kinetic experiments

Tableau 4a.3 : Langmuir and Freundlich isotherm values for TBT sorption on a sewage sludge

Tableau 4b.1 : Physico-chemical parameters in Sludge and Soil

Tableau 4b.2 : Experimental conditions

Tableau 4b.3 : Description of the Doelhart design experiments relative to the soil conditions

Tableau 4b.4 : Mean Butyl- and Phenyltin distributions at the end of the experimentation

Chapitre 5

- Tableau 5a.1 :** Analytical validation of acidic extraction/ ethylation/ LLE/ GC-PFPD
- Tableau 5a.2 :** Relative limits of detection (LOD) of acidic extraction/ ethylation/ LLE/GC-PFPD
- Tableau 5a.3 :** Organotin speciation analysis in the sewage sludge used for soil amendment
- Tableau 5a.4 :** Organotin speciation in French beans and potato tubers cultivated in the Pierroton soil spiked with a TBT- chloride solution (n = 4)
- Tableau 5a.5 :** Organotin speciation in French beans and potatoes cultivated in the Pierroton soil spiked with a TPhT- chloride solution (n = 4)
- Tableau 5a.6 :** Speciation in French beans cultivated in the Pierroton sludged soil
- Tableau 5a.7 :** Quantitative evaluation of the organotin transfer from the soil to French bean tissues
-
- Tableau 5b.1 :** Conditions, caractéristiques principales des cultures et résultats obtenus
- Tableau 5b.2 :** Effets des facteurs et interactions, calculés par plan d'expériences, sur les concentrations en TBT et TPhT dans les laitues après 54 jours de culture
- Tableau 5b.3 :** Facteurs de bioconcentration (FBC)* et de prélèvement (FP)* calculés pour l'expérience au centre du domaine
- Tableau 5b.4 :** Coefficients de corrélation entre les concentrations finales des différents organoétains dans la plante. (Calcul par ACP- Laitue)
- Tableau 5b.5:** Coefficients de corrélation entre les concentrations finales d'un organoétain dans le sol et dans la plante. (Calculs par ACP -Laitue)
- Tableau 5b.6:** Répartition des organoétains entre racines et parties aériennes
- Tableau 5b.7 :** Coefficients de corrélation, calculés par ACP, entre les masses d'organoétains dans les racines et les masses dans les feuilles de laitue
- Tableau 5b.8 :** Coefficients de corrélation, calculés par ACP, entre les masses végétales de laitue et les masses d'organoétains dans le sol
- Tableau 5b.9 :** Coefficients de corrélation, calculés par ACP, entre les masses végétales de laitue et les masses d'organoétains dans les racines ou les feuilles de laitue

INTRODUCTION GÉNÉRALE

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Notre environnement est pour une grande part influencé par les cycles et les processus d'échange entre les continents, l'atmosphère, les milieux marins, les eaux douces, les sédiments et les minéraux du sol (Sigg *et al.* 2000). La distribution des contaminants dans les différents compartiments de l'environnement dépend essentiellement de leurs interactions avec des surfaces solides. Parmi ces solides, le sol est un système multicomposé, multiphasique dans lequel il se produit un grand nombre de réactions chimiques dépendantes ou non entre elles (Sposito, 1994). Le sol intervient dans la régulation des flux d'eau, il est le lieu de transformations biogéochimiques intenses. Il est donc un carrefour des échanges entre l'atmosphère, la lithosphère, la biosphère et l'hydrosphère terrestre. Le sol apparaît à ce titre comme une ressource vitale pour l'espèce humaine et le fonctionnement des écosystèmes (Stengel & Gelin, 2004).

L'utilisation intensive de produits industriels, agricoles et domestiques à base de composés organostanniques a entraîné la diffusion de ces espèces chimiques dans tous les compartiments environnementaux. Les organoétains (OTC) sont notamment détectés dans les boues de station d'épuration, les eaux de surface, les sédiments et les sols, à des niveaux de concentration allant du ng au µg d'étain par kg. Ces composés font partie des substances les plus toxiques pour les organismes aquatiques mais également pour l'homme. Compte tenu de leur toxicité, la Communauté Européenne a classé les organoétains sur des listes de polluants prioritaires dans plusieurs domaines environnementaux comme l'eau ou les sols (JO, 2000).

Il existe deux sources principales de contamination du système sol / plante par les OTC. Ainsi la pulvérisation de pesticides dans les champs expose directement les plantes cultivées et les sols à ces composés. L'épandage de boues de stations d'épuration contaminées en organoétains s'avère être également un risque potentiel pour les végétaux. La France épand la plupart de ses boues urbaines : 60% des boues sont ainsi valorisées en agriculture, pourcentage qui est supérieur à la moyenne européenne. Cette filière de valorisation agricole est néanmoins mise à mal par une controverse sociale sur la sécurité des boues, avec une prise de position d'acteurs différents du monde agricole. En effet, ceux-ci n'acceptent pas les

conditions actuelles de l'épandage et exigent plus de garanties vis-à-vis de la qualité des sols et des végétaux qui y sont cultivés (Stengel & Gelin, 2004, www.ecrin.asso.fr). La sécurité sanitaire des produits destinés à l'alimentation humaine est également une priorité au niveau européen. Dès lors, la question du transfert des organoétains des sols vers les plantes revêt un intérêt socio-économique particulier. Des informations sur la persistance de ces composés dans les boues et les sols, sur leur mobilité dans le système sol / plante sont ainsi nécessaires pour permettre la détermination du risque encouru par les consommateurs.

Cependant les travaux faisant le lien entre les réponses biologiques (toxicité ou bioaccumulation) et la spéciation métallique et organométallique dans les sols sont très rares, principalement à cause de la difficulté de mesurer la spéciation à la fois dans la phase aqueuse et dans la phase solide du sol. Le challenge pour les chimistes et les écotoxicologues est d'utiliser les connaissances sur le comportement des métaux et leur toxicité afin de développer des techniques et des modèles simples qui puissent prédire et prévenir les risques pour l'environnement et pour la santé humaine.

Les données de la littérature laissent apparaître l'importance des mécanismes de sorption / désorption, en particulier vis à vis de la biodisponibilité des organoétains ainsi que l'influence de divers paramètres chimiques sur les phénomènes de (bio)dégradation des organoétains qui peuvent avoir lieu. Néanmoins nous avons constaté que peu d'études sur l'adsorption des composés organostanniques sur des solides environnementaux ont été réalisées. La plupart des auteurs traitent des solides comme les sédiments au détriment des sols. De plus les conditions opératoires utilisées dans la littérature sont très différentes et peu en rapport avec les conditions susceptibles d'être rencontrées dans le système eau / sol. Il est donc nécessaire de comprendre les mécanismes de sorption dans des conditions proches de ce que l'on est susceptible de rencontrer dans l'environnement.

D'autre part, l'impact du tributylétain (TBT) sur l'environnement a masqué le risque potentiel des autres organoétains. De ce fait, la majorité des études sur les composés organiques de l'étain traitent du TBT et le comportement du triphénylétain (TPhT) ou d'autres organoétains n'a pas, à notre connaissance, été étudié. Aucune étude conjointe sur le TBT et le TPhT n'a été réalisée. Lorsque plusieurs organoétains sont présents dans le système, leurs comportements diffèrent et des compétitions pourraient apparaître vis-à-vis de la sorption ou du prélèvement par les végétaux.

Le travail présenté dans ce mémoire est centré sur l'évaluation et la compréhension du devenir des organoétains dans le système sol / plante. Nous avons choisi de poursuivre notre étude conjointement sur le TBT et le TPhT, composés les plus toxiques, présents dans les boues de station d'épuration et les pesticides agricoles. La détermination de la spéciation des butyl- et phénylétains dans la plante et le sol a donc été réalisée afin de mieux cerner en particulier :

- la dégradation des composés trisubstitués dans le sol et la plante,
- l'aptitude de la plante à les prélever,
- l'influence de différents paramètres physico-chimiques sur leur devenir dans le sol et le transfert vers la plante
- leur répartition au sein du végétal.

Compte tenu des informations disponibles, des questions soulevées et des objectifs fixés pour cette thèse, nous avons adopté différentes approches expérimentales :

- Une étude en réacteur fermé. Elle nous a permis d'obtenir des renseignements sur les mécanismes d'adsorption des OTC et leur cinétique (isothermes d'adsorption).
- Une série de cultures de végétaux sur un sol amendé par une boue, en conditions contrôlées.

Afin d'obtenir les informations souhaitées, des méthodes analytiques précises et fiables sont nécessaires. Différentes techniques d'extraction ont été mises au point pour les eaux, les matrices biologiques et les sédiments, mais il n'y a que très peu d'études sur l'extraction des matières végétales ou des sols (Marcic *et al.* 2005, Bancon-Montigny, 2001). La première partie de ce travail a donc consisté à adapter et à valider ces techniques d'extraction afin de les utiliser sur ces matrices complexes. Une comparaison entre deux méthodes d'extraction a ainsi été réalisée sur différentes matrices végétales afin de déterminer laquelle est la plus efficace et la plus pratique : l'Extraction Solide / Liquide par simple contact et agitation mécanique (SLE) et l'Extraction par Solvant Pressurisé (PSE).

La première partie de ce mémoire est dédiée à une étude bibliographique sur la répartition environnementale des organoétains et les transferts sol / plante. Elle permet de mettre en évidence les propriétés physico-chimiques et notamment toxiques de ces substances ainsi que leurs comportements au sein des différents écosystèmes environnementaux.

La démarche expérimentale, les différentes techniques analytiques et la méthodologie utilisées durant cette thèse sont décrites dans le deuxième chapitre.

Le troisième chapitre traite du développement analytique réalisé dans notre étude.

La quatrième partie regroupe les résultats obtenus sur les organoétains dans le système sol / boue.

La cinquième partie traite du prélèvement et de la bioaccumulation dans les plantes cultivées.

Enfin, un bilan de l'ensemble des résultats obtenus permet de faire une synthèse des approches expérimentales que nous avons utilisées, de hiérarchiser les phénomènes physico-chimiques prépondérants qui peuvent intervenir dans le système eau / sol / plante. Une première approche de l'évaluation du risque de l'utilisation de boues de station d'épuration contaminées par des organoétains est également présentée.

CHAPITRE 1

LES ORGANOÉTAINS ET LE TRANSFERT SOL / PLANTE

Ce chapitre est constitué d'une présentation générale des organoétains (OTC), de leurs propriétés physico-chimiques ainsi que des différents processus de transfert, transport, accumulation et transformation auxquels ils sont soumis dans l'environnement et notamment dans le sol et la boue qui constituent les principaux supports d'étude dans ce travail.

1. A propos des Organoétains

1.1. L'histoire des organoétains

Les organoétains sont connus depuis environ 150 ans. Les premières synthèses de composés organostanniques ont été réalisées en 1853 par Sir Edward Frankland. Aujourd'hui, plus de 800 organoétains sont répertoriés dans la littérature. La plupart de ces composés sont d'origine anthropique, sauf les méthylétains qui peuvent être produits par biométhylation (Hoch, 2001). Ce n'est que dans les années 1940, avec le développement de sites de production de matières plastiques que l'on commença à utiliser industriellement les organoétains. Les mono et dialkylétains ont ainsi été employés comme stabilisants pour éviter les dégradations rapides de ces matières dues à la lumière et à la chaleur (Hoch, 2001).

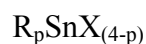
Depuis une quarantaine d'années, d'autres domaines industriels utilisent les organoétains, notamment les espèces trisubstituées comme le tributylétain (TBT), le triphénylétain (TPhT) et le tricyclohexylétain (TcHexT). Ces composés sont employés dans la préservation du bois, les peintures antisalissures, les fongicides, pesticides, miticides et acaricides.

De ce fait la production mondiale a été multipliée par dix durant la deuxième moitié du vingtième siècle, passant de 5000 tonnes en 1955 à 50 000 tonnes en 1992 (Fent, 1996b).

1.2. Propriétés Physico-Chimiques

Les organoétains sont constitués d'un ou plusieurs substituant(s) organique(s) R lié(s) de façon covalente à l'atome d'étain, Sn au degré d'oxydation +IV, et éventuellement d'un ou plusieurs contre-ions X.

La formule générale des composés organostanniques est ainsi :



- où
- R représente un groupement alkyle (méthyle M, butyle B, octyle Oc, cyclohexyle cHex) ou aryle (phényle Ph), p étant compris entre 1 et 4
 - X est un anion ou groupement anionique de charge unitaire tel qu'un oxyde, un hydroxyde, un chlorure...

La liaison Sn-C est stable en présence d'eau et d'oxygène atmosphérique jusqu'à une température de 200°C. De manière générale, les radiations UV, les acides forts et les agents électrophiles ainsi que l'activité biologique contribuent à sa rupture (Hoch, 2001). Lorsque la décomposition des organoétains intervient, elle se produit généralement par désalkylations ou désarylations successives. Les vitesses de décomposition sont cependant très variées car elles dépendent beaucoup des conditions environnementales, en particulier de la température et de la nature des micro-organismes, comme le laissent apparaître les différents temps de demi-vie répertoriés dans le tableau 1.1. La notion de « persistance », utilisée pour la première fois pour les pesticides organiques, s'applique également aux composés organostanniques. La persistance est la propriété qu'ont les composés de pouvoir rester dans l'environnement sans être altérés par des processus physiques, chimiques ou biologiques. Elle correspond donc à la stabilité des composés dans l'environnement, à leur résistance à une décomposition ou à une transformation dans la nature (Bliefert & Perraud, 2001). Selon les données du tableau 1.1, la persistance des organoétains dans l'environnement apparaît indéniable et induit donc un risque potentiel. Elle reste cependant peu documentée dans le cas des sols.

Afin de comprendre la mobilité ainsi que la biodisponibilité des organoétains dans les différents compartiments environnementaux, il est nécessaire d'étudier leurs propriétés physico-chimiques et en particulier de considérer leur acidité, leur solubilité ou encore leur liposolubilité.

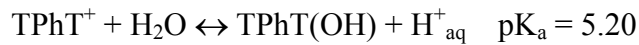
Tableau 1.1 : Temps de demi-vie (50% de dégradation) de quelques composés organostanniques dans les différents compartiments de l'environnement

	Média	Temps de demi-vie	Lieu	Références
TBT	Eau douce	6 jours	Angleterre	Waite <i>et al.</i> , 1989
		15 jours	Osaka, Japon	Harino <i>et al.</i> , 1997
		26 jours	Osaka, Japon	Watanabe <i>et al.</i> , 1992
		quelques semaines à quelques mois	Toronto Harbour, Ontario, Canada	Maguire <i>et al.</i> , 1986
	Eau de mer	7 à 127 jours	Osaka, Japon	Watanabe <i>et al.</i> , 1992
		15 jours	Italy	Cima <i>et al.</i> , 1996
	Eau douce / eau de mer (dégradation abiotique)	3 mois	Toronto Harbour, Ontario, Canada	Maguire <i>et al.</i> , 1986
	Eau douce / eau de mer (dégradation biotique)	6 jours à plusieurs semaines	Toronto Harbour, Ontario, Canada	Maguire <i>et al.</i> , 1986
	Eau d'estuaire	1-2 semaines	Baltimore, MD, USA	Olson <i>et al.</i> , 1986
		5 jours	Tianjin, Chine	Dai <i>et al.</i> , 1993
Sédiment estuarien	3,8 ans	Georges River, NSW, Australia	Kilby & Batley, 1993	
	0,9 à 5,2 ans 173 à 347 jours	Angleterre Etats-Unis	Dowson <i>et al.</i> , 1993 Landmeyer <i>et al.</i> , 2004	
Sédiment anaérobique	2 à 10 ans	Australia	Batley, 1996	
Sédiment marin	1,9 à 2,3 ans	Ile d'Oléron, France	Sarradin, 1995	
	100 à 800 jours 2,5 ans	Japon Auckland, Nouvelle Zélande	Watanabe <i>et al.</i> , 1995 De Mora <i>et al.</i> , 1995	
Sol	15 à 20 semaines	Pays-Bas	Barug & Wonk, 1980	
	0,5 à 4,4 ans	Forêt en Bavière, Allemagne	Huang <i>et al.</i> , 2004	
Boue activée	1.4 jours	Grèce	Stasinakis <i>et al.</i> , 2005	
DBT	Eau douce	10 jours	Osaka, Japon	Harino, 1997
	Sédiment marin	1,4 à 2,4 ans	Ile d'Oléron, France	Sarradin <i>et al.</i> , 1995
	Sédiment estuarien	1,5 à 3,0 ans	Angleterre	Dowson <i>et al.</i> , 1993
	Sol	0,9 à 15 ans	Forêt en Bavière, Allemagne	Huang <i>et al.</i> , 2004
MBT	Sédiment marin	0,6 à 1,6 ans	Ile d'Oléron, France	Sarradin <i>et al.</i> , 1995
	Sédiment estuarien	1,8 à 3,7 ans	Angleterre	Dowson <i>et al.</i> , 1993
	Sol	1 à 8 ans	Forêt en Bavière, Allemagne	Huang <i>et al.</i> , 2004
TPhT	Sol	140 jours	Suffolk, Angleterre	Barnes <i>et al.</i> , 1973
		100 jours	Georgia, USA	Kannan & Lee, 1996
		47 à 140 jours	Pays-Bas	Loch <i>et al.</i> , 1990
		8 à 150 jours 38 à 79 jours	Taiwan Pays-Bas	Yen, 2001 Crommentuijn, 1995
	Boue activée	5.0 jours	Grèce	Stasinakis <i>et al.</i> , 2005

TBT : tributylétain ; DBT : dibutylétain ; MBT : monobutylétain ; TPhT : triphénylétain ; DPhT : diphenylétain ; MPhT : monophénylétain

1.2.1. Propriétés acido-basiques

Les organoétains ont généralement des comportements d'acides faibles, comme le montrent les valeurs de pK_a suivantes (Weidenhaupt *et al.*, 1997) :



Selon leur degré de substitution, ils possèdent une à trois acidités. Les propriétés acido-basiques des organoétains ont été mises en évidence dans des réactions d'échange d'ions ou de complexation. Au niveau environnemental, l'influence du pH du milieu, eau ou sol, sur la réactivité des organoétains a été clairement établie (Weidenhaupt *et al.*, 1997). Les formes cationiques sont stables pour des valeurs de pH inférieures aux pK_a respectifs (Rüdel, 2003). Cependant, le nombre d'études consacrées à ce sujet est très limité. Ainsi, les pK_a de nombreux composés organostanniques dont les mono- et di-substitués n'ont jamais été évalués, et restent donc à ce jour inconnus.

1.2.2. Solubilité

La solubilité des organoétains dépend du nombre et de la longueur de la chaîne alkylée ainsi que de la composition du milieu dans lequel se trouve le composé (Hoch, 2001 ; Blunden & Chapman, 1984). Ainsi la solubilité de l'oxyde de tributylétain est de 5 à 10 mg.L^{-1} et celle du fluorure de tributylétain est de 0.15 mg.L^{-1} . La solubilité de DBT-Cl_2 est de 92 mg.L^{-1} . L'acétate de tricyclohexylétain a, quant à lui, une solubilité de 3.3 mg.L^{-1} dans l'eau. La plupart des organoétains sont peu solubles dans l'eau et leur solubilité dépend alors du pH, de la force ionique et de la température (Rüdel, 2003). Ils se solubilisent d'avantage dans les solvants organiques tel que l'acétone, le méthanol, l'hexane ou l'isooctane.

Dans l'environnement, la faible solubilité des organoétains favorise leur adsorption sur les particules solides présentes dans les eaux (de rivière ou usées) ou les sols. De leur solubilité dépend donc leur mobilité, voire leur biodisponibilité.

Selon les conditions environnementales, les organoétains peuvent exister en solution en tant que paires d'ions neutres, ions libres ou complexés (Rüdel, 2003).

1.2.3. Hydrophobicité

Généralement, plus la chaîne alkyle est longue, plus le composé est hydrophobe, donc lipophile. Le coefficient de répartition octanol / eau, noté K_{ow} permet d'évaluer la lipophilie au travers du degré d'affinité des organoétains pour l'octanol, solvant organique apolaire. Quelques valeurs de $\text{Log } K_{ow}$ sont représentées dans le tableau 1.2 (Fent, 1996b).

Tableau 1.2 : Valeurs du $\log K_{ow}$ pour quelques triorganoétains.

	TBTOH	TPhTOH	TBTC1	TPhTC1
Log K_{ow}	4.1	3.5	pH < 7.4 pH > 7.4	pH < 6 pH > 6
			3.6 4.4	2.9 3.6

Les valeurs de K_{ow} peuvent également être dépendantes des valeurs de pH du milieu dans lequel se trouve l'espèce étudiée (les K_{ow} étant plus grands pour des pH plus basiques car les organoétains se retrouvent alors sous forme neutre, TOTOH) (Arnold *et al.*, 1997 ; Rüdél, 2003).

Compte tenu de la composition et des propriétés de la matière organique et des boues d'épuration, leur apport dans les sols pourrait donc potentiellement modifier le transfert des organoétains en favorisant des phénomènes tels que la sorption liée au caractère hydrophobe.

1.3. Toxicité

Les formes inorganiques de l'étain ne sont pas, a priori, toxiques car elles sont peu solubles dans l'eau et insolubles dans les solvants organiques. Par contre, les composés organiques peuvent être extrêmement toxiques. En effet, l'ajout de groupements organiques à l'atome d'étain ($R_p\text{Sn}^{(4-p)+}$) accroît considérablement son impact sur les organismes vivants du fait de l'augmentation de la liposolubilité (Bancon-Montigny, 2001). Les effets biologiques des organoétains dépendent également de la nature et du nombre des groupements R qui sont greffés à l'étain (Hoch, 2001 ; Snoeij *et al.*, 1987). Le contre ion n'a qu'une faible influence sur la toxicité de la molécule sauf s'il est lui-même très toxique (Gadd, 2000). L'échelle de toxicité généralement admise est la suivante (De Stefano *et al.*, 1999) :



Ainsi, les triorganoétains sont les composés les plus toxiques. Il existe cependant, en fonction de la nature du groupement carboné, des niveaux de toxicité différents. De plus, la vulnérabilité d'une espèce biologique dépend non seulement des propriétés intrinsèques du produit chimique mais également de l'importance, de la durée, de la fréquence, de la voie d'exposition à ce produit et de sa biodisponibilité (Bancon-Montigny, 2001). En général, les organoétains agissent par fixation sur la membrane cellulaire des liposomes en formant un complexe avec les groupements phosphates des phospholipides (Hunziker *et al.*, 2001). Ils sont alors disponibles pour l'organisme cible et deviennent toxiques.

1.3.1. Le tributylétain, TBT

Le TBT est le composé organostannique qui, d'un point de vue de la toxicité, a été le plus largement étudié. C'est aussi une des substances les plus toxiques qui a été produite et introduite dans l'environnement (World Health Organisation, 1990). Voilà pourquoi l'incorporation de composés triorganostanniques tels que le TBT dans les peintures antisalissures est limitée dans de nombreux pays du fait de leurs effets catastrophiques sur l'ostréiculture et sur les écosystèmes aquatiques en général (World Health Organisation, 1999).

De par ses propriétés ioniques et lipophiles, le TBT se concentre dans les lipides et/ou se fixe sur les macromolécules telle que les glutathions (acides aminés antioxydants). Il s'accumule dans le foie et les reins. Ces caractéristiques permettent au TBT de se transmettre dans la chaîne alimentaire (Senthilkumar *et al.*, 1998). Le TBT agit alors sur l'activité du système immunitaire, nerveux, digestif et endocrinien de beaucoup d'organismes vivants. Il peut avoir des effets neurotoxiques, mutagènes, cancérigènes et immunotoxiques (Markert, 1998).

Pour la vie aquatique (mollusques, poissons, mammifères, algues ...) plus particulièrement, le TBT est très toxique (aigu et chronique). Même à des concentrations de l'ordre du ng.L^{-1} dans l'eau, il peut perturber fortement le métabolisme des organismes les plus sensibles comme les algues, le zooplancton ou encore les larves de poisson. Les concentrations létales pour des temps d'exposition courts (quelques jours) sont comprises entre 0.04 et $16 \mu\text{g.L}^{-1}$ pour les espèces aquatiques (Hoch, 2001). On note une sensible diminution de la croissance de certaines bactéries aquatiques à partir de concentration de 3 mg (Sn).L^{-1} (Shinoda *et al.*, 1996). Le TBT agit par interaction avec la membrane lipidique de ces bactéries (Avery *et al.*, 1991). Il est également considéré comme un perturbateur endocrinien et entraîne des

phénomènes d'imposex chez certains mollusques comme les huîtres ou les gastéropodes à partir de concentration de $0,5 \text{ ng(Sn).L}^{-1}$ ainsi que la stérilisation des femelles (Maguire, 2000 ; Rüdél, 2003). Quelques études sur des oiseaux et des rats ont fait apparaître la toxicité du TBT sur certains de leurs organes par inhibition de l'activité enzymatique à partir de concentrations comprises entre quelques ng(Sn).g^{-1} et quelques $\mu\text{g(Sn).g}^{-1}$ de poids corporel (Fent, 1996b ; Maguire, 2000).

Dans les sols, la toxicité des organoétains a été beaucoup moins étudiée. Cependant une relation directe entre la toxicité des composés organostanniques (notamment le TBT et le TPhT) et le coefficient de partition octanol-eau (K_{ow}) a été établie (Arnold *et al.*, 1997). De plus, lorsque le TBT se retrouve dans des sols riches en particules organiques, sa toxicité est diminuée car, sorbé sur ces particules, il devient moins biodisponible (Bao *et al.*, 1997). Les effets sur les micro-organismes contenus dans les boues des stations d'épuration, du TBT provenant des eaux entrants dans ces stations, ont été déterminés. Ces effets peuvent être évalués par le calcul de la diminution du taux de respiration de la biomasse ou de l'activité enzymatique. Il en résulte que l'âge de la boue et sa quantité diminuent la toxicité du TBT sur les micro-organismes alors que de longs temps d'exposition au TBT (supérieur à 10h) contribuent à l'inhibition de l'activité biologique de la boue (Stasinakis *et al.*, 2001).

La plupart des végétaux étudiés sont des végétaux aquatiques de type microalgues. Les effets du TBT sur ces organismes marins sont une accumulation cellulaire de nutriments et une forte diminution de la densité cellulaire (Mouhri *et al.*, 1998 ; Nudelman *et al.*, 1998). Ces phénomènes entraînent une diminution de la production de chlorophylle et une inhibition de la croissance du végétal (Kizlink, 2001).

Les études de la toxicité des organoétains sur des plantes cultivées restent anecdotiques. Ainsi Balabaskaran *et al.* ont déterminé la phytotoxicité de composés organostanniques (TBT, TPhT et TcHexT) sur la croissance de graines de haricots mungo. Il en résulte que le TBT inhibe la germination des haricots et réduit le poids des feuilles Balabaskaran *et al.*, 1987). Une étude de phytotoxicité a été réalisée dans notre laboratoire sur des haricots verts cultivés en hydroponie et en présence de TBT et TPhT. Des nécroses importantes au niveau des racines sont apparues à partir d'une concentration de $1 \mu\text{g(Sn).L}^{-1}$ de solution nutritive. Des retards de croissance ont également été observés à partir de concentrations de $100 \mu\text{g(Sn).L}^{-1}$ (Simon *et al.*, 2002).

Chez l'homme, aucun cas d'intoxication aiguë au TBT n'a été recensé. Une étude sur l'absorption journalière de TBT et TPhT à partir de différents aliments contenus dans le « panier de la ménagère » a été réalisée au Japon. Les aliments qui apparaissent les plus contaminés sont les poissons, les mollusques, les crustacés ainsi que les légumes (haricots, végétaux verts, pommes de terre et fruits) et les algues. Des valeurs absorbées de 6 µg de TBT par jour ont été mesurées (Tsuda *et al.*, 1995). Les apports journaliers tolérables recommandés sont de 0,25 µg.kg⁻¹ de poids corporel.

Les effets ressentis par les populations exposées régulièrement au TBT en milieu professionnel sont des irritations de la peau, des yeux et des voies respiratoires ainsi que des démangeaisons (de Mora & Pelletier, 1997 ; World Health Organisation, 1990). Une étude révèle la contamination par des organoétains du sang de personnes américaines d'origine et d'âges différents. Les concentrations moyennes détectées sont de 8 µg. L⁻¹ pour le MBT (présent dans 53% des échantillons), 5 µg. L⁻¹ pour le DBT (81%) et 8 µg. L⁻¹ pour le TBT (71%). Les auteurs supposent que la contamination est due à l'exposition humaine aux organoétains présents dans les plastiques ou dans les produits biocides ménagers (Rüdel, 2003). Cependant, les effets à long terme d'une exposition faible mais régulière comme la consommation de produits alimentaires contaminés restent inconnus.

1.3.2. Le triphénylétain, TPhT

Comme le TBT, le TPhT exerce des effets délétères sur les organismes aquatiques à très faibles concentrations. Il produit des effets variés sur l'organisme des diverses espèces aquatiques, notamment sur le système immunitaire, la reproduction et la croissance, à des doses proches de quelques mg.g⁻¹ de poids corporel. On observe notamment l'apparition d'organes mâles (trouble hormonal, imposex) chez des femelles de gastéropodes à partir la concentration d'environ 1 ng.L⁻¹ de ce composé dans l'eau. Comme le TBT, le TPhT est suspecté avoir les mêmes effets de perturbateur endocrinien (Rüdel, 2003); on observe des tumeurs des glandes endocrines, l'autodestruction des cellules thymiques, la libération de calcium au niveau des cellules du réticulum sacroplasmique ainsi qu'une irritation oculaire. Les dérivés du TPhT ne seraient pas cancérigènes, mais certaines données montrent qu'ils ont une action coclastogène (rupture des chromosomes) (World Health Organisation, 1999).

Dans les sols, on note une augmentation de la mortalité des invertébrés y vivant lorsque la concentration en TPhT croît (Crommentuijn *et al.*, 1995). La toxicité du TPhT sur les microorganismes des boues de station d'épuration est semblable à celle du TBT avec des phénomènes de diminution de l'activité microbologique pour des durées d'exposition supérieure à 10 jours (Stasinakis *et al.*, 2001).

Concernant les végétaux, plusieurs études établissent la phytotoxicité du TPhT. Un faible développement des racines, une diminution de la quantité de chlorophylle contenue dans ces végétaux entraînant une diminution de l'activité photosynthétique et respiratoire, ainsi qu'une faible biomasse ont été mis en évidence pour des cultures dans des sols et en hydroponie (Balabaskaran *et al.*, 1987 ; Mooney & Patching, 1995 ; Song & Huang, 2001). Une étude de phytotoxicité a été réalisée dans notre laboratoire sur des haricots verts cultivés en hydroponie et en présence de TPhT. Les symptômes – nécroses et retard de croissance - sont similaires à ceux observés en présence de TBT (Simon *et al.*, 2002). Les concentrations en TPhT pouvant induire de tels effets sont de l'ordre de 700 ng.L⁻¹ à quelques centaines de µg.L⁻¹ selon l'espèce étudiée (algues, plantes terrestres). Le produit de dégradation, le diphénylétain (DPhT), serait quant à lui 50 à 63 fois moins toxique que le TPhT pour des micro-algues (Marsot *et al.*, 1995 ; Mooney & Patching, 1995).

Intoxication par le TPhT

Des études japonaises montrent que l'absorption de TPhT par consommation d'aliments contaminés (végétaux, poissons) se situe aux alentours de 2.75 µg par jour pour un sujet de 50 kilogrammes, ce qui représente 11% de la dose journalière admissible (Tsuda *et al.*, 1995 ; World Health Organisation, 1999). Deux cas d'intoxication aiguë ont été recensés après une tentative de suicide. A chaque fois, la quantité ingérée est très importante : dans le premier cas, la personne a avalé un tiers d'un sachet de 100g contenant 45% d'acétate de triphénylétain (soit environ 5g d'étain). Après un lavage gastrique, l'état de cette patiente était stable et elle a quitté l'hôpital deux jours après l'ingestion. Elle est tombée dans le coma du 3^{ème} au 9^{ème} jour. Son état s'est amélioré après le 12^{ème} jour. Cependant on a observé un affaiblissement de la capacité à calculer, une désorientation face au temps, des réactions lentes et un affaiblissement général. Ces symptômes étaient persistants et ont diminué progressivement durant une année, au bout de laquelle la patiente est apparue guérie, sans séquelle (Lin *et al.*, 1998). La seconde étude a montré l'apparition de troubles tels que des diarrhées, des perturbations de la conscience neurologique et encéphalique pendant deux mois

(Wu *et al.*, 1990). Néanmoins, peu de données sont disponibles dans la littérature et tout comme pour le TBT, les effets à long terme d'une exposition faible et régulière demeurent inconnus.

1.3.3. Le tricyclohexylétain, TcHexT

C'est un acaricide et un miticide utilisé depuis 1970. Plusieurs études ont permis de dresser un tableau des toxicités aiguës du TcHexT pour des poulets et différents mammifères (Tableau 1.3).

Tableau 1.3 : Toxicité aiguë du TcHexT pour différents animaux (World Health Organisation, 1971).

Animal	Voie d'administration	LD₅₀ (mg.Kg⁻¹) de masse corporelle
Poulet	Orale	650
Souris	Orale	710
Rat	Orale	540
Rat	Ip	13
Porc	Orale	780
Porc	Ip	9
Lapin	Orale	500 – 1000
Chien	Iv	14
Chat	Iv	6

Ip : inter péritonéal Iv : intraveineuse

LD₅₀ : dose létale qui entraîne la mort de 50% de la population étudiée

Les symptômes qui apparaissent après une intoxication au TcHexT sont des irritations de la peau, des léthargies, des diminutions des réflexes, des respirations dépressives ou des diarrhées. Quelques études sur l'homme ont été réalisées ; après application d'émulsion contenant du TcHexT pendant deux semaines, il semble que le TcHexT n'ait aucun effet irritant pour des concentrations de l'ordre de 0.01 mg.Kg⁻¹ de poids corporel (World Health Organisation, 1971).

Des études sur la toxicité à long terme ont été entreprises sur des rats. L'ingestion de 6 mg par kg et par jour pendant deux ans ne cause aucun effet toxique apparent sur les tissus (World Health Organisation, 1971). Ces données montrent que le TcHexT apparaît également être toxique pour les mammifères, à des concentrations cependant plus élevées que celles observées pour le TBT et le TPhT.

Le risque potentiel via la chaîne alimentaire est également pris en compte. Ainsi en agriculture, il est recommandé d'utiliser l'hydroxyde de tricyclohexylétain en aérosols dilués, de concentrations variant entre 15 et 30 g.L⁻¹, la quantité totale appliquée par unité de surface étant de 0.42 à 1.68 kg (Sn) par hectare (World Health Organisation, 1971).

Ces données sont cependant très anciennes et souvent incomplètes. Ainsi par exemple, les études de toxicité ne font pas un bilan exhaustif de l'état de santé des sujets. Aucune valeur récente concernant la toxicité n'a également été publiée. Les effets de faibles doses de TcHexT sur les plantes, les animaux et les hommes peuvent donc être considérés, à ce jour, comme inconnus.

1.4. Réglementation

Au début des années 1980, après l'utilisation massive d'organoétains, et notamment du TBT, comme agent biocide sur les coques de bateaux, des chercheurs français et britanniques découvrirent que l'usage des peintures antisalissures causait d'importants dommages à l'ostréiculture (Champ, 2000).

La France a été le premier pays à réglementer l'utilisation des peintures antisalissures contenant du TBT. Ainsi, le 19 janvier 1982, le ministère de l'environnement annonçait une interdiction temporaire de 2 ans sur l'utilisation des peintures à base de TBT pour la protection des coques de bateaux de moins de 25 mètres. L'arrêté du 16 septembre 1982 (transformé en décret en 1985, modifié en 1987 et 1992) étend cette interdiction à toutes les régions côtières et à toute peinture à base d'organoétains quels qu'ils soient.

D'autres pays ont suivi l'exemple de la France, comme le Royaume Uni, la Suisse ou l'Allemagne. Au niveau européen, la directive 1999/51/CE suivi de la directive 2002/62/CE (Journal Officiel des Communautés Européennes) prévoit la révision des dispositions relatives aux composés organostanniques et notamment au TBT. Suite à la décision de l'Organisation Maritime Internationale (OMI), la mise sur le marché et l'emploi de composés de l'étain sont totalement interdits dans les peintures antisalissures pour bateaux depuis le 1^{er} janvier 2003.

Toujours au niveau européen, d'autres restrictions sont envisagées compte tenu d'une relation possible entre l'exposition au TBT et la perturbation endocrinienne.

La commission au conseil et au parlement européen a édité une communication sur la mise en œuvre d'une stratégie communautaire concernant les perturbateurs endocriniens (COM

(1999) 706 final). L'établissement d'une liste des substances devant prioritairement faire l'objet d'une évaluation approfondie afin de déterminer leur rôle dans la perturbation endocrinienne est l'une des principales actions à court terme préconisées par la stratégie communautaire. Au cours de l'année 2000, une liste comportant 553 substances artificielles (dont les composés du TBT et du TPhT) a été dressée et une liste des actions à mettre en œuvre prioritairement pour évaluer plus précisément le rôle de ces substances dans la perturbation endocrinienne a été établie (COM (2001) 262 final).

Suite à l'établissement d'une liste de 33 substances prioritaires dangereuses dans le domaine de l'eau, une norme internationale est en cours d'élaboration pour le dosage des organoétains butylés, phénylés, tricyclohexylés et octylés dans les eaux, dans une gamme de concentration de 10 à 1000 ng.L⁻¹ (Projet de norme ISO, journal officiel des communautés européennes, 2000).

En France, l'utilisation alimentaire des composés organostanniques a été réglementée. L'arrêté du 25 novembre 1992, concernant l'utilisation des emballages stabilisés par des organoétains, déclare qu'on ne peut retrouver plus de 0.1 mg d'organoétains par kilogramme de denrées, produits ou boissons alimentaires (Journal Officiel de la République Française, 1992). Il n'existe cependant pas de norme relative à la qualité propre de ces produits ou boissons (conditions de production).

De même, il n'existe actuellement aucune norme concernant les composés organostanniques dans les boues ou les sols.

La commission européenne est consciente des lacunes sur les réglementations des pesticides. Les statistiques de la Commission montrent que les quantités de pesticides utilisées en Europe n'ont pas diminué depuis dix ans et ce, malgré le recours croissant à des produits actifs à plus faible dose. Il y a donc une exposition croissante. C'est pourquoi la réduction de l'utilisation des pesticides et autres biocides ainsi que l'amélioration de la gestion de déchets tels que les boues sont indispensables pour arriver à une réduction significative du risque.

2. Origine anthropique des organoétains dans les sols

2.1. Le sol : une interface entre le monde minéral et organique

Le sol, couche superficielle de l'écorce terrestre, est un milieu vivant complexe et hétérogène. C'est une interface au carrefour des échanges entre l'atmosphère, la lithosphère, la biosphère et l'hydrosphère terrestre. Il intervient dans la régulation des flux d'eau, il est le lieu d'échanges et de transformations biogéochimiques intenses. C'est un milieu dynamique en constante évolution dans lequel se développent les racines des plantes et la microflore bactérienne et fongique. Cette microflore joue un rôle décisif dans l'évolution du sol et le cycle des éléments biogéochimiques prélevés par les végétaux. La figure 1.1 (page suivante) montre la complexité du sol et les différentes interactions entre tous les constituants et les acteurs de ce milieu.

La phase solide du sol est constituée de grains minéraux et d'une fraction organique minoritaire. La partie minérale provient de la désagrégation physique et de l'altération chimique des roches sous-jacentes. On sépare couramment les constituants minéraux du sol selon leur taille par une analyse granulométrique. On distingue les sables (entre 2 mm et 50 μm) les limons (entre 50 μm et 2 μm) et les argiles (inférieur à 2 μm). Les deux premières catégories sont relativement inertes chimiquement contrairement aux argiles qui possèdent des surfaces spécifiques très importantes (Stengel & Gelin, 1998). Les organismes vivants du sol (la biomasse microbienne) et les résidus organiques (débris végétaux, macromolécules ou molécules simples) constituent la matière organique (Duchaufour, 2001). La biomasse microbienne est composée de la microflore (bactéries, champignons) et de la faune du sol (protozoaires, lombrics). Elle joue un rôle important dans les processus de biodégradation de la matière. Toutefois, ce réservoir de biodiversité peut être affecté par la pollution organique ou métallique des sols.

L'atmosphère des sols est contrôlée par deux gaz à l'état libre ou dissous :

- Le dioxygène, O_2 , qui conditionne la respiration des racines et des organismes et qui intervient dans des réactions d'oxydation.
- Le dioxyde de carbone, CO_2 , produit de l'activité respiratoire, qui est nécessaire aux organismes autotrophes (capables d'élaborer eux-mêmes leurs constituants chimiques à partir de composés inorganiques simples) pour leur synthèse organique.

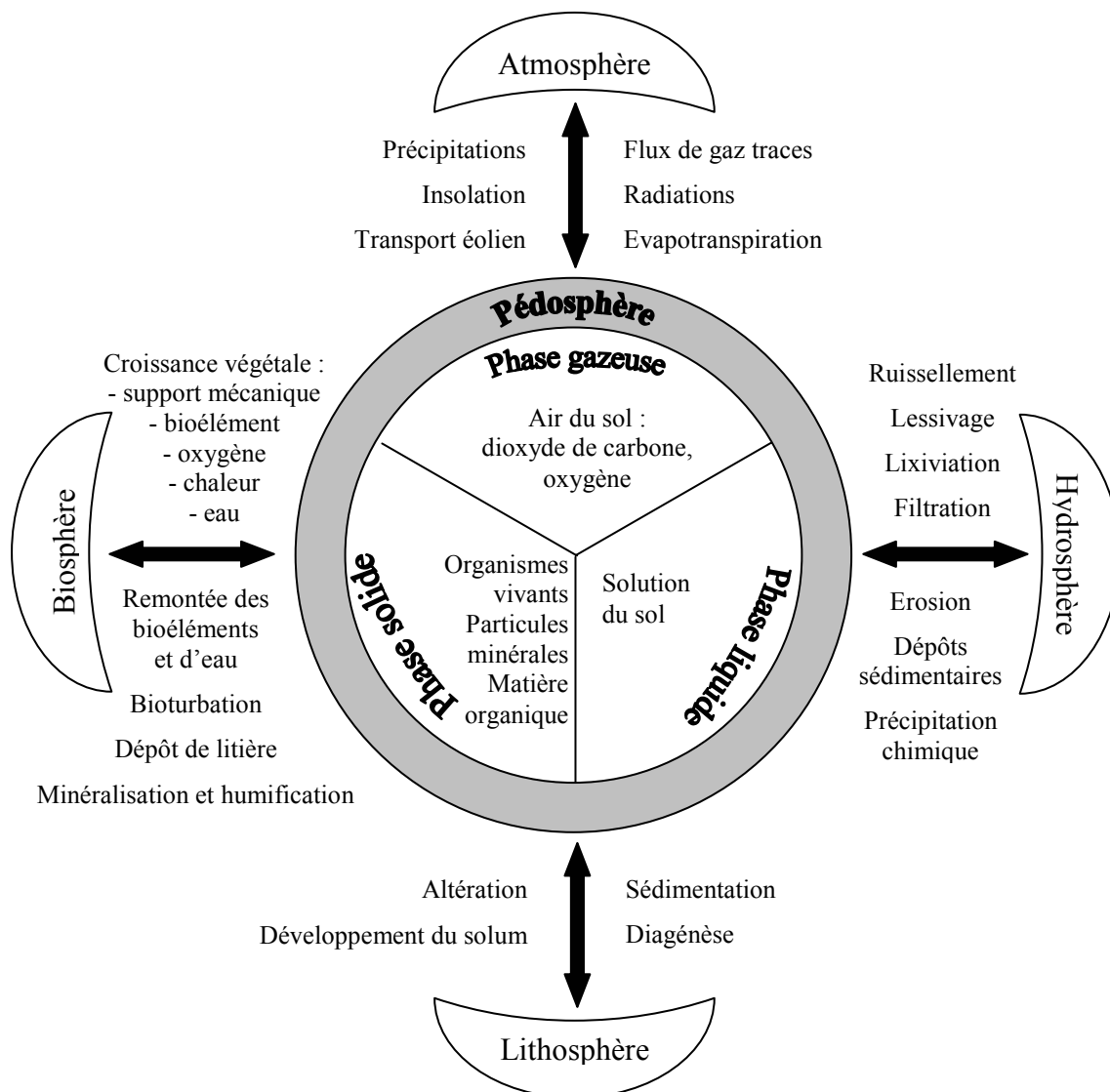


Figure 1.1 : Le sol, interface de l'environnement (Gobat *et al.*, 2003). Le solum représente la partie influencée par la matière organique et colonisée par l'enracinement. La diagénèse représente l'ensemble des changements biochimiques et physico-chimiques affectant un sédiment après son dépôt.

La rhizosphère est le volume qui est occupé par l'appareil racinaire d'une plante ou directement ou indirectement influencé par lui (Heller *et al.*, 1998). Au sein de la rhizosphère, on distingue le rhizoplan, qui correspond à l'interface sol/racine, et le sol adhérent au système racinaire, qui est le sol restant attaché au racines après agitation vigoureuse.

La racine modifie les caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques du sol rhizosphérique (Stengel & Gelin, 1998). Celui-ci diffère du sol non rhizosphérique par :

- son pH : en général il s'abaisse, en raison de l'émission de protons par la racine lors de l'absorption de cations.
- Son potentiel d'oxydoréduction (Eh) : l'abondance de matière organique très biodégradable abaisse le Eh.
- Sa matière organique (M.O.) : les racines exsudent des mucilages (polysaccharides), des acides organiques et des agents complexants.

Le volume de sol soumis à l'effet de la racine, est déterminé par la zone de diffusion des molécules organiques solubles et des composés volatils libérés par celle-ci. La rhizosphère est donc un lieu d'échange important entre le sol, la racine et la microflore.

L'acidité du sol est définie par la concentration en ion H^+ . Cependant, deux interprétations peuvent en être données. L'*acidité réelle* correspond à la concentration en ion H^+ libres, existant dans la solution du sol (c'est le pH généralement mesuré). L'*acidité potentielle* exprime la somme des ions H^+ échangeables en phase dissoute et solide (implique un nombre d'ions H^+ beaucoup plus grand). Le pH d'un sol (acidité réelle) définit la forme physico-chimique d'un élément. En effet, en solution les métaux et les organométaux existent généralement sous forme hydratée, ce qui leur confère des propriétés acido-basiques faibles, comme nous l'avons vu précédemment pour les organoétains (TBT^+ ou $TBTOH$). Comme tous les milieux dits « tamponnés », le sol s'oppose plus ou moins efficacement aux variations de pH, lorsqu'on lui incorpore soit des acides, soit des bases (Duchaufour, 2001). Cet effet tampon est dû à la présence de matière organique et de calcaire actif (système $CaCO_3 / Ca(HCO_3)_2 / H_2CO_3$).

2.2. Les principales voies d'apport des organoétains dans les sols

2.2.1. Les traitements à base de composés organostanniques en agriculture

Les organoétains ont des propriétés chimiques, physiques et biologiques très variées. C'est pour cela qu'ils sont utilisés en agriculture comme pesticides, fongicides et insecticides entre autres (Hoch, 2001). Il est maintenant clairement établi que les pesticides contenant ces composés agissent sur les organismes cibles mais également sur des organismes « non cibles » qui peuvent avoir une fonction prépondérante dans le sol ou dans les différentes parties de la plante (Kuthubutheen *et al.*, 1989).

Depuis la mise en évidence de la contamination environnementale liée aux organoétains, l'impact de ces composés sur les sols lors de l'utilisation de pesticides agricoles à base d'organoétains a été très peu étudié. Cependant cette utilisation entraîne une augmentation importante des quantités de ces contaminants dans l'environnement du fait de leur application directe sur les sols et de leur présence dans l'eau et l'air, par pulvérisation et lessivage (Kannan *et al.*, 1996). Le tableau 1.4 présente les composés qui se retrouvent dans les sols suite à leur utilisation dans l'industrie ou en agriculture.

Tableau 1.4 : Les utilisations des composés organostanniques susceptibles de représenter une source d'apport dans les sols.

Utilisation	Fonction	Composés
Agriculture	Fongicide, insecticide, acaricide, pesticide, bactéricide	TBT, TcHexT (Plictran), TPhT (Brestan, Fenbutatin, Fentin)
Stabilisant de PVC	Protection contre les dégradations thermiques et de la lumière	TBT, TMT, TOcT, DBT, DOcT

TcHexT : tricyclohexylétain ; TMT : triméthylétain ; TOcT : trioctylétain ; DOcT : dioctylétain

Depuis le début des années 1960, le TPhT et le TcHexT sont utilisés pour leurs propriétés fongiques dans le traitement préventif ou curatif de fruits, légumes et céréales (Bunden & Chapman, 1986 ; Fent, 1996b ; Hoch, 2001 ; Stäb *et al.*, 1994), mais aussi dans les vergers de noix de pécan et d'arachide (Kannan *et al.*, 1996). Les produits à base de TPhT et TcHexT

sont employés en pulvérisation, ce qui veut dire que non seulement les cultures mais également les végétaux, les sols et les eaux environnants sont contaminés. Un calcul basé sur une application annuelle de 3kg d'acétate de TPhT (fentin acetate) par hectare conduit à une contamination du sol en organoétain d'une valeur approximative de 0,75 kg(OTC) par hectare, correspondant à une quantité de $100 \mu\text{g}(\text{Sn}).\text{kg}^{-1}$ de sol sec. Or, il est reconnu que les composés organostanniques trisubstitués sont fortement sorbés aux particules de sols (Hoch, 2001). Il semblerait ainsi que le TcHexT adsorbé ne puisse être désorbé par lessivage (World Health Organisation, 1971). Cependant, la publication citée est ancienne et les moyens analytiques alors utilisés étaient limités. Aucune étude récente n'a été réalisée pour savoir si le TcHexT est biodisponible pour les plantes ou quels sont les mécanismes qui conduisent à sa sorption dans les sols. Concernant le TPhT, peu d'études ont été réalisées et la compréhension de son comportement dans le système sol / plante reste inconnu. Le TBT, quant à lui, est peu utilisé en agriculture à cause de sa haute toxicité vis-à-vis des plantes (Blunden & Chapman, 1986). Cependant, des apports indirects via par exemple l'irrigation (relargage d'OTC par des tuyaux en PVC, eaux naturelles contaminées) peuvent conduire à contaminer les sols en organoétains. Plus généralement, très peu d'études ont été faites sur la persistance et les processus de sorption / désorption des organoétains dans les sols.

2.2.2. Les boues de station d'épuration

Une autre source potentiellement importante de pollution par les organoétains est l'apport de boues de station d'épuration contaminées dans les champs cultivés.

Depuis quelques décennies, dans le cadre de la politique publique de préservation de la qualité des eaux naturelles (nappes et cours d'eau), les communes ou les agglomérations de communes ont mis en place des stations d'épuration pour le traitement des eaux usées. Celles-ci génèrent un sous produit inévitable : les boues d'épuration. Les réseaux de collecte des eaux usées ont pour fonction de recueillir les eaux usées de toutes origines et de les acheminer vers les stations d'épuration où elles sont traitées. On y dégrade et sépare les polluants de l'eau (particules et substances dissoutes) par des procédés physiques, chimiques et biologiques, pour ne restituer au milieu aquatique qu'une eau de qualité suffisante au regard de la capacité d'accueil du milieu récepteur.

Les boues sont principalement constituées de particules solides non retenues par les pré-traitements en amont de la station d'épuration (STEP), de matières organiques non dégradées,

de matières minérales et de micro-organismes (bactéries dégradatives pour l'essentiel). Elles se présentent sous forme d'une «soupe épaisse» qui subit ensuite des traitements visant en particulier à réduire leur teneur en eau. La quantité moyenne produite en France est de 15 kg de matière sèche/habitant/an (variation 10 à 25 kg/hab./an) (www.ademe.fr). Cette production est en constante augmentation (Brémond, 2004). Depuis le 1^{er} juillet 2002, le stockage des boues est interdit. Dès lors, les boues n'ont que deux voies d'élimination :

- l'incinération pour leur valorisation énergétique
- l'épandage sur des sols agricoles.

Les organoétains, du fait de leur faible solubilité dans l'eau, se retrouvent majoritairement sur les matières en suspension et sont éliminés des eaux usées par sédimentation (Fent, 1996b, White *et al.*, 1999). Le tableau 1.5 présente les niveaux de concentration en TBT et TPhT dans des stations d'épuration municipales. Ces valeurs confirment que ces deux composés sont quantitativement transférés des eaux vers les boues lors des différentes étapes de traitement et ne sont pas dégradés. On observe également des variations de concentration en organoétains selon les saisons, les lieux et les traitements d'épuration (Schnaak *et al.*, 1997).

Les études sur les boues d'épuration ont été réalisées principalement en Suisse (Becker van Slooten *et al.*, 1994 ; Fent & Müller, 1991 ; Fent *et al.*, 1989), au Canada (Chau *et al.*, 1992a) et en France (Bancon-Montigny, et al., 2001, Héninger, 1997). Les quantités de composés organostanniques dans les boues de stations d'épuration étudiées dans la littérature sont très variables, mais les boues apparaissent systématiquement contaminées.

Tableau 1.5 : Exemples de concentrations moyennes de TBT et TPhT dans les stations d'épuration

Lieu (nombre de STEP pris en compte)	Concentrations en TBT ($\mu\text{g}(\text{Sn}).\text{L}^{-1}$ d'eau ou kg^{-1} de boue - matière sèche)	Références
Canada (5)	Eaux usées : 2 - 20 Boue : 16 - 440	Chau et al., 1992a
France (2)	Eaux usées : 0,01 – 0,03 Boue : 22 - 150	Bancon-Montigny <i>et al.</i> , 2001
Suisse (3)	Eaux usées : 0,06 – 0,09 Boue : 43 - 47	Arnold <i>et al.</i> , 1998
Suisse (5)	Eaux usées : 0,06 – 0,22 Boue : 400 - 1100	Fent, 1996a
Suisse (4)	Eaux usées : 0,02 – 0,09 Boue : 280 – 1510 Eaux épurées : < 0,0004 – 0,0016	Fent & Müller, 1991
Suisse (5)	Boues en 1989 : < 20 – 270 Boues en 1991 : nd – 450	Bueno <i>et al.</i> , 1999
Suisse (3)	Boues en 1989 : nd – 100 Boues en 1991 : nd – 115	Bueno <i>et al.</i> , 1999
Allemagne (1)	Boue : 1000 - 10000	Schnaak <i>et al.</i> , 1997

Lieu (nombre de STEP pris en compte)	Concentrations en TPhT ($\mu\text{g}(\text{Sn}).\text{L}^{-1}$ d'eau ou kg^{-1} de boue - matière sèche)	Références
Suisse (3)	Eaux usées : 3 - 5 Boue : 4 - 10	Arnold <i>et al.</i> , 1998
Suisse (1)	Boue : 2000	Becker van Slooten, 1994
Suisse (25)	Boue : 40 - 3400	Fent, 1996a
France (2)	Eaux usées : 0,00 – 0,02 Boue : 0 - 54	Bancon-Montigny <i>et al.</i> , 1997

Des espèces butylées (dont le TBT) et phénylées (dont le TPhT) ont ainsi été retrouvées dans les boues suisses avec des concentrations respectives de 0.1 à 0.4 $\text{mg}(\text{Sn}).\text{kg}^{-1}$ et 0.1 à 1.51 $\text{mg}(\text{Sn}).\text{kg}^{-1}$ de matière sèche. (Fent, 1996b). En France, les boues peuvent contenir des concentrations de 0.15 à 0.24 $\text{mg}(\text{Sn}).\text{kg}^{-1}$ en butylétains (Héninger, 1997). La présence de phénylétains a également mis en évidence dans des stations d'épuration (Bancon-Montigny *et al.*, 2001). Ces concentrations sont du même ordre de grandeur que celles d'autres contaminants organiques présents à l'état de trace dans les boues, comme les PCB et les HAP.

En Suisse, la production annuelle de boues digérées est estimée à 2.7×10^5 tonnes de matières sèches, dont environ 40 à 50% sont utilisées en agriculture pour l'amendement des sols. Cette

pratique produit un apport en organoétains évalué à 800 kg d'étain par an dans ce pays. En comparaison, en France, la production de boue est d'environ 10×10^5 tonnes de matière sèches annuelles. Aucune étude statistique sur les quantités d'OTC introduites dans les sols agricoles n'a été réalisée. Cependant, en se basant sur les chiffres disponibles (60% des boues produites sont épandues – concentrations moyennes de $0.4 \text{ mg(Sn).kg}^{-1}$ en organoétains total), on obtient un apport potentiel en organoétain de 240 kg par an.

Ces différentes données confirment également la contamination quasi-systématique des boues de station d'épuration par les organoétains. Or, les risques écotoxicologiques liés à cette contamination via des boues sont très mal connus. En particulier, les conséquences de l'épandage de boues d'épuration contenant des organoétains demeurent très peu connues. Compte tenu de la toxicité de ces composés et de la valorisation des boues en agriculture, il apparaît donc important d'en évaluer l'impact sur le milieu. Pour cela, il est nécessaire d'acquérir une connaissance des phénomènes physico-chimiques impliquant les OTC dans les boues et le devenir de ces contaminants dans les sols agricoles. Des études apparaissent également nécessaires afin de déterminer le niveau de contamination des sols et des productions agricoles et le risque potentiel qui y est associé.

3. La sorption des organoétains dans l'environnement

Dans cette partie, le terme générique de sorption et les différents modèles qui en découlent sont tout d'abord expliqués. Puis nous présenterons la bibliographie traitant généralement des phénomènes de sorption dans l'environnement. Enfin, les données relatives à la sorption des composés butylés de l'étain (composés les plus fréquemment étudiés) seront présentées.

3.1. Les modèles empiriques et les processus de sorption

Le terme de sorption désigne tous les processus à l'interface solide - liquide qui conduisent à un changement de phase du soluté ou à la transformation d'une surface par la présence du soluté ou de son environnement (Sigg *et al.*, 2000).

Les principaux processus relevant de la sorption sont (Sigg *et al.*, 2000) :

- l'échange d'ions,
- la complexation de surface,
- les processus liés au caractère hydrophobe des solutés ou de la surface,
- la précipitation de surface et la coprécipitation,
- la diffusion dans la phase solide.

Le terme d'adsorption regroupe l'ensemble des processus pour lesquels les atomes, les molécules ou les ions d'une phase aqueuse (ou gazeuse) sont attirés et retenus à la surface des solides par des liaisons chimiques ou physiques (Sigg *et al.*, 2000). Plus précisément, l'adsorption se traduit par une accumulation de matière à l'interface entre deux phases (solide / liquide, solide / gazeuse et liquide / gazeuse) (Sposito, 1984). L'adsorption concerne donc tous les processus cités précédemment à l'exception de la diffusion.

On distingue deux approches fondamentales pour décrire, interpréter voire généraliser les réactions d'équilibre d'adsorption (et de désorption) à la surface :

- les isothermes d'adsorption basées sur des relations empiriques,
- les modèles conceptuels d'adsorption.

3.1.1. L'approche empirique des isothermes de sorption : le concept du K_d

Une grande majorité des études menées sur l'adsorption de contaminants sur des matériaux naturels modélise ces phénomènes par l'approche empirique des isothermes. Une certaine quantité de solide est mise en contact jusqu'à l'équilibre avec une solution contenant le composé étudié. On exprime alors la concentration de composé fixé sur la phase solide exprimée par unité de masse de solide et dénommée $\{M_S\}$ ou $[SA]$ ou C_s selon les approches et les auteurs en fonction de la concentration du composé dissous, à l'équilibre, $[M]$ (Boudou & Ribeyre, 1989). Cette relation permet de quantifier l'adsorption d'un composé sur une surface et donc de comparer différents milieux.

3.1.1.1. Les isothermes linéaires

Dans ce cas l'adsorption peut être évaluée simplement par le coefficient de distribution (ou de partition) noté K_d . Ce coefficient est en fait un paramètre quantifiant l'équilibre global représenté par l'équation :



La quantité de soluté adsorbée, SA , est directement proportionnelle à sa concentration en solution, $[A]$. Pour évaluer K_d , il est nécessaire de se placer en situation d'équilibre et donc de réversibilité. L'isotherme peut alors être décrite par :

$$[SA] = K_d [A] \quad (2)$$

De par sa simplicité, ce modèle est souvent utilisé pour représenter les équilibres d'adsorption et peut donner des prévisions acceptables (Boudou & Ribeyre, 1989). Mais il ne faut pas perdre de vue que le domaine d'application de l'isotherme linéaire est en général limité aux conditions physico-chimiques du milieu (Sigg *et al.*, 2000). Dans le cas d'isothermes non linéaires, il est généralement admis que le K_d peut malgré tout être utilisé dans le cas d'une gamme de concentrations étroite.

3.1.1.2. Les isothermes de Langmuir

Les isothermes de Langmuir sont définies à partir de la réaction d'adsorption suivante :



S désignant les sites de surface de l'adsorbant, c'est-à-dire des groupements chimiques présents à la surface et capables de fixer une molécule. A est le composé étudié, SA est la représentation des espèces adsorbées sur les sites de surface et \equiv symbolise la surface (Stumm & Morgan, 1996).

Si on suppose que tous les sites de surface présentent la même affinité pour le composé étudié A, alors la loi d'action de masse relative à la réaction permet de définir une constante d'équilibre, appelée constante de Langmuir et notée K_L :

$$K_L = \frac{[SA]}{[S][A]} \quad (4)$$

En définissant la concentration maximale de sites de surface, S_T , par

$$S_T = [S] + [SA] \quad (5)$$

on obtient :

$$[SA] = [S_T][K_L] \frac{[A]}{1 + K_L[A]} \quad (6)$$

Le tracé de la concentration adsorbée, [SA], en fonction de la concentration en solution, [A], permet d'obtenir des courbes présentant une forme hyperbolique avec un maximum d'adsorption. Ce maximum correspond à une monocouche complète qui représente une occupation totale de tous les sites de surface par le composé A (Sposito, 1984).

Cette relation permet également de décrire les phénomènes d'adsorption dans le cas d'un nombre fini de sites de surface. Les conditions de validité des isothermes de Langmuir sont, d'une part, que l'énergie d'adsorption est constante et indépendante du taux de recouvrement (c'est-à-dire que chaque site de surface a la même activité) et, d'autre part, que la réaction d'adsorption concerne des sites localisés et n'engendre pas d'interaction entre les composés adsorbés (Stumm & Morgan, 1996).

3.1.1.3. Les isothermes de Freundlich

Elles modélisent l'adsorption par une parabole d'équation :

$$[SA] = K_F [A]^n \quad (7)$$

avec K_F et n des paramètres empiriques représentant respectivement la capacité de sorption et le degré de non linéarité (appelé aussi intensité de sorption), $[SA]$ la quantité du composé sorbé par unité de masse de solide et $[A]$ la concentration du composé en solution.

Cette équation s'applique très bien pour modéliser l'adsorption sur un solide dans son ensemble, solide contenant des surfaces hétérogènes constituées de sites possédant des énergies d'interactions différentes, au contraire de la relation de type Langmuir qui décrit plus spécifiquement l'adsorption sur un type donné de sites.

L'expression empirique de Freundlich est souvent utilisée pour sa capacité à ajuster (« fitter ») les données expérimentales d'adsorption. L'adsorption n'est considérée ici que dans sa globalité comme le résultat de plusieurs mécanismes (Stumm & Morgan, 1996).

3.1.1.4. Bilan

Les isothermes tentent donc de décrire l'adsorption par l'ajustement de points expérimentaux selon une courbe de tendance. La figure 1.2 présente les graphiques correspondant aux trois cas présentés.

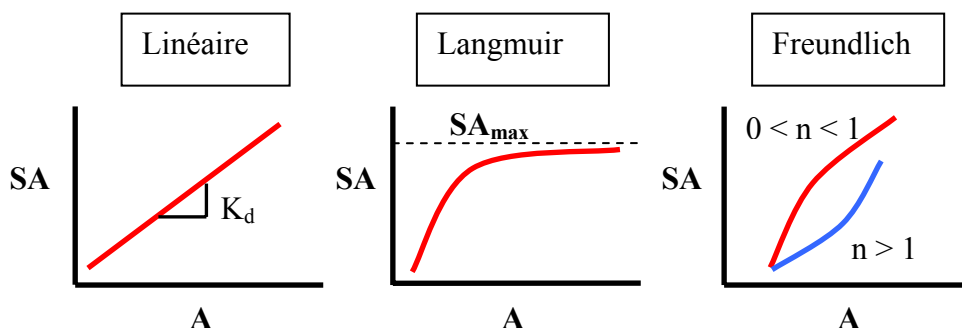


Figure 1.2 : Types d'isothermes d'adsorption les plus communes (avec $[SA]$, la concentration à l'équilibre du composé adsorbé et $[A]$ la concentration du composé en solution) (Boudou & Ribeyre, 1989).

Bien qu'ils soient employés dans la plupart des études, ces modèles empiriques ne donnent pas d'information sur les mécanismes d'adsorption. On parlera donc plutôt d'ajustements permettant de décrire l'adsorption. De plus, un processus d'adsorption est toujours le résultat de différents mécanismes d'interaction aux interfaces liquide – solide qui ne sont ni décrits, ni différenciés dans les isothermes (Sigg *et al.*, 2000). Ces isothermes permettent donc de comparer les résultats entre eux, d'évaluer le nombre de site de sorption à la surface du solide étudié et renseignent sur le type de site.

3.1.2. Description des principaux processus de sorption

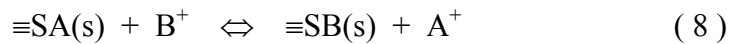
Dans cette partie, nous allons aborder les principaux modèles conceptuels les plus souvent utilisés pour décrire les mécanismes physico-chimiques d'adsorption des composés. Nous nous focaliserons sur ceux mis en jeu lors de la sorption des organoétains.

3.1.2.1. L'échange d'ions

Dans son sens le plus général, le terme d'échange ionique représente le remplacement d'un ion de la phase solide en contact avec une solution par un autre ion échangeable ; c'est-à-dire le remplacement d'un ion adsorbé échangeable par un autre (Stumm & Morgan, 1996).

Dans le cas des sols, seules les surfaces des argiles, de par leurs propriétés intrinsèques, sont considérées comme des échangeurs d'ions. En effet, les propriétés chimiques de surface des argiles sont attribuées aux fonctions chimiques des composants de la structure de l'argile. Une argile est constituée de feuillets formés par des tétraèdres de silicium, des octaèdres d'oxyde d'aluminium ou d'hydroxyde de magnésium. Des substitutions isomorphes entre les différents cations peuvent intervenir. Ces constituants exposent alors à la surface de l'argile des charges négatives permanentes (Stumm & Morgan, 1996). Ces charges sont compensées par des cations inorganiques hydratés ou pas, venant à la surface et qui sont échangeables avec d'autres cations de la solution. Un ion ou un édifice polyatomique chargé positivement peut alors se lier par échange stœchiométrique d'ions présents à la surface (c'est un échange avec les ions de l'interfeuille).

On peut schématiser la réaction d'échange d'ion par l'équation suivante (Sposito, 1994) :



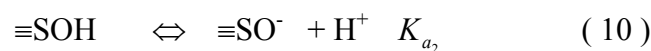
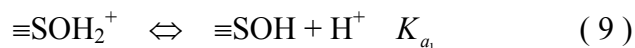
où $\equiv\text{S}$ représente la surface solide porteuse d'une charge négative, et A et B les cations échangeables.

Chaque surface a une capacité plus ou moins importante à échanger des cations, en fonction de ses caractéristiques physico-chimiques. On parle alors de capacité d'échange cationique (CEC) (Stumm & Morgan, 1996). Elle s'exprime en nombre de cations adsorbés par unité de masse de sorbant.

La réaction d'échange est un concept strictement macroscopique englobant plusieurs types de mécanismes d'échange au niveau moléculaire. Dans le sol, la plupart des réactions d'échange qui se produisent, mettent en jeu des ions comme H^+ , Ca^{2+} ou Al^{3+} pour des pH inférieurs à 4 et des ions tels que Na^+ , Mg^{2+} ou Ca^{2+} pour des pH supérieurs à 7 (Sposito, 1994).

3.1.2.2. La complexation de surface

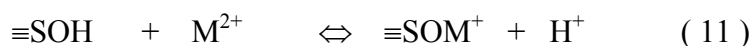
Les surfaces des différents types de solides du sol (par exemple les argiles ou les sables) possèdent des groupements fonctionnels ionisables ($-\text{OH}$, $-\text{COOH}$,...) En milieu aqueux, ces groupements (notés $\equiv\text{SOH}$) ont un comportement amphotère et peuvent libérer ou capter des protons (Dzomback & Morel, 1990). Ces réactions acido-basiques peuvent être formulées de la manière suivante (Sigg *et al.*, 2000) :



Du fait des propriétés acido-basiques de la surface, le pH du milieu va donc influencer la sorption des composés. La surface va alors être chargée positivement pour de faibles pH et négativement pour des pH élevés (Salomons & Förstner, 1988), selon les réactions précédentes.

En solution, un métal solvaté peut s'adsorber de deux manières différentes sur la surface :

- Dans la partie minérale du sol, la complexation de surface d'un cation (par exemple par des oxy-hydroxydes) implique la formation de liaisons avec les atomes d'oxygène présents sur la surface et la libération d'un proton. Les atomes d'oxygène jouent alors le rôle de ligands (Dzomback & Morel, 1990) :



où M représente un métal ou un organométal. Dans ce cas, la liaison formée entre l'atome d'oxygène et le métal, est de type covalente. Cette réaction n'est possible qu'après le départ d'au moins une molécule d'eau de la couche de solvation du métal. Le complexe de surface formé est appelé « de sphère interne ». Ce type de complexe peut ainsi conserver une partie de sa sphère d'hydratation du côté de la solution (Stumm & Morgan, 1996).

- Un autre type de complexe est également possible en solution. Si le métal garde sa couche de solvation et reste à distance de la surface (il en est séparé par une ou plusieurs molécules d'eau), une interaction purement électrostatique se crée via une des molécules d'eau de la couche de solvation et un site chargé de la surface ($\equiv\text{SOH}^{2+}$ ou $\equiv\text{SO}^-$), avec formation de paires d'ions. Certains auteurs parlent alors de complexes de sphère externe (Stumm, 1992). La figure 1.3 illustre ces deux types de complexes.

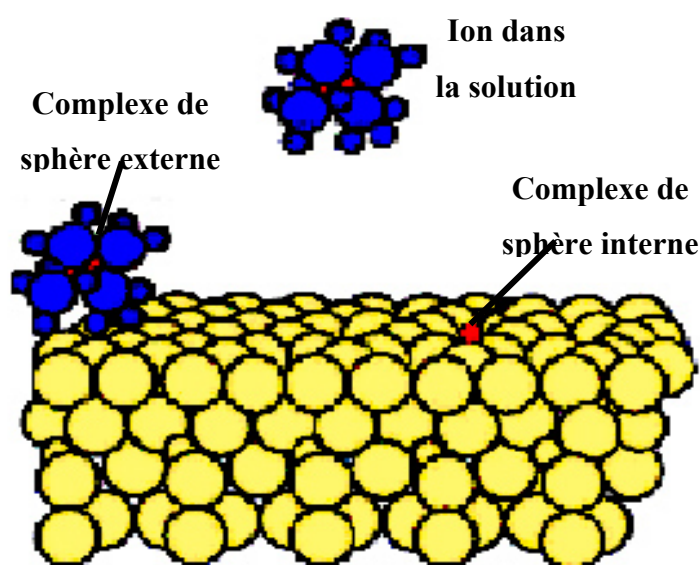


Figure 1.3 : Représentation tridimensionnelle des complexes de sphère externe et interne qui peuvent être formés à la surface d'un solide (d'après (Stumm, 1992)).

Le modèle de complexation de surface est facile à manipuler de par l'analogie entre les processus d'adsorption et les processus en solution.

3.1.2.3. L'adsorption liée au caractère hydrophobe

Les composés hydrophobes, comme les organoétains, sont solubles dans des solvants non polaires, et peu solubles dans l'eau (Sigg *et al.*, 2000). La sorption de solutés organométalliques aux interfaces solide – eau dépend de la quantité de carbone organique contenu par le sorbant. Le coefficient de distribution, K_d , évalue la répartition des molécules entre les deux phases. Il est exprimé en fonction de la quantité de carbone organique f_{oc} du solide et de son coefficient de partage octanol - eau, K_{ow} (Stumm & Morgan, 1996) :

$$K_d = b f_{oc} (K_{ow})^a \quad \left(\frac{\text{mol.Kg}^{-1} \text{ solide}}{\text{mol.L}^{-1} \text{ eau}} \right) \quad (12)$$

où a et b sont des constantes.

On considère donc que la matière organique du solide se comporte de la même manière que l'octanol.

Durant un processus global de sorption, le caractère hydrophobe peut aussi être mis en jeu comme second mécanisme d'adsorption, particulièrement pour des molécules organométalliques. Par complexation de surface, une première couche de soluté vient se fixer par sa partie inorganique sur la surface solide, la rendant neutre. Il s'en suit une adsorption supplémentaire du soluté attiré par les chaînes carbonées hydrophobes de la première couche de soluté sorbé (Behra *et al.*, 2003).

3.1.2.4. Bilan

Les trois modèles conceptuels présentés, décrivant les trois principaux mécanismes d'adsorption, sont généralement largement mis en jeu dans les sols. Cependant, compte tenu de la diversité des supports – inorganiques (argiles / oxydes) et organiques – présents dans les sols, il semble évident que ces trois processus doivent être considérés simultanément pour décrire l'adsorption d'une espèce chimique. Chacun de ces mécanismes aura un poids plus ou moins important en fonction du type de sol et des conditions physico-chimiques du milieu.

3.1.3. La cinétique de sorption

La cinétique globale de sorption d'un composé sur une surface tient compte des phénomènes de transport du composé jusqu'à la surface (convection, diffusion) et du processus physico-chimique de sorption (Stumm & Morgan, 1996). Même si la plupart de ces processus sont thermodynamiquement possibles, la cinétique reste un facteur limitant et elle permet de décrire comment le système étudié évolue d'un état A vers un état B où l'équilibre est atteint (Sigg *et al.*, 2000).

La cinétique d'adsorption varie également en fonction de plusieurs paramètres et notamment du pH, de la force ionique, du rapport solide / solution (Dzomback & Morel, 1990).

3.1.3.1. Définition générale de la cinétique d'une réaction

La cinétique d'une réaction rend compte de la vitesse avec laquelle s'effectue cette réaction. Si l'équation générale d'une réaction est :



alors la vitesse de réaction, v , se définit par la variation des concentrations $[B]$ et $[A]$, par rapport au temps, t (Arnaud, 1993) :

$$v = \frac{d[B]}{dt} = -\frac{d[A]}{dt} \quad (14)$$

La relation établie entre la vitesse et les concentrations constitue la loi de vitesse qui ne peut être établie que de façon expérimentale. Généralement, elle prend la forme suivante :

$$v = k [A]^m [B]^n \quad (15)$$

où v est la vitesse de réaction, k la constante de vitesse, $[A]$ et $[B]$ les concentrations des réactif et produit, m et n , les ordres partiels de la réaction par rapport à chacun des réactifs et $(m + n)$, son ordre global.

Les réactions **d'ordre 1** possèdent des lois de vitesse de la forme :

$$v = -\frac{d[A]}{dt} = k[A] \quad d'o\grave{u} \quad \frac{d[A]}{A} = -k dt \quad (16)$$

En appelant $[A]_0$ la concentration initiale de A on obtient par intégration :

$$\ln[A] = \ln[A]_0 - kt \quad (17)$$

La loi de vitesse d'une réaction **d'ordre 2** peut être de la forme $v = k[A]^2$ ou $v = k[A][B]$.

On peut alors écrire :

$$v = -\frac{d[A]}{dt} = k[A]^2 \quad d'o\grave{u} \quad -\frac{d[A]}{[A]^2} = kt \quad (18)$$

et l'intégration de cette équation conduit, compte tenu des conditions initiales ($[A] = [A]_0$) à :

$$\frac{1}{[A]} = \frac{1}{[A]_0} + kt \quad (19)$$

Toutes ces lois cinétiques sont des relations mathématiques entre des grandeurs définies au niveau macroscopique.

3.1.3.2. Mécanismes réactionnels et cinétique appliqués au sol

Dans le cas spécifique de l'adsorption, le soluté doit d'abord atteindre la surface afin que la réaction d'adsorption puisse avoir lieu. Ce transfert préliminaire comprend deux étapes (Stumm & Morgan, 1996) :

- **le transfert externe** : il existe à l'interface solide-liquide une couche de liquide immobile due à la viscosité de ce dernier, dont l'épaisseur varie selon la vitesse du liquide. Pour se fixer sur le solide, le composé doit traverser cette couche par diffusion moléculaire.

- **le transfert interne** : après être parvenu au contact du solide, il est possible que le composé ne puisse se fixer qu'après avoir migré par diffusion dans le liquide occupant les pores interstitiels de la phase solide.

Après ces deux étapes, les réactions physico-chimiques d'adsorption (par échange d'ions, complexation de surface ou interactions hydrophobes) se produisent. La cinétique résultante décrit la façon dont l'équilibre thermodynamique est atteint (Sigg *et al.*, 2000). Souvent, l'étape d'adsorption est plus rapide que les transferts externes et internes (Stumm & Morgan, 1996).

Lorsque l'échange d'ions est le phénomène prépondérant, la cinétique est considérée comme instantanée. Dans le cas de la complexation de surface, les réactions sont considérées comme très rapides (Sigg *et al.*, 2000).

Les cinétiques d'ordre 1, 2, ...n, décrites précédemment, sont relatives à la chimie des solutions. En science du sol plus spécifiquement, il existe une loi appelée **loi d'Elovich**, permettant de décrire la cinétique d'adsorption et de désorption sur les minéraux (Stumm & Morgan, 1996). Elle s'exprime de la façon suivante :

$$\frac{d\Gamma}{dt} = k_1 \exp(-k_2\Gamma) \quad (20)$$

avec Γ représentant la quantité de soluté adsorbée par unité de masse de sol sec et k_1 et k_2 , des paramètres constants. Cette équation tient compte des transferts interne et externe.

La solution de cette équation est (Sposito, 1984) :

$$\Gamma(t) = \frac{1}{k_2} \ln(k_1 k_2 t_0) + \frac{1}{k_2} \ln\left(1 + \frac{t}{t_0}\right) \quad (t \geq t_c) \quad (21)$$

où
$$t_0 = \frac{\exp(k_2\Gamma_c)}{k_1 k_2} - t_c \quad (t_c \geq 0)$$

et Γ_c est la valeur de Γ au temps t_c , temps t à partir duquel la vitesse d'adsorption est décrite par l'équation 14. Dans une majorité de cas, t_c est déterminé comme étant égal à 0, et Γ_c est la valeur initiale de Γ dans le sol.

D'autres auteurs ont décrit les phénomènes de sorption en appliquant des modèles cinétiques que l'on nomme **pseudo-ordre 1** et **pseudo-ordre 2** (Azizian, 2004 ; Rengaraj, 2004). Ces modèles sont décrits dans le chapitre 4 – Article A de ce mémoire de thèse.

3.2. La sorption des composés organostanniques dans l'environnement

3.2.1. Introduction

Les organoétains sont à présent reconnus comme des substances toxiques ubiquistes dans l'environnement. L'Union Européenne a édité une liste de composés prioritaires dans laquelle figurent le tributylétain (TBT) et le triphénylétain (TPhT) ainsi qu'une liste sur les substances ayant une action dans la perturbation endocrinienne (seul le TBT y figure). Le but de ces listes est de contrôler les rejets et leur devenir dans les systèmes environnementaux afin de maintenir la qualité du milieu (COM (2001) 262 final). La contamination des ports et des estuaires par les organoétains a fait l'objet de nombreuses études (Fent & Hunn, 1995 ; Lespes & Montigny, 1997 ; Moore *et al.*, 1992 ; Stäb *et al.*, 1994). D'autres travaux ont également été réalisés dans les boues de stations d'épuration (Bancon-Montigny, *et al.*, 2001 ; Becker van Slooten, *et al.*, 1994 ; Chau, *et al.*, 1992a ; Fent, 1996a ; Héninger, *et al.*, 1998).

En ce qui concerne les sols, la compréhension du comportement des organoétains vis-à-vis des différentes phases solides et aqueuses est très importante pour connaître leur biodisponibilité pour les micro-organismes et les plantes. La caractérisation des interactions entre les organoétains et le sol ainsi que l'identification des atomes impliqués dans les liaisons à la surface solide joue un rôle prépondérant dans la compréhension de la réactivité des contaminants (Ballivet-Tkatchenko *et al.*, 1993). Cependant la complexité des sols rend très difficile l'interprétation des phénomènes d'adsorption de ces molécules. L'utilisation de modèles permettrait de décrire puis de comprendre les mécanismes fondamentaux de l'adsorption afin de déterminer la dynamique des contaminants dans les systèmes naturels au niveau moléculaire (Hermosin *et al.*, 1993).

Quelques articles traitent de ce problème ainsi que plus spécifiquement des transferts eau – sol – plante (Behra *et al.*, 2003 ; Kannan *et al.*, 1996 ; Simon *et al.*, 2002 ; Weidenhaupt *et al.*, 1997). Les données à ce sujet demeurent cependant très éparses. De plus, et malgré l'impact environnemental extrêmement néfaste du TBT et du TPhT, des études systématiques concernant les processus d'adsorption et de désorption des organoétains sont peu nombreuses.

On peut cependant citer les quelques expériences de sorption réalisées en réacteurs fermés (batches) ou ouverts (colonnes) sur des substrats tels que des sédiments marins (Berg *et al.*, 2001 ; Hoch *et al.*, 2003 ; Langston *et al.*, 1995 ; Ohtsubo, 1999 ; Unger *et al.*, 1988), des acides humiques (Arnold *et al.*, 1998b ; Poerschmann *et al.*, 1997), de la silice (Ballivet-Tkatchenko *et al.*, 1993 ; Bueno *et al.*, 2001), des argiles (kaolinite, montmorillonite, illite) (Hermosin *et al.*, 1993 ; Weidenhaupt *et al.*, 1997), des hydroxydes d'aluminium (Ballivet-Tkatchenko *et al.*, 1993), des sables (Bueno *et al.*, 1998, 2001). L'influence de différents paramètres tels que la spéciation des organoétains et les conditions physico-chimiques du milieu (pH, force ionique, compétition avec d'autres cations) a également été étudiée vis-à-vis de la sorption des composés organostanniques sur ces matériaux.

La majorité de ces études a été consacrée aux espèces trisubstituées et en particulier au TBT et au TPhT. Cet intérêt vient du fait que ces composés sont considérés comme les espèces de l'étain organique les plus toxiques.

Cependant, pour l'ensemble de ces travaux, les concentrations étudiées ne sont pas forcément proches de celles rencontrées dans l'environnement (c'est-à-dire de l'ordre de quelques ng(Sn).L⁻¹ à quelques dizaines de ng(Sn).L⁻¹ dans les eaux douces). Les études réalisées avec des niveaux de concentrations faibles, voire à l'état de trace, sont très peu nombreuses. Il n'y a guère que Bueno et al qui ont travaillé avec des concentrations de l'ordre de quelques centaines de ng(Sn).L⁻¹ à quelques centaines de µg(Sn).L⁻¹ (Bueno *et al.*, 1998, 2001).

Behra et al. (2003), Hoch et al. (2002), Weidenhaupt et al. (1997) ont, quant à eux, effectué leur expériences dans des gammes de concentrations du milligramme par litre voire du gramme par litre pour O'Loughin et al. (2000). Or il est nécessaire de travailler à l'état de trace afin de rendre compte des concentrations environnementales et des comportements directement liés à ces concentrations.

Dans les sols et du fait de leurs propriétés acido-basiques, on retrouve les triorganoétains (TOT) présents majoritairement sous forme neutre, TOT-OH, ou cationique, TOT⁺ (Weidenhaupt et al. 1997). Comme nous l'avons vu précédemment, la surface de certaines particules du sol possède également des propriétés acido-basiques. De plus, ces surfaces présentent un comportement amphiphile dû à leur nature organique et inorganique. Ces propriétés physico-chimiques particulières affectent donc le comportement des OTC et influent sur la capacité de ces molécules à se sorber sur les solides du sol.

Comme nous l'avons vu précédemment, la façon la plus simple de décrire l'adsorption d'un composé sur une surface est d'utiliser le concept du coefficient de distribution, K_d . La valeur de ce coefficient est influencée entre autre par le pH et la force ionique de la solution ainsi que par la quantité de matière organique, la nature du solide et la concentration du contaminant. Ceci a pour effet d'élargir la gamme de valeurs de K_d . Le tableau 1.6 (situé sur la page suivante) présente quelques valeurs de K_d , pour plusieurs OTC, selon le pH et le sorbant utilisé.

La variabilité très grande des valeurs de K_d trouvés dans la littérature est attribuée aux différentes conditions expérimentales et aux diverses caractéristiques des sorbants utilisés dans ces études (Hoch et al. 2003). Cependant une tendance générale peut être mise en avant : lorsque la quantité de matière organique présente dans les phases sorbantes est élevée, on note des valeurs de K_d beaucoup plus grandes que pour les phases minérales seules. Il semble donc que la matière organique (MO) ait une influence très fortement positive sur l'adsorption des organoétains. Cette observation est particulièrement importante par rapport aux pratiques d'épandage de boues de station d'épuration riches en matière organique et contaminées en organoétains.

3.2.2. Influence du pH et de la force ionique

Le pH est le paramètre qui influence très fortement l'adsorption de molécules sur une surface. De ce fait, il est quasiment toujours pris en compte dans les études recensées dans la littérature. Langston et Pope (1995) par exemple, ont étudié une solution à 3,8 ng (Sn).L⁻¹ de TBT pour six valeurs de pH comprises entre 4,65 et 9,18. Ils obtiennent une courbe d'adsorption, sur des sédiments estuariens, en forme de cloche dont le maximum est atteint pour un pH d'environ 6,5.

Weidenhaupt et al. (1997) ont quant à eux, effectué un titrage sur deux solides (silice et Na⁺-kaolinite) pour des concentrations en triorganoétains (TBT et TPhT) de 3,8 et 6,8 mg (Sn).L⁻¹. Ils obtiennent des maxima d'adsorption pour les deux espèces dans la gamme de pH comprise entre 5,5 et 7,5.

Ces résultats sont expliqués par la présence simultanée, dans cette même zone de pH :

- d'un nombre maximum de sites de surface négatifs, $\equiv\text{SO}^-$, susceptibles d'adsorber les cations organostanniques par complexation
- de la prédominance des composés trisubstitués sous la forme cationique TBT⁺ et TPhT⁺ en solution.

Tableau 1.6 : Valeurs du coefficient de partition K_d en fonction du pH et de la phase sorbante utilisée, pour quelques organoétains.

Conditions expérimentales			Adsorption	
OTC	pH	Sorbant	K_d en L.kg ⁻¹	Auteurs
TBT	4	Mg ²⁺ kaolinite	14	Weidenhaupt <i>et al.</i> , 1997
TBT	4	K ⁺ kaolinite	83	
TBT	4	K ⁺ montmorillonite	57	
TBT	4	K ⁺ illite	50	
TBT	4	Na-Montmorillonite	63	
TBT	4	Kaolinite	47	Hoch <i>et al.</i> , 2003
TBT	6	Na-Montmorillonite	89	Hoch <i>et al.</i> , 2003
TBT	6	Kaolinite	51	
TBT	6	Sable de quartz (99%)	25	
TBT	7	Na+ Kaolinite	1460	Weidenhaupt <i>et al.</i> , 1997
TBT	7	Sédiment riche en kaolinite	65	Hoch <i>et al.</i> , 2002
TBT	7,5	Sédiment contenant 29% de carbone organique	17783	Poerschmann <i>et al.</i> , 1997
TBT	7,5	Sable contenant moins de 0,05% de carbone organique	501	
TBT	8	Sédiment contenant 50% de kaolinite et 50% illite	59	Hoch <i>et al.</i> , 2003
TBT	8	Sédiment riche en illite	70	
TBT	8	Sédiment riche en montmorillonite	63	
TBT		Sédiment naturel	1300	Ohtsubo, 1999
TBT	8	Sédiment riche en kaolinite	29	Hoch <i>et al.</i> , 2002
TBT	?		8200	Unger <i>et al.</i> , 1987
TBT	?	sédiment de la baie	1300	
TBT	?	Chesapeake (USA)	600	
TBT	?		110	
TPhT	7,5	Sable contenant moins de 0,05% de carbone organique	562	Poerschmann <i>et al.</i> , 1997
TPhT	7,5	Sédiment contenant 29% de carbone organique	7943	
MBT	7,5	Sédiment contenant 29% de carbone organique	1778	Poerschmann <i>et al.</i> , 1997
MBT	7,5	Sable contenant moins de 0,05% de carbone organique	891	

Conditions expérimentales			Adsorption	
OTC	pH	Sorbant	K_d en L.kg ⁻¹	Auteurs
DBT	4	Sédiment contenant 50% de kaolinite et 50% illite	24	Hoch <i>et al.</i> , 2003
DBT	4	Sédiment riche en montmorillonite	115	
DBT	4	Sédiment riche en kaolinite	38	
DBT	5	Sédiment riche en kaolinite	25	Hoch <i>et al.</i> , 2003
DBT	5	Sédiment contenant 50% de kaolinite et 50% illite	29	
DBT	5	Sédiment riche en montmorillonite	121	
DBT	6	Sédiment riche en kaolinite	95	
DBT	6	Sédiment contenant 50% de kaolinite et 50% illite	54	
DBT	6	Sédiment riche en montmorillonite	263	
DBT	7	Sédiment contenant 50% de kaolinite et 50% illite	46	
DBT	7	Sédiment riche en montmorillonite	103	
DBT	7	Sédiment riche en kaolinite	79	
DBT	7,5	Sable contenant moins de 0,05% de carbone organique	398	
DBT	7,5	Sédiment contenant 29% de carbone organique	6310	
DBT	8	Sédiment riche en montmorillonite	40	Hoch <i>et al.</i> , 2003
DBT	8	Sédiment riche en illite	33	
DBT	8	Sédiment contenant 50% de kaolinite et 50% illite	12	
DBT	8	Sédiment riche en kaolinite	21	
TeBT	7,5	Sable contenant moins de 0,05% de carbone organique	562	Poerschmann <i>et al.</i> , 1997
TeBT	7,5	Sédiment contenant 29% de carbone organique	28184	
TeET	7,5	Sable contenant moins de 0,05% de carbone organique	316	Poerschmann <i>et al.</i> , 1997
TeET	7,5	Sédiment contenant 29% de carbone organique	1585	

Bueno et al. (1998) ont étudié l'effet de la force ionique et du pH sur l'adsorption à de plus faibles concentrations du TBT (2 à 600 $\mu\text{g}(\text{Sn})\cdot\text{L}^{-1}$). Ces expériences ont été menées en colonne remplie par un sable de quartz naturel pour simuler l'écoulement d'une eau contaminée à travers le sable. Ils démontrent que l'effet de la force ionique est moindre par rapport à celui du pH qui semble être le facteur le plus influent sur la sorption. La sorption du TBT diminue quand la force ionique augmente. La rétention maximale apparaît pour un pH compris entre 6 et 7. Ce phénomène est expliqué par une compétition entre le cation TBT^+ et les cations de l'électrolyte. Cependant, quel que soit le cation présent dans l'électrolyte (Li^+ , Na^+ , K^+ , Rb^+), l'adsorption n'est pas significativement influencée par la nature du cation.

Plus récemment, Hoch et al. (2003) ont étudié l'adsorption sur des sédiments en simulant des conditions marines. Ils ont montré que l'adsorption du DBT est influencée par la salinité de la solution et le pH. Les résultats donnent également un maximum d'adsorption pour $\text{pH} = 6$ et une salinité nulle (c'est-à-dire une force ionique nulle). Si la salinité augmente, la valeur de K_d chute quel que soit le type de support utilisé (pour la kaolinite, par exemple, le K_d est de 245 $\text{L}\cdot\text{kg}^{-1}$ pour une salinité nulle alors qu'elle n'est que de 21 pour une salinité de 32‰). Ce résultat confirme les conclusions de Weidenhaupt et al (1997) sur l'influence négative de l'augmentation de la force ionique sur l'adsorption du TBT sur une argile. De plus, pour un pH compris entre 4 et 7 l'ordre d'adsorption quantitatif sur un sédiment argileux est $\text{DBT} > \text{TBT}$ alors que c'est l'inverse pour $\text{pH} > 7$. Les mécanismes d'adsorption des espèces butylées sont contrôlés par les propriétés de surfaces du sorbant et la chimie en solution aqueuse des espèces. Ces deux paramètres dépendent fortement du pH de la solution qui, en conséquence, va agir sur la quantitativité de l'adsorption (Hoch *et al.*, 2003).

L'ensemble des ces études a démontré que le pH d'adsorption maximal du TBT est situé entre 6 et 7. Cette donnée est valable pour l'ensemble des phases sorbantes étudiées. Selon les espèces, Arnold et al. (1998) confirment plus généralement que le maximum d'adsorption, c'est-à-dire la valeur de K_d maximale, est obtenu pour un pH proche du pK_a de l'espèce correspondante (pour le TBT, $\text{pK}_a = 6,25$, pour le TPhT, $\text{pK}_a = 5,20$) (Arnold *et al.*, 1998).

3.2.3. Influence de la nature du solide, de la matière organique et de la concentration en organoétains

La nature du solide (le sorbant) a une influence très importante sur la sorption des organoétains car :

- selon le sorbant étudié, le nombre de sites de sorption est variable,
- en fonction de la composition chimique du matériau de la surface, les mécanismes de sorption seront différents. Ces mécanismes seront abordés dans la partie suivante (3.2.4)

Ainsi, Behra et al. (2003) ont remarqué que la forme de l'isotherme d'adsorption du TBT variait en fonction du solide étudié (quartz pur, sable de quartz, sable traité et kaolinite) et de la concentration en organoétains (de 3 à 150 mg (Sn).L⁻¹).

Hoch et al. (2003) ont interprété la sorption du DBT sur quatre sédiments riches en argile. Ils obtiennent des isothermes linéaires pour tous les matériaux et sur toute leur gamme de concentrations (0 à 0.83 mg (Sn).L⁻¹). La quantitativité de l'adsorption du DBT suit la tendance de la capacité d'échange cationique (CEC) des différents solides ; plus la CEC est élevée, plus le DBT s'adsorbe sur le matériau.

L'état de la surface du solide, et en particulier sa charge, influence également la sorption des organoétains sur ces solides. Il a été mis en évidence que l'affinité du TBT est plus importante pour les sorbants qui ont un faible pH_{pzc} (pH pour lequel la charge de surface du solide est nulle), comme par exemple, les silices ($pH_{pzc} = 2-3$) ou les quartz ($pH_{zpc} = 1-3$) au contraire de la kaolinite ($pH_{zpc} = 2-6$) et des hydroxydes ($pH_{zpc} = 7-9$) (Behra *et al.*, 2003).

Weidenhaupt et al. (1997) qui ont étudié la sorption du TBT et TPhT sur différentes argiles (kaolinite, montmorillonite et illite), sur des hydroxydes (de fer et d'aluminium) et sur des oxydes (silice), confirment cette observation, non seulement pour le TBT mais également pour le TPhT. Ainsi dans ces conditions d'étude seule la silice, SiO₂ (pH_{pzc} faible), possède une affinité avec les organoétains.

Ces résultats montrent donc l'influence importante de la nature du milieu et des surfaces sur la quantitativité de l'adsorption.

En ce qui concerne la matière organique, les résultats sont plus contradictoires. Ainsi, selon Poerschmann et al. (1997), la sorption de composés possédant des propriétés hydrophobes, comme les organoétains, dépend fortement du contenu en matière organique des sols et des sédiments. La sorption sur des sédiments augmente également avec le degré d'alkylation du

composé, c'est-à-dire, avec l'hydrophobicité. Par contre, Arnold et al. (1998) indiquent que dans leurs études sur la sorption des triorganoétains sur des acides humiques, la concentration en ces derniers n'a aucun effet sur la valeur du coefficient de distribution.

La concentration des contaminants, c'est-à-dire le nombre de molécules qui peut réagir avec la surface peut également avoir une influence sur la sorption. Par conséquent, si tous les sites de sorption sont occupés, la molécule peut rester en solution ou se sorber à la première couche de contaminant déjà sorbé.

Ainsi, Behra *et al.* (2003) constate expérimentalement que la sorption du TBT est fonction du solide étudié (nombre de sites de sorption disponibles) et de la concentration en TBT. Pour les concentrations faibles ($< 12 \text{ mg (Sn).L}^{-1}$) on trouve des isothermes en forme de S (sable brut) alors qu'elle a une forme langmuirienne si on applique à ce sable un traitement qui enlève les argiles et les (hydr)oxydes de Fe, Al et Mn de la surface des grains. Entre 12 et 45 mg(Sn).L^{-1} , on observe un plateau sur les isothermes relatives aux quatre solides mais avec des concentrations en TBT sorbé différentes. Pour les concentrations supérieures à 45 mg(Sn).L^{-1} , la forme de l'isotherme est convexe et les concentrations en TBT sorbées sont élevées pour le sable et le quartz (plus de $30 \mu\text{mol.m}^{-2}$ soit environ 9 mg.m^{-2}), alors qu'elles restent plus de dix fois plus faibles pour l'argile ($2,5 \mu\text{mol}$ soit $0,75 \text{ mg}$ de TBT sorbé par m^2) (Behra *et al.*, 2003).

De manière similaire, Hoch *et al.* (2003) mettent en évidence l'influence de la nature d'un sédiment riche en argile sur la quantitativité de la sorption du DBT en fonction de la capacité d'échange cationique de ces différents solides et de la concentration en organoétains.

Pour résumer, les données de la littérature démontrent que la capacité des organoétains à se sorber sur un solide naturel dépend d'un nombre considérable de paramètres ce qui est reflété par la variation importante des valeurs de K_d . Il apparaît déjà que la composition de la phase solide (nature des fonctions chimiques à la surface) ainsi que le pH jouent un rôle très important vis-à-vis de la quantitativité de l'adsorption. La présence ou non de matière organique va également influencer le devenir de organoétain de le système sol / plante. La concentration des organoétains reste encore un paramètre à étudier, car les concentrations rencontrées dans l'environnement sont bien plus faibles que celles prises en compte dans la plupart des travaux de la bibliographie.

3.2.4. Cinétiques et mécanismes de sorption des organoétains

Très peu d'études portant sur la cinétique d'adsorption des organoétains ont été effectuées. Les travaux référencés dans la littérature montrent que la sorption des organoétains sur les argiles se déroule en deux temps : une première réaction rapide qui correspond à un échange de cations suivie par une réaction plus lente, due à l'interaction hydrophobe. Ces deux étapes répondent à une cinétique d'adsorption de premier ordre (Hermosin *et al.*, 1993). On peut généraliser en affirmant que la sorption des triorganoétains sur les argiles est rapide et réversible (Weidenhaupt *et al.*, 1997) alors que sur les sédiments, elle est plutôt lente (Berg *et al.*, 2001). Aucun modèle ni mécanisme n'est proposé dans ce cas. Cependant, compte tenu des différentes données disponibles, la sorption liée au caractère hydrophobe intervient probablement, soit dans la partie organique du sédiment, soit dans sa partie inorganique en mécanisme secondaire.

Bueno *et al.* (1998 et 2001) ont décrit l'adsorption du TBT sur une colonne de sable par des isothermes de type Langmuir. Par contre, Arnold *et al.* (1998), Hoch *et al.* (2003), O'Loughlin *et al.* (2000) ont modélisé l'adsorption du TBT sur des argiles et la matière organique (expériences en batchs) par des isothermes linéaires.

Hermosin *et al.* (1993) quant à eux, ont étudié l'adsorption du MBT sur des argiles et l'ont modélisée par un mélange d'isothermes de Langmuir et de Freundlich. Cette modélisation traduit la multitude des phénomènes mis en jeu en fonction des conditions du milieu et donc, la difficulté à en rendre compte.

Selon Behra *et al.* (2003), le TBT pourrait se sorber soit par formation de complexes de surface entre le cation TBT^+ et les sites de surface de la silice soit à cause d'interactions hydrophobes. D'après les résultats de leur étude, pour des concentrations en TBT inférieures à $12 \text{ mg (Sn).L}^{-1}$ et à pH inférieur à 6,25, la partie inorganique de la molécule (le métal) joue un rôle prépondérant et, de par ces caractéristiques cationiques, est impliquée directement dans le processus de complexation. Le mécanisme correspondant serait alors un échange entre le sodium (Na^+) et le TBT^+ . Pour les faibles concentrations, on assiste à un échange de cation suivi par la formation d'un complexe entre l'atome d'étain et le ligand de surface déprotoné.

Quand la concentration en TBT est supérieure à $30 \text{ mg (Sn).L}^{-1}$, le mécanisme évoqué est en deux temps. Une monocouche de molécule de TBT est d'abord formée par interaction entre l'atome Sn et les sites de surface, les chaînes alkylées de l'organoétain se plaçant vers l'eau. Il

se forme alors un complexe de sphère interne. Ce phénomène rend la surface hydrophobe. Puis c'est la partie organique qui détermine le mécanisme d'adsorption par ses interactions hydrophobes avec la surface, comme le décrit la figure 1.4. Hermosin *et al.* (1993) ont proposé le même mécanisme pour le DBT sur des argiles. D'autres auteurs (Arnold *et al.*, 1997 ; Weidenhaupt *et al.*, 1997) s'accordent pour modéliser la sorption des triorganoétains par un mécanisme en deux temps, dû au double comportement (hydrophile et hydrophobe) de ces espèces.

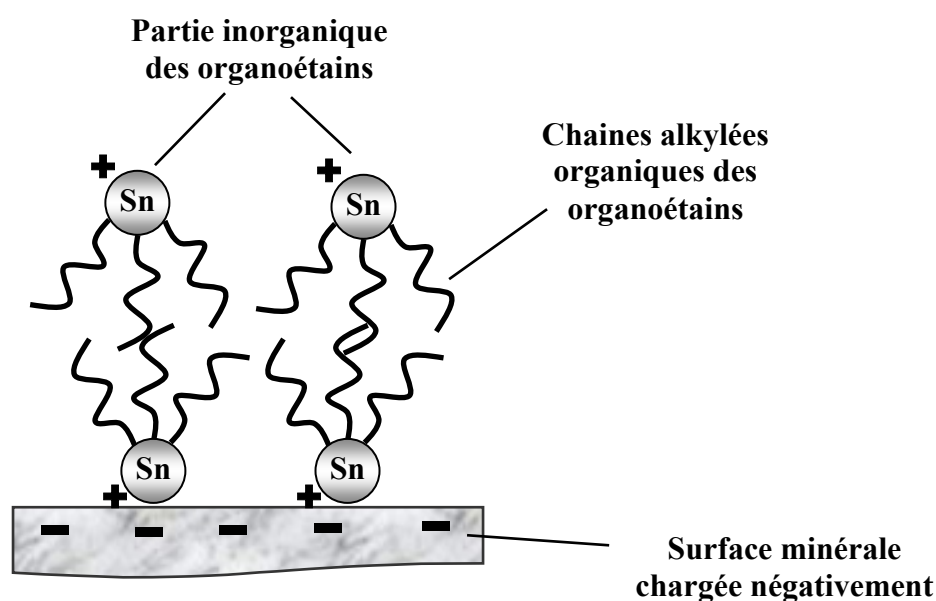


Figure 1.4 : Mécanisme de sorption, en deux temps, du TBT (selon Behra *et al.*, 2003).

Les résultats de Weidenhaupt *et al.* (1997) montrent que l'adsorption des cations de triorganoétains pour de faibles pH (inférieurs à 4) est gouvernée par les forces électrostatiques et donc par la formation de complexes de sphère externe avec les argiles. Pour les pH supérieurs, ils ne sont pas parvenus à distinguer entre la formation de complexes de sphère interne ou externe.

En ce qui concerne l'adsorption des organoétains sur la matière organique, peu de données sont disponibles dans la littérature. Les expériences de Arnold *et al.* (1998) montrent que l'adsorption des triorganoétains sur des acides humiques peut être ajustée par des isothermes linéaires. Ces résultats sont en accord avec ceux de O'Loughing *et al.*, (2000) également sur l'adsorption du TBT sur des acides humiques. Arnold *et al.* (1998) suggèrent, pour un pH voisin de 6, un mécanisme par complexation du TBT⁺ par les ligands déprotonés de la matière

organique. Berg *et al.* (2001) ajoutent que la sorption d'organoétains en présence de matière organique est réversible et que ces composés forment des complexes de sphère interne entre l'atome d'étain et les ligands de la surface. La figure 1.5 résume les différents mécanismes de sorption pouvant être mis en jeu.

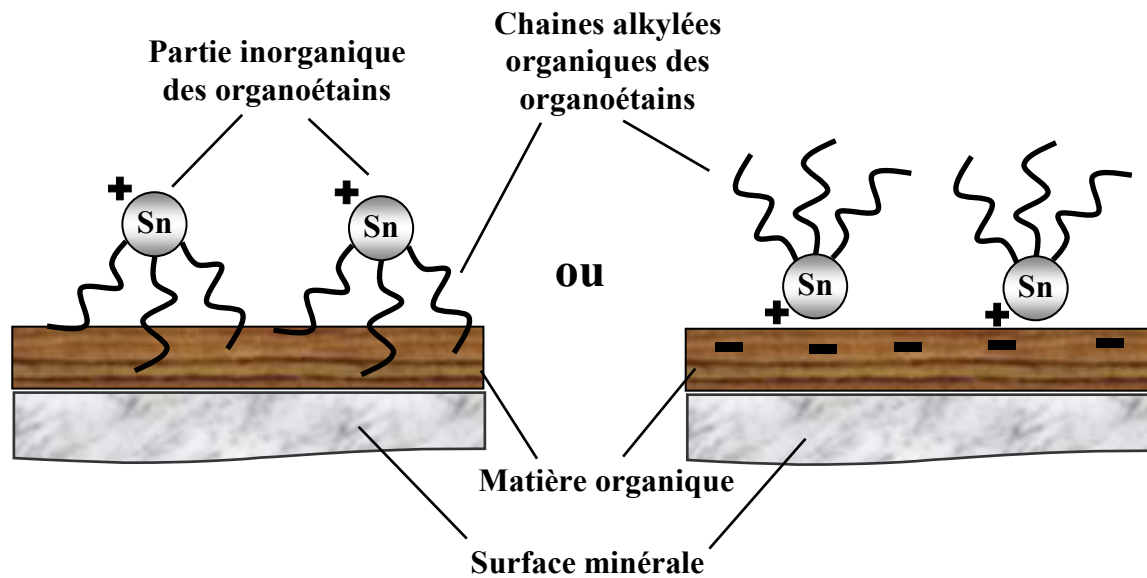


Figure 1.5 : Deux mécanismes de sorption possibles pour le TBT sur une surface organique.

La modélisation de l'adsorption des organoétains sur des surfaces solides n'est donc pas chose facile. Toutes ces études montrent, en effet, que :

- le mécanisme initial de sorption dépend non seulement du support, mais également de la concentration en organoétain et de la composition du milieu.
- il existe bien souvent un mécanisme secondaire de sorption.

4. Les organoétains et leurs interactions avec le monde vivant

4.1. Biodisponibilité, biotransformations et biodégradations

Afin que la plante puisse prélever les éléments minéraux et autres espèces chimiques, dont les organoétains contenus dans le sol, ils doivent être sous une forme disponible à moins que la plante puisse développer un mécanisme capable de les rendre disponibles (Greger, 2004). Parce que le terme de biodisponibilité (et bioaccessibilité) peut avoir plusieurs significations selon la discipline étudiée, il est important de définir ces termes pour la suite de notre étude.

4.1.1. La biodisponibilité

En écotoxicologie, la biodisponibilité est généralement définie comme la proportion d'une espèce chimique pouvant être disponible pour une action biologique comme le prélèvement par une plante, et interagir avec cette cible (Rand, 1995).

Certaines définitions spécifient que pour les plantes terrestres, un élément chimique est biodisponible s'il est présent ou s'il peut être transformé en « ion libre », soit encore s'il peut entrer dans la racine de la plante et affecter le cycle de vie de ce végétal (Nolan *et al.*, 2003).

La biodisponibilité peut donc être considérée comme un processus interactif et dynamique. Il faut donc prendre en considération la cible relative à la biodisponibilité, les voies d'exposition et/ou de prélèvement ainsi que le flux chimique et le temps. Cette approche comprend deux phases différentes et distinctes (Peijnenburg *et al.*, 1997) :

- un phénomène physicochimique qui consiste à désorber l'espèce. On parle alors de disponibilité chimique.
- Le processus de prélèvement par l'organisme considéré qui est un phénomène physiologique. Il s'agit alors de disponibilité biologique qui peut conduire à des effets néfastes pour l'organisme.

Dans les sols, la biodisponibilité et la mobilité des contaminants sont déterminées par leur distribution dans les divers compartiments du sol. Elles peuvent être affectées entre autre par la nature du contaminant, le pH, la quantité de matière organique apportée, le potentiel

d'oxydoréduction, l'humidité ainsi que les oxydes de fer et de manganèse (Figure 1.6) (Adriano, 2001).

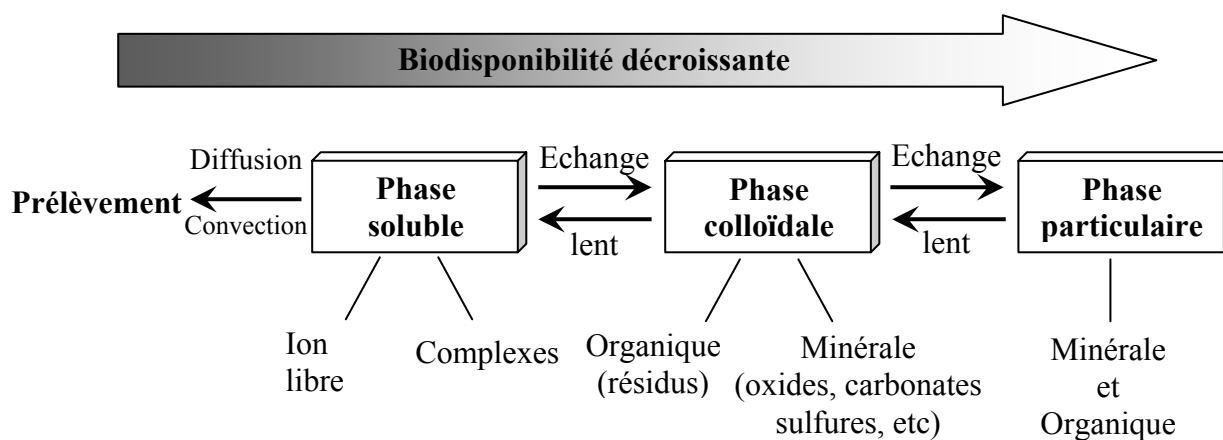


Figure 1.6 : Tendance de la biodisponibilité en fonction des formes des métaux dans les sols et les sédiments (Adriano, 2001).

Par conséquent, les conditions environnementales jouent un rôle très important dans le concept de biodisponibilité car elles déterminent les équilibres mis en jeu dans le système (mécanismes physicochimiques de sorption, transfert vers le végétal et dépendances mutuelles entre le milieu et le végétal).

4.1.2. Biodégradations et biotransformations

La dégradation des organoétains implique la perte séquentielle des différents groupements organiques liés à l'atome d'étain selon le schéma suivant (Thayer, 1984) :



où R représente un groupement organique.

Ces réactions font appel à des mécanismes biotiques ou abiotiques. Les facteurs abiotiques les plus significatifs dans les écosystèmes aquatiques et terrestres sont les clivages chimiques ou sous l'effet de rayons ultraviolets. Cette voie de dégradation reste cependant globalement négligeable selon la plupart des auteurs (Dowson *et al.*, 1996 ; Dubey & Roy, 2003 ; Kawai *et al.*, 1998 ; Landmeyer *et al.*, 2004 ; Tsang *et al.*, 1999). La dégradation des organoétains aurait donc lieu principalement du fait de processus biotiques. Il semblerait que ces réactions

interviennent par l'action de bactéries, d'algues ou de champignons (Gadd, 2000 ; Tsang *et al.*, 1999). Ces organismes vivant peuvent également induire des phénomènes d'accumulation, de relargage, de dégradation, de biométhylation et de déméthylation (Gadd, 2000).

La majorité des études portant sur les biotransformations des organoétains a été réalisée en milieu aquatique (sédiments et eaux marins, eaux douces et systèmes estuariens) et majoritairement sur le TBT.

Celui-ci peut être dégradé en DBT et MBT très rapidement par des organismes marins dans une colonne d'eau. Les temps de demi-vie sont alors de quelques jours. Il est souligné que le taux de dégradation peut varier en fonction de la nature et de la densité de la population bactérienne, de la solubilité du composé, de la quantité de matière organique dissoute/particulaire, du pH, de la salinité, de la température et de la lumière. Dans les sédiments marins et d'eau douce, la biodégradation des organoétains est beaucoup plus lente, conduisant à des temps de demi-vie supérieurs à 2 ans. Cela indique clairement que la sorption des ces contaminants sur les phases solides réduit considérablement la biodisponibilité aux microorganismes (Dubey & Roy, 2003).

Dans les environnements aquatiques, et bien qu'un grand nombre d'espèces microbiologiques puissent dégrader le TBT, un nombre très limité d'entre-elles ont été identifiées. Concernant les micro-algues, Tsang *et al.* (1999) ont démontré que deux espèces de *Chlorella* possédaient la capacité de dégrader séquentiellement le TBT en DBT par accumulation intracellulaire du TBT. De plus, une des deux espèces est même capable de métaboliser le DBT en espèce encore moins toxique, le MBT (Tsang *et al.*, 1999). La figure 1.7 ci-après montre les voies de biodégradation et de métabolisation des ces deux micro-algues.

Harino *et al.* (1997) ont étudié la biodégradation du TBT et du TPhT par une population bactérienne de *Pseudomonas diminuta* dans une eau de rivière polluée à Osaka au Japon. Il en résulte que le TBT est très rapidement dégradé par ces bactéries alors que le TPhT n'est que très peu altéré (Harino *et al.*, 1997 ; Kawai *et al.*, 1998).

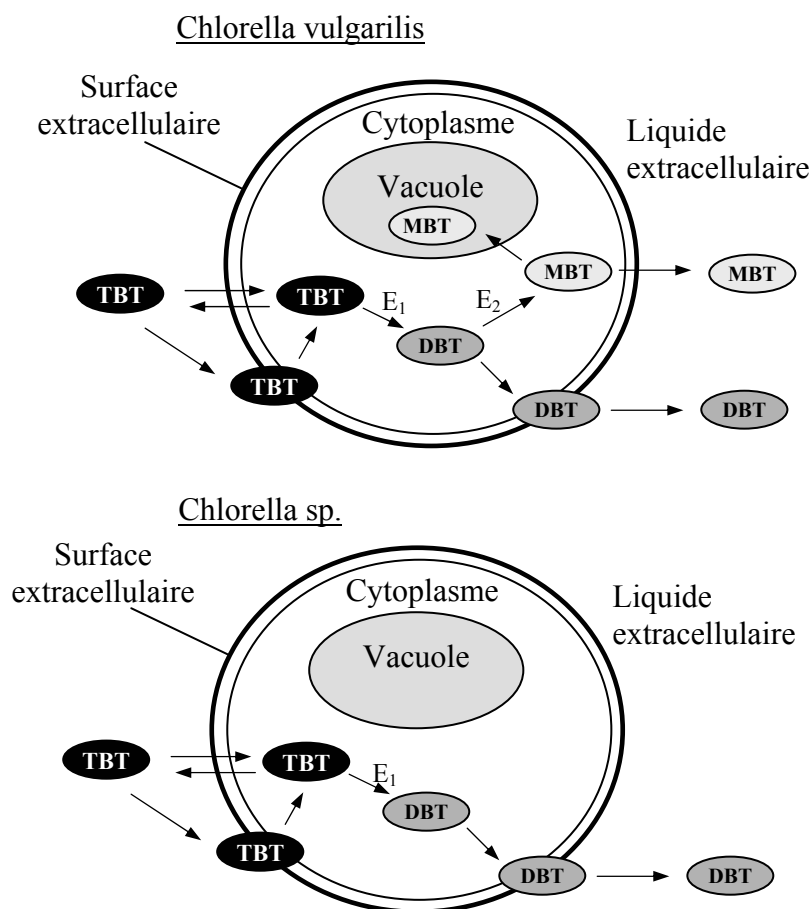


Figure 1.7 : Schéma des voies de métabolisation du TBT dans les microalgues *C. vulgaris* et *Chlorella sp.* E₁ et E₂ sont les enzymes métabolisantes du TBT et du DBT respectivement (Tsang *et al.*, 1999).

Peu d'études sur la biodégradation de organoétains dans les sédiments ont été réalisées. Landmeyer *et al.* (2004) ont évalué le taux de biodégradation du TBT dans les sédiments d'une rivière dans laquelle un rejet très important de plusieurs organoétains (notamment TBT et TOcT) s'est produit. Des biodégradations de premier ordre ont permis de calculer des constante de biodégradation variant de -0.002 à -0.024 jour⁻¹ (Landmeyer *et al.*, 2004). Tessier (2004) trouve des constantes comparables.

Les travaux soulignant l'activité de micro-organismes dans la dégradation ou la transformation des organoétains dans les sols restent très anecdotiques. Kuthubutheen *et al.* (1989) ont comparé l'effet de deux triorganoétains (Ph₃SnCl et Ph₂BuSnBr) et d'un fongicide

commercial (Thiram, Ph_3SnOAc) sur les populations bactériennes et fongiques d'un sol. Des concentrations de fongicides et de triorganoétains de 10 à 250 $\mu\text{g}(\text{Sn})\cdot\text{g}^{-1}$ ont été utilisées.

Après application des différents produits, il en résulte que la population de champignons est diminuée par quatre alors que la population de bactéries a été multipliée par 3 à 12 fois selon le produit employé. Cet accroissement serait dû à la disponibilité de nutriments pour les bactéries provenant de la mort des champignons (Kuthubutheen *et al.*, 1989).

Dans les sols, Barug a montré que des bactéries Gram négatif, *Pseudomonas aeruginosa* et *Alcaligenes faecalis* et des champignons, *Trametes versicolor*, *Coniophora puteana* et *Chaetmium globosum* pouvaient dégrader l'oxyde de TBT par un processus de désalkylation (Barug, 1981). Il est également intéressant de noter que certaines espèces de *Pseudomonas* sont capables de bioaccumuler le TBT jusqu'à 2% de leur poids sec (Gadd, 2000).

Enfin, l'utilisation intensive des biocides triorganostanniques (notamment du TBT et du TPhT) a engendré l'apparition de plusieurs espèces de microorganismes ayant développé une résistance ou une tolérance à ces composés. Certains, tels que *Alteromonas sp.*, sont même capables de biodégrader les espèces tétra- ou trisubstituées de l'étain (White *et al.*, 1999). Du fait de leur hydrophobicité et de leur répartition solide / liquide, les organoétains ont tendance à interagir avec les phases non aqueuses et la matière organique du sol. Ceci a pour conséquence de les rendre potentiellement inaccessibles à la dégradation microbienne car les bactéries dégradent les composés chimiques uniquement quand ils sont dissouts dans l'eau (Johnsen *et al.*, 2005). De plus, la grande solubilité des organoétains dans les lipides permet leur pénétration dans les cellules des organismes et l'association avec des sites intercellulaires (Gadd, 2000). L'élimination de tels composés hydrophobes est facilitée par leur biotransformation en composés hydrosolubles polaires (Dubey & Roy, 2003). On peut par exemple supposer que le TBT sera désalkylé pour diminuer le caractère organique et hydrophobe afin d'atteindre le composé minéral, moins toxique pour les organismes vivants.

Concernant les microorganismes présents dans les boues activées, une étude démontre que le TBT et le TPhT présents sur la phase particulaire sont biodégradés à 99 % et 74 % respectivement par dégradation catabolique. De plus, en utilisant des cinétiques de premier ordre pour décrire cette biodégradation, des temps de demi-vies égaux à 1,4 et 5,0 jours ont été calculés pour le TBT et le TPhT respectivement (Stasinakis *et al.*, 2005).

Les microorganismes sont à la base de la chaîne alimentaire et sont les acteurs principaux des transformations environnementales subies par les organoétains. La compréhension de telles

transformations est de ce fait nécessaire afin de déterminer le devenir et les effets des organoétains dans l'environnement.

4.2. Les organoétains dans les végétaux

Les différentes données expérimentales disponibles dans la littérature montrent que les métaux lourds et les composés organométalliques peuvent être présents dans les sols, les sédiments, les eaux voire même dans l'atmosphère.

Pour se développer, la plante va puiser les nutriments dont elle a besoin dans la solution du sol, absorbant en même temps les contaminants y étant présents. Elle peut également absorber, souvent de manière passive, des éléments par voie foliaire, suite à une contamination atmosphérique. La plante développe des mécanismes de prélèvement plus ou moins spécifiques d'un élément et en particulier de ses formes physico-chimiques. Ces éléments, alors disponibles pour la plante, sont effectivement assimilés par celle-ci. On peut donc considérer que l'absorption d'un élément par la plante résulte directement de son activité métabolique.

4.2.1. Prélèvement et accumulation des éléments dans les plantes

4.2.1.1. Evaluation du transfert sol-plante

Pour mesurer l'accumulation dans un système biologique déterminé, on utilise le « facteur de bioaccumulation » (FBC ; aussi appelé facteur de bioconcentration) défini selon (Bliefert & Perraud, 2001) :

$$FBC = \frac{\text{concentration d'un composé dans un être vivant}}{\text{concentration du même composé dans le milieu environnant (par ex. l'eau ou le sol)}}$$

La bioaccumulation est ainsi définie comme le processus d'assimilation et de concentration d'un élément dans l'organisme.

4.2.1.2. *Du sol aux racines*

Pour pouvoir être prélevé, le contaminant doit donc nécessairement être en contact ou à proximité de la racine, dans la rhizosphère. Cette zone du sol est soumise à l'influence des racines et les propriétés physico-chimiques du sol sont modifiées. On y trouve les éléments minéraux et organiques du sol susceptibles d'entrer dans la racine, les constituants excrétés par les racines (comme des ion H^+) et des micro-organismes. Or dans les sols, les métaux et composés organométalliques existent principalement sous forme :

- d'ions ou de complexes dissous en milieu aqueux,
- d'ions occupant des sites ioniques échangeables sur les constituants inorganiques ou organiques du sol (sorption sur la phase particulaire),
- de complexes de surface, en particulier avec la matière organique des sols,
- de précipités ou d'autres composés insolubles (carbonates, oxydes, hydroxydes, composés silicatés).

Seuls les éléments sous forme dissoute, dans la solution de sol, sont donc directement disponibles pour la plante. La présence d'acide ou de ligands dans les sols peut également rendre disponibles des espèces chimiques qui ne le sont pas à l'origine, par exemple les formes adsorbées.

L'absorption de contaminants par la plante se fait, majoritairement, par le système racinaire, excepté pour quelques conditions particulières (pulvérisation de traitements agricoles, retombés atmosphériques issues de sites industriels). C'est dans la zone des poils absorbants des racines que l'absorption est la plus intense. L'efficacité des poils absorbants est due au fait qu'ils augmentent la surface de contact entre la solution de sol et la racine, comme le montre la figure 1.8 (Laberche, 2004).

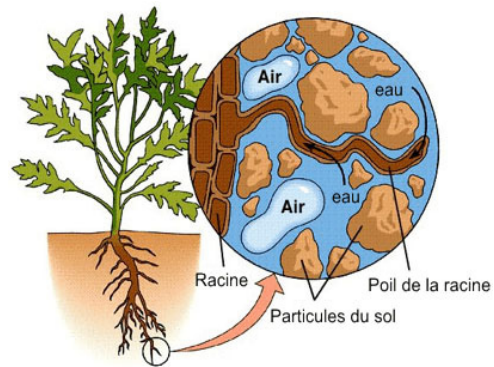


Figure 1.8 : Schéma d'une plante dans un sol.

Une coupe schématique d'une racine est donnée dans la figure 1.9.

La racine présente une symétrie axiale et une structure bien définie :

- **les poils absorbants** (ou assise pilifère) sont le prolongement des cellules du rhizoderme (cellules superficielles).
- **Le parenchyme cortical** (tissu externe) est formé de cellules laissant entre elles d'importants espaces. Les substances dissoutes doivent traverser leur membrane plasmique et le cytoplasme (substance intracellulaire), d'où un contrôle par ces cellules des ions et autres substances absorbées.
- **Le cylindre central** est limité par l'**endoderme**. Plus au centre, des vaisseaux de **xylème** parcourent la racine. Ils alternent régulièrement et sur un seul cercle avec les tubes criblés du **phloème**. Les uns et les autres représentent les tissus conducteurs de la racine. C'est dans ces tissus que circulent la sève brute (le xylème) et la sève élaborée (le phloème).

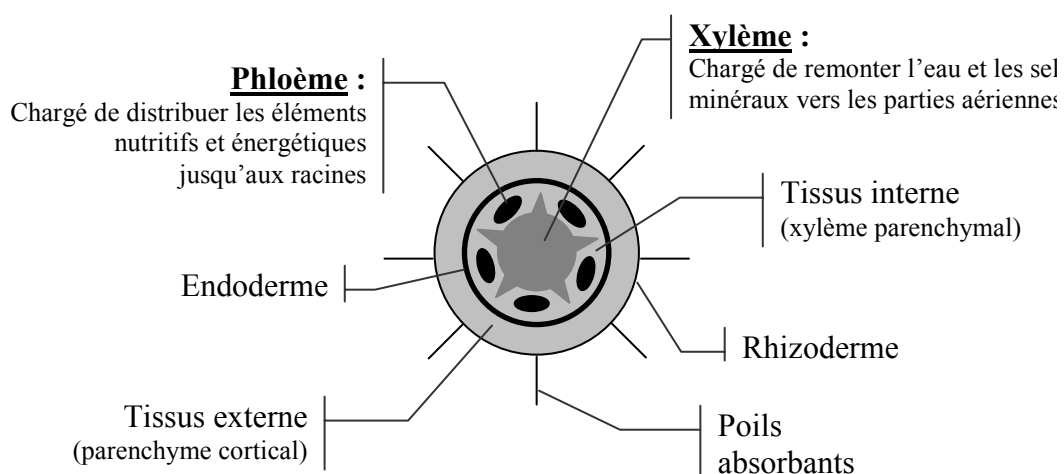


Figure 1.9 : Présentation schématique d'une coupe de racine d'une plante.

L'absorption de l'eau est en partie basée sur les phénomènes d'osmose. Si deux solutions contenant un soluté en concentrations différentes sont séparées par une membrane perméable, le solvant du compartiment le moins concentré va passer de l'autre côté pour équilibrer les concentrations. Le flux convectif est pour l'essentiel induit par la transpiration qui a lieu au niveau foliaire. Le déficit d'eau qui apparaît à ce niveau est à l'origine d'un phénomène d'aspiration qui, des vaisseaux conducteurs, se prolonge jusque dans la racine, puis au sol.

A ce phénomène s'ajoute une absorption active des éléments essentiels indépendante du flux hydrique. La majorité des ions nécessaires à la plante pénètre à l'aide de mécanismes actifs (pompe à protons, canaux ou transporteurs protéiques membranaires) qui permettent l'absorption d'un ion ou d'une molécule au travers une membrane contre son gradient de concentration. Cette absorption induit, en théorie, une baisse locale de la concentration en élément à la surface de la racine. Cela engendre un flux diffusif d'éléments, du sol éloigné vers la surface racinaire. Les éléments non essentiels à la plante peuvent cependant être absorbés au niveau des racines, par des mécanismes passifs. Ces mécanismes sont dits passifs parce que la cellule n'a pas à fournir de l'énergie pour que ces substances puissent traverser la membrane. Le principe de base de la diffusion est la tendance qu'ont des molécules de se répandre selon un gradient de concentration : elles vont d'une région où elles sont plus concentrées vers une région moins concentrée.

Cependant dans le cas des composés organométalliques (comme les organoétains), aucun mécanisme permettant de franchir la membrane cellulaire n'a été encore identifié.

En résumé, la disponibilité des espèces chimiques pour l'absorption racinaire est fonction de trois facteurs rhizosphériques (Laberche, 2004) :

- la rapidité de diffusion des espèces le long du gradient de concentration formé entre la phase aqueuse du sol (où les espèces métalliques sont présentes), et la sphère d'action de la racine (la rhizosphère), où elles sont moins concentrées à cause de l'absorption par la plante.
- la croissance des racines et de leurs poils absorbants, qui permet d'augmenter la surface de contact racine / sol.
- le potentiel de transport avec l'eau des espèces chimiques, selon le gradient de potentiel hydrique entre le sol et les poils absorbants des racines. En effet, généralement le potentiel hydrique est plus faible dans la plante (dans des conditions d'irrigation normales) du fait de l'évaporation de l'eau par transpiration foliaire.

D'autre part, les métaux ainsi que les éléments minéraux nécessaires à l'alimentation de la plante sont véhiculés par la solution de sol. La composition exacte de cette solution, variable suivant les sols, est difficile à déterminer car il est presque impossible de l'extraire sans la contaminer par des éléments minéraux venus des particules ou des colloïdes (Heller *et al.*, 1998). Cependant, certains paramètres physico-chimiques de la solution de sol influencent également la biodisponibilité des espèces chimiques vis-à-vis de la plante :

- Les colloïdes du sol qui sont capables d'adsorber les cations. Cette adsorption est réversible et les ions adsorbés peuvent être échangés contre des protons ou d'autres cations. Il peut donc y avoir libération des cations métalliques transportés par les colloïdes au voisinage des racines.
- Le pH de la solution de sol. Il est normalement compris entre 5 et 8 pour les sols agricoles français, avec des valeurs pouvant atteindre 3 ou 9,5 pour des conditions particulières. Il conditionne la microflore du sol (les bactéries ne se développent pas en deçà de pH 6) et les phénomènes d'échange à l'interface solide / liquide. Les racines elles-mêmes contribuent à l'abaissement localisé du pH par l'excrétion d'ions H^+ .

Par conséquent, plusieurs facteurs biotiques ou abiotiques vont influencer le prélèvement d'éléments traces du sol par la plante. La biomasse racinaire dans le sol, la température, le pH et la nature des formes chimiques à proximité de la plante en sont des exemples. De plus les organismes vivants du sol et la plante elle-même peuvent modifier la chimie du sol et de la solution de sol dans la rhizosphère afin de faciliter le prélèvement (McLaughlin, 2001).

4.2.1.3. Des racines aux feuilles

Le transport vers les parties aériennes de la plante est effectué par le xylème (ce transport est appelé translocation). Pour arriver jusqu'au xylème (c'est-à-dire des cellules racinaires externes au xylème), les espèces chimiques peuvent suivre plusieurs trajets (voir figure 1.10):

- par voie apoplasmique : les espèces circulent entre les cellules dans les espaces existants entre les parois cellulosesiques et dans ces mêmes parois,
- par voie symplasmique : les espèces traversent la membrane plasmique d'une cellule puis circulent de cellules en cellules par l'intermédiaire des plasmodesmes (canaux

cytoplasmiques qui relient deux cellules adjacentes en formant des sortes de « ponts » au travers des parois cellulaires),

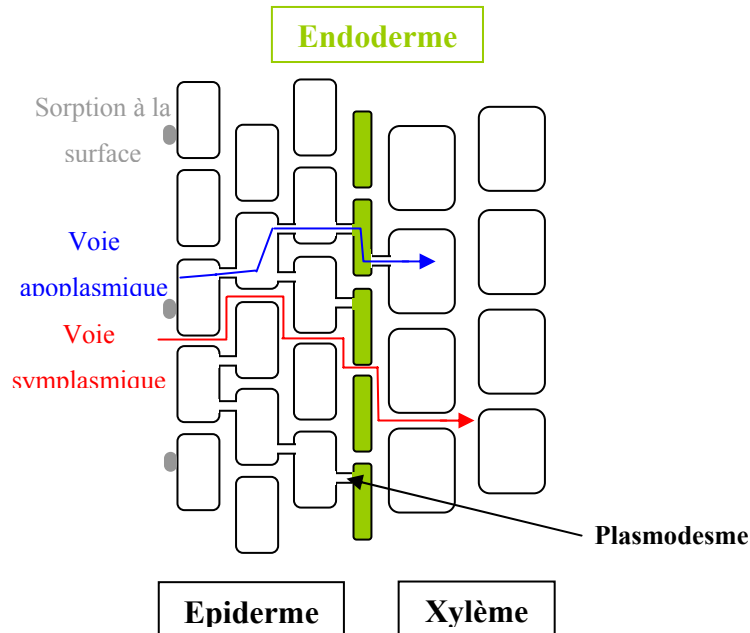


Figure 1.10 : Schéma de principe de l'absorption d'élément par la plante (d'après Laberche, 2004).

Quand les éléments sous formes ioniques arrivent dans les cellules du rhizoderme, leur transport dans le tissu végétal est facilité par complexation à différentes molécules :

- des peptides (molécules composées d'un petit nombre d'acides aminés reliés par des liaisons peptidiques) telles que phytochélatines (peptide composé d'un assemblage de trois acides aminés, la cystéine, l'acide glutamique et la glycine).
- Des protéines (ex : ferritines et metallothionéines) ou des acides organiques (ex : citrate, aminoacide)

Après leur absorption par les racines, les métaux peuvent être accumulés par la racine ou transportés vers les parties aériennes par l'intermédiaire de la sève xylémique. Ce flux d'ions métalliques dans le xylème nécessite la chélation des métaux aux acides organiques et principalement aux citrates (Briat & Lebrun, 1999). La majeure partie des métaux atteint le xylème par la voie symplasmique racinaire. Une fois dans le xylème, les éléments sont présents soit sous forme d'ions hydratés soit complexés (Clemens *et al.*, 2002). Ils deviennent

alors disponibles pour l'ensemble de la plante. Ils sont ainsi transportés vers les parties aériennes de la plante et intégrés au métabolisme général de la plante. Par la suite, ils peuvent circuler via le phloème et revenir éventuellement dans la partie racinaire. Ils peuvent ainsi s'accumuler dans certaines parties ayant des fonctions de stockage.

Lorsque les éléments ont été distribués dans toute la plante, ceux qui sont essentiels mais en excès et ceux qui ne sont pas essentiels, sont pris en charge par diverses molécules pour être stockés sous formes non toxiques. Des protéines spécifiques comme les ferritines (pour le fer) et les métallothionéines (pour le cuivre et le zinc) assurent une partie de ce stockage intracellulaire. Une accumulation trop importante d'élément toxique peut cependant générer un stress oxydatif chez les plantes qui réagiront en activant des mécanismes de défense (Briat & Lebrun, 1999).

Aucune description n'a été faite quant aux mécanismes de prélèvement et de transport des composés organométalliques dans la plante. On peut supposer que certaines voies de transport empruntées par les métaux pourront également l'être par les organométalliques. Le caractère lipophile, la charge, et plus généralement la réactivité de ces composés laissent penser que d'autres mécanismes pourraient aussi être mis en jeu.

4.2.2. Présence et conséquence des organoétains dans les végétaux

Dans le sol, l'étain, Sn, est présent à l'état de trace. On y retrouve des concentrations de l'ordre de 1 à 10 mg.kg⁻¹. C'est un élément non essentiel dans la nutrition des plantes. L'étain est peu biodisponible pour la plante et peu phytotoxique (Adriano, 2001). Pourtant cet élément est présent dans les plantes (0.1 à 3 mg.kg⁻¹). Ceci indique donc que l'étain (Sn) est prélevé par la plante via des mécanismes non spécifiques aux éléments indispensables.

Les formes organiques de l'étain mises en présence dans les sols et les plantes sont exclusivement d'origine anthropique. Contrairement au milieu aquatique, aucun cas de biométhylation n'a été recensé dans le système sol / plante. Ces molécules ne sont pas non plus nécessaires à la plante et peuvent être à l'origine d'une phytotoxicité (Kizlink, 2000). Elles peuvent également compromettre la qualité de la production végétale en s'accumulant dans les parties consommables des plantes. Le risque le plus important pour la chaîne alimentaire est lié à l'absorption d'espèces non toxiques pour la plante (Adriano, 2001).

Peu de données sont cependant disponibles concernant les concentrations, la phytodisponibilité, la phytotoxicité, le transfert et l'accumulation des organoétains dans les végétaux. Jusqu'à présent, aucun cas de toxicité aiguë par les organoétains, résultant de la consommation continue de fruits et de légumes n'a été publié. En revanche, le risque d'une toxicité chronique ne peut être exclue et est de plus en plus souvent évoqué dans la littérature (Kannan & Lee, 1996).

Un nombre d'auteurs très restreint s'est penché sur l'étude des organoétains dans les matières végétales. Kannan and Lee (1996) ont étudié la pulvérisation d'un fongicide commercial contenant du TPhT sur une récolte de noix de Pécan. Dans le feuillage, la concentration totale en phénylétains atteint $72 \mu\text{g}(\text{Sn}).\text{g}^{-1}$ immédiatement après la pulvérisation, alors que la concentration en TPhT varie de $37 \mu\text{g}(\text{Sn}).\text{g}^{-1}$, trois jours après le traitement jusqu'à $8.5 \mu\text{g}(\text{Sn}).\text{g}^{-1}$, dix jours après.

Une autre étude de Kannan *et al.* (1995) a mis en évidence le problème de résidus d'organoétains dans certains produits alimentaires, notamment, le riz, l'huile de tournesol et les cacahuètes. Ces résidus sont présents à l'état de traces, les concentrations restant inférieures à $3.5 \mu\text{g}(\text{Sn}).\text{kg}^{-1}$. La présence d'organoétains proviendrait, soit de l'utilisation d'organoétains comme pesticides, soit de l'utilisation de boues contaminées, ou encore de l'usage de tuyaux d'arrosage en PVC.

Dans notre laboratoire, quelques études sur des haricots verts (c.v. Talisman) et des plantes aquatiques (algues provenant d'un rejet de station d'épuration urbaine) ont été réalisées (Simon *et al.*, 2002). Dans les algues, des butylétains (MBT, DBT et TBT) ont été détectés à des concentration de l'ordre de quelques $\mu\text{g}(\text{Sn}).\text{kg}^{-1}$. De même, un travail d'analyse type « panier de la ménagère » a permis d'établir que les organoétains sont présents en faibles concentrations dans plusieurs types de fruits et légumes comme les haricots verts, les carottes ou les pommes (Lalanne, 2001).

Ces résultats confirment la nécessité d'un suivi à plus large échelle afin d'évaluer le niveau de contamination de fruits et légumes de consommation courante, de déterminer la spéciation des organoétains dans la plante, de modéliser le transfert vers les plantes et de préciser les différents lieux de stockage dans le végétal. Le risque pour la qualité des productions végétales et le risque sanitaire lié à la consommation de végétaux contaminés doivent également être évalués.

5. Références

- 1 Adriano, D. C. **2001**. Trace elements in terrestrial environments - Biogeochemistry, bioavailability and risks of metal. Second Edition. Springer-Verlag, New-York. 867 pp.
- 2 Arnaud, P. **1993**. Cours de chimie physique. 3ème édition. Dunod, Paris. 530 pp.
- 3 Arnold, C. G., Berg, M., Müller, S.R., Dommann, U., Schwarzenbach, R.P. **1998a**. Determination of organotin compounds in water, sediment, and sewage sludge using perdeuterated internal standards, accelerated solvent extraction, and large-volume-injection GC/MS. *Analytical Chemistry* 70, 3094-3101.
- 4 Arnold, C. G., Ciani, A., Müller, S.R., Amirbahman, A., Schwarzenbach, R.P. **1998b**. Association of triorganotin compounds with dissolved humic acids. *Environmental and Science Technology* 32, 2976-2983.
- 5 Arnold, C. G., Weidenhaupt, A., David, M.M., Müller, S.R., Haderlein, S.B., Schwarzenbach, R.P. **1997**. Aqueous Speciation and 1-Octanol-Water Partitioning of Tributyl- and Triphenyltin: Effect of pH and Ion Composition. *Environmental and Science Technology* 31, (9), 2696-2602.
- 6 Avery, S. V., Miller, M.E., Gadd, G.M., Codd, G.A., Conney, J.J. **1991**. Toxicity of organotins towards cyanobacterial photosynthesis and nitrogen fixation. *FEMS Microbiology Letters* 84, 205-210.
- 7 Azizian, S. **2004**. Kinetic models of sorption: a theoretical analysis. *Journal of Colloid and Interface Science* 276, (1), 47-52.
- 8 Balabaskaran, S., Tilakavati, K., Kumar Das, V.G. **1987**. Studies on the phytotoxic effects of some organotin(IV) compounds on the germination of the mung bean seed, *Phaseolus aureus*. *Applied Organometallic Chemistry* 1, 347-353.
- 9 Ballivet-Tkatchenko, D., dos Santos, J.H.Z., Malisova, M. **1993**. Reaction of organostannanes with silica, Alumina, and silica-alumina. *Langmuir* 9, 5313-3517.
- 10 Bancon-Montigny, C. **2001**. Optimisation d'une technique analytique couplée (GC-PFPD) pour la spéciation des composés organostanniques - Application à leur suivi dans le cycle hydrologique. Laboratoire de Chimie Analytique, BioInorganique et Environnement, Thèse de l'Université de Pau et des Pays de l'Adour. 231 pp.
- 11 Bancon-Montigny, C., Le Hécho, I., Lespes, G. and Potin-Gautier, M. **2001**. Mobilité des composés organostanniques : transfert eaux usées - boues d'épuration - eaux de ressource. GRUTEE, 4ème Congrès International sur la mobilité et les traitements des polluants dans l'environnement, Limoges, France, 22-23 novembre 2001.
- 12 Bancon-Montigny, C., Lespes, G., Potin-Gautier, M. **2000**. Improve routine speciation of organotin compounds in environmental samples by pulsed flame photometric detection. *Journal of Chromatography A* 896, 149-158.

-
- 13 Bao, L., Dai, S.G., Pantani, F. **1997**. Effect of dissolved humic material on the toxicity of tributyltin chloride and triphenyltin chloride to *Daphnia magna*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 59, 671-676.
- 14 Barnes, R. D., Bull, A.T., Poller, R.T. **1973**. Studies on the persistence of the organotin fungicide Fentin acetate (triphenyltin acetate) in the soil and on the surfaces exposed to light. *Pesticide Science* 4, 305-317.
- 15 Barug, D. **1981**. Microbial degradation of Bis(tributyltin) oxide. *Chemosphere* 10, (10), 1145-1154.
- 16 Barug, D., Vonk, J.W. **1980**. Studies on the degradation of bis(tributyltin) oxide in soil. *Pesticide Science* 11, 77-82.
- 17 Batley, G. **1996**. The distribution and fate of tributyltin in the marine environment. Chapitre de l'ouvrage Tributyltin: case study of an environmental contaminant. S. J. de Mora, Cambridge University Press, UK., 139-166.
- 18 Becker van Slooten, K., Merlini, L., Stegmüller, A.-M., de Alencastro, L.F., Tarradellas, J. **1994**. Contamination des boues de stations d'épuration suisses par les organoétains. *Gas Wasser Abwasser* 2, 104-110.
- 19 Behra, P., Lecarme-Théobald, E., Bueno, M., Ehrhardt, J.J. **2003**. Sorption of tributyltin onto a natural quartz sand. *Journal of Colloid and Interface Science* 263, 4-12.
- 20 Berg, M., Arnold, C.G., Müller, S.R., Mühlemann, J., Schwarzenbach, R.P. **2001**. Sorption and desorption behavior of organotin compounds in sediment-pore water systems. *Environmental and Science Technology* 35, 3151-3157.
- 21 Bliefert, C., Perraud, R. **2001**. Chimie de l'environnement - air, eau, sols, déchets. De Boeck Diffusion s.a., Paris, France. 477.
- 22 Blunden, S. J., Hobbs, L.A., Smith, P.J. **1984**. The environmental chemistry of organotin compounds. Chapitre de l'ouvrage Environmental Chemistry. T. R. S. o. Chemistry, Bowen H.J.M., London. 49-77.
- 23 Blunden, S. J., Chapman, A. **1986**. Organotin compounds in the environment. Chapitre de l'ouvrage Organometallic compounds in the environment - principles and reactions. P. J. Craig, Longman, Leicester. 111-159.
- 24 Boudou, A., Ribeyre, F. **1989**. Aquatic ecotoxicology : fundamental concepts and methodologies. Volume I. CRC Press, Boca Raton, Florida, 319 pp.
- 25 Brémond, P. **2004**. Etat des lieux des teneurs en organoétain dans différents compartiments environnementaux. Laboratoire de Chimie Analytique BioInorganique et Environnement, Rapport de DEA de l'Université de Pau et des Pays de l'Adour. 49 pp.
- 26 Briat, J.-F., Lebrun Michel **1999**. Plant responses to metal toxicity. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences - Series III - Sciences de la Vie* 322, (1), 43-54.

- 27 Bueno, M. **1999**. Etude dynamique des processus de sorption-désorption du tributylétain sur un milieu poreux d'origine naturelle. Laboratoire de chimie analytique bioinorganique et environnement, Thèse de l'Université de Pau et des Pays de l'Adour. 183pp.
- 28 Bueno, M., Astruc, A., Astruc, M., Behra, P. **1998**. Dynamic sorptive behavior of tributyltin on quartz sand at low concentration levels: effect of pH, flow rate, and monovalent cations. *Environmental and Science Technology* 32, (24), 3919-3925.
- 29 Bueno, M., Astruc, A., Lambert, J., Astruc, M., Behra, P. **2001**. Effect of solid surface composition on the migration of tributyltin in groundwater. *Environmental and Science Technology* 35, (7), 1411-1419.
- 30 Champ, M. A. **2000**. A review of organotin regulatory strategies, pending actions, related costs and benefits. *The Science of the Total Environment* 258, 21-71.
- 31 Chau, Y. K., Zhang, S., Maguire, R.J. **1992a**. Occurrence of butyltin species in sewage sludge in Canada. *The Science of the Total Environment* 121, 271-281.
- 32 Chau, Y. K., Zhang, S., Maguire, R.J. **1992b**. Determination of butyltin species in sewage and sludge by Gas Chromatography-Atomic Absorption Spectrometry. *Analyst* 117, 1161-1164.
- 33 Cima, F., Ballarin, L., Bressa, G., Martinucci, G., Burighel, P. **1996**. Toxicity of Organotin Compounds on Embryos of a Marine Invertebrate (*Styela plicata*; Tunicata). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 35, (2), 174-182.
- 34 Clemens, S., Palmgren, M.G., Krämer, U. **2002**. A long way ahead: understanding and engineering plant metal accumulation. *Trends in Plant Science* 7, (7), 309-315.
- 35 Commission des Communautés Européennes **2001**. Communication de la commission au Conseil et au Parlement Européen sur la mise en oeuvre de la stratégie communautaire concernant les perturbateurs endocriniens. COM (2001) 262 final, Bruxelles. 46 pp
- 36 Crommentuijn, T., Stab, J. A. , Doornekamp, A. , Estoppey, O. , Van Gestel, C. A. M. **1995**. Coparative ecotoxicity of cadmium, chlorpyrifos and triphenyltin hydroxide for four clones of the parthenogenetic collembolan *Folsomia candida* in an artificial soil. *Functional Ecology* 9, 734-742.
- 37 Dai, S., Lan Huang, G. and Cai, Y. **1993**. The adsorption behaviour of dimethyltin from seawater onto sedimentary phase in Tianjin Harbor. *Environmental Pollution* 82, (3), 217-221.
- 38 de Mora, S. J., Pelletier, E. **1997**. Environmental tributyltin research: past, present, future. *Environmental Technology* 18, 1169-1177.
- 39 de Mora, S. J., Stewart, C., Phillips, D. **1995**. Sources and rate of degradation of tri(n-butyl)tin in marine sediments near Auckland, New Zealand. *Marine Environmental Research* 30, (1), 50-57.

-
- 40 De Stefano, C., Foti, C., Gianguzza, A., Marrone, F., Sammartano, S. **1999**. Hydrolysis of methyltin(IV) trichloride in aqueous NaCl and NaNO₃ Solutions at different ionic strengths and temperatures. *Applied Organometallic Chemistry* 13, 805-811.
- 41 Donard, O. F. X., Quevauviller, Ph., Bruchet, A. **1993**. Tin and organotin speciation during wastewater and sludge treatment processes. *Water Research* 27, (6), 1085-1089.
- 42 Dowson, P. H., Bubb, J.M., Lester, J.N. **1996**. Persistence and Degradation Pathways of Tributyltin in Freshwater and Estuarine Sediments. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 42, (5), 551-562.
- 43 Dowson, P. H., Bubb, J.M., Lester, J.N. **1993**. A study of the partitioning and sorptive behaviour of butyltins in the aquatic environment. *Applied Organometallic Chemistry* 7, 623-633.
- 44 Duarte-Davidson, R., Jones, K.C. **1996**. Screening the environmental fate of organic contaminants in sewage sludge applied to agricultural soils: II. The potential for transfers to plants and grazing animals. *The Science of the Total Environment* 185, (1-3), 59-70.
- 45 Dubey, S. K., Roy, U. **2003**. Biodegradation of tributyltins (organotins) by marine bacteria. *Applied Organometallic Chemistry* 17, 3-8.
- 46 Duchaufour, P. **2001**. Introduction à la science du sol - Sol, végétation, environnement. Dunod. Paris, France. 331pp.
- 47 Dzombak, D. A., Morel, F.M.M. **1990**. Surface complexation modeling - Hydrous ferric oxide. Wiley Interscience Publication, New York. 393 pp.
- 48 Fent, K. **1996a**. Organotin compounds in municipal wastewater and sewage sludge: contamination, fate in treatment process and ecotoxicological consequences. *Science of The Total Environment* 185, (1-3), 151-159.
- 49 Fent, K. **1996b**. Ecotoxicology of organotin compounds. *Critical Reviews in Toxicology* 26, (1), 1-117.
- 50 Fent, K., Hunn, J. **1995**. Organotins in freshwater harbors and rivers: temporal distribution, annual trends and fate. *Environmental Technology and Chemistry* 14, (7), 1123-1132.
- 51 Fent, K., Hunn, J., Renggli, D., Siegrist, H. **1991**. Fate of tributyltin in sewage sludge treatment. *Marine Environmental Research* 32, (1-4), 223-231.
- 52 Fent, K., Müller, D. **1991**. Occurrence of organotins in municipal wastewater and sewage sludge and behavior in a treatment plant. *Environmental and Science Technology* 25, (3), 489-493.
- 53 Fent, K. **1989**. Organotin speciation in municipal wastewater and sewage sludge: ecotoxicological consequences. *Marine Environmental Research* 28, 477-483.

- 54 Gadd, G. M. **2000**. Microbial interactions with tributyltin compounds: detoxification, accumulation and environmental fate. *The Science of the Total Environment* 258, 119-127.
- 55 Gobat, J.-M., Aragno, M., Matthey, W. **2003**. Le sol vivant - Bases de pédologie - Biologie des sols. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes. Lausanne, Suisse. 592pp.
- 56 Greger, M. **2004**. Metal availability, uptake, transport and accumulation in plants. Chapitre de l'ouvrage Heavy metal stress in plants - From biomolecules to ecosystems. M. N. V. P. Ed., Springer-Verlag, Berlin. 462 pp.
- 57 Harino, H., Fukushima, M., Kurokawa, Y., Kawai, S. **1997**. Susceptibility of bacterial populations to organotin compounds and microbial degradation of organotin compounds in environmental water. *Environmental Pollution* 98, (2), 157 -162.
- 58 Heller, R., Esnault, R., Lance, C. **1998**. Physiologie végétale - 1. Nutrition. Dunod, Paris, France. 323 pp.
- 59 Heninger, I., Potin-Gautier, M., Astruc, M., Galvez, L., Vignier, V. **1998**. Speciation of selenium and organotin compounds in sewage sludge applied to land. *Chemical Speciation and Bioavailability* 10, (1),
- 60 Héninger, I. **1997**. Développement des méthodes analytiques pour la spéciation du sélénium et de l'étain dans les stations d'épuration, d'eaux résiduaires urbaines. Laboratoire de chimie analytique bio-inorganique et Environnement, Thèse de l'Université de Pau et des Pays de l'Adour. 212 pp.
- 61 Hermosin, M. C., Martin, P., Cornejo, J. **1993**. Adsorption mechanisms of monobutyltin in clay minerals. *Environmental and Science Technology* 27, 2606-2611.
- 62 Hoch, M. **2001**. Organotin compounds in the environment -- an overview. *Applied Geochemistry* 16, (7-8), 719-743.
- 63 Hoch, M., Alonso-Azcarate, J., Lischick, M. **2003**. Assessment of adsorption behavior of dibutyltin (DBT) to clay-rich sediments in comparison to the highly toxic tributyltin (TBT). *Environmental Pollution* 123, (2), 217-227.
- 64 Huang, J. H., Schwesig, D. and Matzner, E. **2004**. Organotin compounds in precipitation, fog and soils of a forested ecosystem in Germany. *Environmental Pollution* 130, (2), 177-186
- 65 Hunziker, R. W., Escher, B.I., Schwarzenbach, R.P. **2001**. pH Dependence of the Partitioning of Triphenyltin and Tributyltin between Phosphatidylcholine Liposomes and Water. *Environmental and Science Technology* 35, (19), 3899-3904.
- 66 Johnsen, A. R., Wick, L.Y., Harms, H. **2005**. Principles of microbial PAH-degradation in soil. *Environmental Pollution* 133, (1), 71-84.

-
- 67 Journal Officiel de la République Française **1992**. Arrêté relatif aux matériaux et objets en élastomères de silicone mis ou destinés à être mis au contact des denrées, produits et boissons alimentaires, 25 Novembre 1992. Article 6, NOR : ECOC9200161A, Paris, France.
- 68 Journal officiel des communautés européennes **2000**. Directive 2000/60/CE du parlement européen et du Conseil du 23 octobre 2000 établissant un cadre pour une politique communautaire dans le domaine de l'eau - JOCE du 22/12/2000, L327.
- 69 Kannan, K., Lee, R.F. **1996**. Triphenyltin and its degradation products in foliage and soils from sprayed pecan orchards and in fish from adjacent ponds. *Environmental Toxicology and Chemistry* 15, (9), 1492-1499.
- 70 Kannan, K., Tanabe, S. and Tatsukawa, R. **1995**. Occurrence of butyltin residues in certain foodstuffs. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 55, 510-516.
- 71 Kawai, S., Kurokawa, Y., Harino, H., Fukushima, M. **1998**. Degradation of tributyltin by a bacterial strain isolated from polluted river water. *Environmental Pollution* 102, (2-3), 259-263.
- 72 Kilby, G. W., Batley, G.E. **1993**. Chemical indicators of sediment chronology. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research* 44, 635-647.
- 73 Kizlink, K. **2001**. Structure-affected bioactivity of triorganotin compounds. *Chemical Papers* 55, (1), 53-57.
- 74 Kuthubutheen, A. J., Wickneswari, R., Kumar Das, V.G. **1989**. Changes in fungal and bacterial populations in soil treated with two triorganotin (IV) compounds. *Applied Organometallic Chemistry* 3, 309-318.
- 75 Laberche, J. C. **2004**. Biologie végétale. 2ème édition. Dunod, Paris, France. 270 pp.
- 76 Lalanne, F. **2001**. Etude du transfert des organoétains dans le système eau/sol/plante. Rapport de DEA de l'Université de Pau et des Pays de l'Adour, Pau. 25 pp
- 77 Landmeyer, J. E., Tanner, T.L. , Watt, B.E. **2004**. Biotransformation of Tributyltin to Tin in Freshwater River-Bed Sediments Contaminated by an Organotin Release. *Environmental and Science Technology* 38, (15), 4106 -4112.
- 78 Langston, W. J., Pope, N.D. **1995**. Determinants of TBT adsorption and desorption in estuarine sediments. *Marine Pollution Bulletin* 31, (1-3), 32-43.
- 79 Lespes, G., Marcic, C., Le Hecho, I., Mench, M., Potin-Gautier, M. **2003**. Speciation of organotins in French beans and potatoes cultivated on soils spiked with solutions or amended with sewage sludge. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry* 2, (3), ISSN: 1579-4377.
- 80 Lespes, G., Montigny, C. **1997**. Analyse de composés organo-métalliques sur eaux et matières en suspension sur divers cours d'eau du bassin Rhin Meuse. Rapport d'étude Agence de l'eau Rhin Meuse / Université de Pau et des Pas de l'Adour, côte 22304 RM, Pau. 31 pp

- 81 Lin, T.-J., Hung, D.-Z., Kao, C.-H., Hu, W.-H., Yang, D.-Y. **1998**. Unique cerebral dysfunction following triphenyltin acetate poisoning. *Human & Experimental Toxicology* 17, (7), 403-405.
- 82 Loch, J. P. G., Greve, P.A., van der Berg, S. **1990**. Accumulation and leaching of the fungicide fenitrothion and intermediates in sandy soil. *Water, Air and Soil Pollution* 53, 119-129.
- 83 Maguire, R. J. **2000**. Review of the persistence, bioaccumulation and toxicity of tributyltin in aquatic environments in relation to Canada's toxic substances management policy. *Water Quality Research Journal Canada* 35, (4), 633-679.
- 84 Maguire, R. J. **1996**. Tributyltin: case study of an environmental contaminant. Chapitre de l'ouvrage S. J. d. M. C. U. Press,
- 85 Maguire, R. J., Tkacz, R.J., Chau, Y.K., Bengert, G.A., Wong, P.T.S. **1986**. Occurrence of organotin compounds in water and sediments in Canada. *Chemosphere* 15, (3), 253-274.
- 86 Marcic, C., Lespes, G., Potin-Gautier, M. **2005**. Pressurised solvent extraction for organotin speciation in vegetal matrices. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 382, (7), 1574-1583.
- 87 Markert, B. **1998**. Distribution and biogeochemistry of inorganic chemicals in the environment. Chapitre de l'ouvrage Ecotoxicology. G. S. a. B. Markert, John Wiley & Sons.
- 88 Marsot, P., Pelletier, E., St-Louis, R. **1995**. Effects of triphenyltin chloride on growth of the marine microalga *Pavlova lutheri* in continuous culture. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 54, 389-395.
- 89 McLaughlin, M. J. **2001**. Bioavailability of metal to terrestrial plants. Chapitre de l'ouvrage Bioavailability of Metal in Terrestrial Ecosystems: Importance of Partitioning for Bioavailability to Invertebrates, Microbes and Plants. H. E. Allen, SETAC Press, Pensacola, FL.
- 90 Mooney, H. M., Patching, J.W. **1995**. Triphenyltin inhibits photosynthesis and respiration in marine microalgae. *Journal of Industrial Microbiology* 14, 265-270.
- 91 Moore, D. R. J., Noble, D.G., Walker, S.L., Trotter, D.M., Wong, M.P., Pierce, R.C. **1992**. Recommendations pour la qualité de l'eau au Canada : organoétains. *Direction générale des sciences et de l'évaluation des écosystèmes - Direction de la santé des écosystèmes*. Etude n°191, 1-151.
- 92 Mouhri, K., Loudiki, M., Marsot, P., Pelletier, E. **1998**. Effet du chlorure de tributylétain sur la croissance et le métabolisme de la diatomée marine *Phaeodactylum tricornutum* (Bohlin) en culture continue (Chémostat). *Journal de la Recherche Océanographique* 23, (4), 117-124.
- 93 Nolan, A., Lombi, E., McLaughlin, M.J. **2003**. Metal Bioaccumulation and toxicity in Soils - Why bother with speciation. *Australian Journal of Chemistry* 56, 77-91.

-
- 94 Nudelman, M. A., Carro, C., Nudelman, N.S. **1998**. Effects of tin(IV) chloride and of organotin compounds on aquatic micro-organisms. *Applied Organometallic Chemistry* 12, (1), 67-75.
- 95 Ohtsubo, M. **1999**. Organotin compounds and their adsorption behavior on sediments. *Clay Science* 10, 519-539.
- 96 Olson, G. J., Brinckman, F.E. **1986**. Biodegradation of Tributyltin by Chesapeake Bay microorganisms. *Oceans* 4, 1196-1201.
- 97 Peijnenburg, W. J. G. M., Jager, T. **2003**. Monitoring approaches to assess bioaccessibility and bioavailability of metals: Matrix issues. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 56, (1), 63-77.
- 98 Peijnenburg, W. J. G. M., Posthuma, L., Eijsackers, H. J. P., Allen, H. E. **1997**. Conceptual Framework for Implementation of Bioavailability of Metals for Environmental Management Purposes. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 37, (2), 163-172.
- 99 Poerschmann, J., Kopinke, F-D., Pawliszyn, J. **1997**. Solid phase microextraction to study the sorption of organotin compounds onto particulate and dissolved humic organic matter. *Environmental and Science Technology* 31, 3629-3636.
- 101 Reid, B. J., Jones, K.C., Semple, K.T. **2000**. Bioavailability of persistent organic pollutants in soils and sediments—a perspective on mechanisms, consequences and assessment. *Environmental Pollution* 108, (1), 103-112.
- 102 Rengaraj, S., Kim, Y., Joo, C.K., Yi, J. **2004**. Removal of copper from aqueous solution by aminated and protonated mesoporous aluminas: kinetics and equilibrium. *Journal of Colloid and Interface Science* 273, (1), 14-21.
- 103 Rüdél, H. **2003**. Case study: bioavailability of tin and tin compounds. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 56, (1), 180-189.
- 104 Salomons, W., Förstner, U. **1988**. *Biology and Chemistry of Solid Waste: Dredged Material and Mine Tailings*. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg. 305 pp.
- 105 Sarradin, P. M., Lapaquellerie, Y., Astruc, A., Latouche, C., Astruc, M. **1995**. Long term behaviour and degradation kinetics of tributyltin in a marina sediment. *Science of The Total Environment* 170, (1-2), 59-70.
- 106 Schnaak, W., Küchler, Th., Kujawa, M., Henschel, K.-P., Süßenbach, D., Donau, R. **1997**. Organic contaminants in sewage sludge and their ecotoxicological significance in the agricultural utilization of sewage sludge. *Chemosphere* 35, (1), 5-11.
- 107 Senthilkumar, K., Kannan, K., Tanabe, S., Prudente, M. **1998**. Butyltin compounds in resident and migrant birds collected from Philippines. *Fresenius Environmental Bulletin* 7, 561-571.

- 108 Shinoda, S., Ohnogi, H., Tanaka, M., Korenaga, T. **1996**. Effect of tributyltin on environmental microorganisms. *Journal of Antibacterial and Antifungal Agents* 24, (1), 15-20.
- 109 Sigg, L., Behra, P., Stumm, W. **2000**. Chimie des milieux aquatiques - Chimie des eaux naturelles et des interfaces dans l'environnement. 3ème édition. Dunod, Paris. 567 pp.
- 110 Simon, S., Bueno, M., Lespes, G., Mench, M. and Potin-Gautier, M. **2002**. Extraction procedure for organotin analysis in plant matrices: optimisation and application. *Talanta* 57, (1), 31-43.
- 111 Snoeij, N. J., Penninks, A.H., Seinen, W. **1987**. Biological activity of organotin compounds - an overview. *Environmental Research* 44, 335-353.
- 112 Song, Z. H., Huang, G.L. **2001**. Effect of triphenyltin on duckweed *Lemna minor*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 67, 368-375.
- 113 Sposito, G. **1984**. The surface chemistry of soils. Oxford University Press, New York. 234 pp.
- 114 Sposito, G. **1994**. Chemical equilibria and kinetics in soil. Oxford University Press, New York. 268 pp.
- 115 Ståb, J. A., Cofino, W. P., van Hattum, B. and Brinkman, U. A. T. **1994**. Assessment of transport routes of triphenyltin used in potato culture in the Netherlands. *Analytica Chimica Acta* 286, (3), 335-341.
- 116 Stasinakis, A. S., Thomaidis, N.S., Nikolaou, A., Kantifes, A. **2005**. Aerobic biodegradation of organotin compounds in activated sludge batch reactors. *Environmental Pollution* 134, (3), 431-438.
- 117 Stasinakis, A. S., Thomaidis, N.S., Lekkas, T.D. **2001**. Toxicity of Organotin Compounds to Activated Sludge. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 49, (3), 275-280.
- 118 Stengel, P., Gelin, S. **1998**. Sol : interface fragile. INRA Editions. Paris, France. 214pp.
- 119 Stumm, W. **1992**. Chemistry of the solid-water interface. Processes at the mineral-water and particle-water interface in natural systems. John Wiley & Sons, New York.
- 120 Stumm, W., Morgan, J.J. **1996**. Aquatic chemistry - Chemical equilibria and rates in natural waters. 3ème édition. Wiley Interscience Publication, New York. 1022 pp.
- 121 Tessier, E. **2004**. Etude de la réactivité et du transfert du tributylétain et du mercure dans les environnements aquatiques. Laboratoire de Chimie Analytique BioInorganique et Environnement, Thèse de l'Université de Pau et des Pays de l'Adour. 275 pp.
- 122 Thayer, J. S. **1995**. Environmental Chemistry of the Heavy Elements - Hydrido and Organo Compounds. VCH Publishers, Inc., New York. 145 pp.

-
- 123 Tsang, C. K., Lau, P.S., Tam, N.F.Y., Wong, Y.S. **1999**. Biodegradation capacity of tributyltin by two *Chlorella* species. *Environmental Pollution* 105, 289-297.
- 124 Tsuda, T., Inoue, T., Kojima, M., Aoki, S. **1995**. Daily intake of tributyltin and triphenyltin compounds from meals. *Journal of AOAC International* 78, (4), 941-943.
- 125 Unger, M. A., MacIntyre, W.G., Huggett, R.J. **1988**. Sorption behavior of tributyltin on estuarine and freshwater sediments. *Environmental Toxicology and Chemistry* 7, 907-915.
- 126 Waite, M. E., Evans, K.E., Thain, J.E., Waldock, M.J. **1989**. Organotin concentrations in the rivers Bure and Yare, Norfolk broads, England. *Applied Organometallic Chemistry* 3, 383-391.
- 127 Watanabe, N., Sakai, S., Takatsuki, H. **1992**. Environmental behavior and fate of butyltin compounds in a water - sediment system. *Journal of Japan Society for Water and Environment* 15, 672-682.
- 128 Watanabe, N., Sakai, S., Takatsuki, H. **1995**. Release and degradation half lives of tributyltin in sediment. *Chemosphere* 31, (3), 2809-2816.
- 129 Weidenhaupt, A., Arnold, C., Müller, S.R., Haderlein, S.B., Schwarzenbach, R.P. **1997**. Sorption of organotin biocides to mineral surfaces. *Environmental and Science Technology* 31, 2603-2609.
- 130 White, J. S., Tobin, J. M. , Cooney, J. J. **1999**. Organotin compounds and their interactions with microorganisms. *Canadian journal of microbiology* 45, (7), 541-554.
- 131 World Health Organisation, W. **1971**. Evaluation of some pesticide residues in food. Meeting of the Food and Agricultural Organization of the United Nations and the World Health Organization, Rome.
- 132 World Health Organisation, W. **1990**. Environment Health Criteria 116: Tributyltin compounds. Geneva, Switzerland. 273 pp.
- 133 World Health Organisation, W. **1999**. Concise international chemical assessment Document 13: Triphenyltin compounds. Geneva, Switzerland. 57 pp.
- 134 Wu, R. M., Chang, Y.C., Chiu, H.C. **1990**. Acute triphenyltin intoxication: a case report. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry* 53, 356-357.
- 135 Yen, J. H., Tsai, C.C., Su, C.C., Wang, Y.S. **2001**. Environmental dissipation of Fungicide Triphenyltin acetate and its potential as a groundwater contaminant. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 49, (2), 164-170.
- 136 Site Web : www.ademe.fr, consulté le 12 avril 2005.
- 137 Site Web : www.ecrin.asso.fr, consulté le 1er septembre 2005.

CHAPITRE 2

DÉMARCHE EXPÉRIMENTALE

1. Objectifs

Le travail présenté dans ce mémoire est centré sur l'étude de l'évaluation et de la compréhension du transfert et du devenir des organoétains (en particulier du TBT et du TPhT) dans le système boue / sol / plante. La démarche adoptée dans cette thèse afin d'atteindre ces objectifs et les protocoles expérimentaux associés sont détaillés et justifiés dans ce chapitre.

Au préalable et parce que l'étude de la contamination des environnements agricoles par des organoétains ne peut être réalisée qu'au moyen de techniques analytiques fiables et performantes, une validation analytique a été réalisée. Ainsi et en amont de l'analyse, deux techniques d'extraction, l'extraction sous solvant pressurisé (PSE) et l'extraction solide / liquide (SLE), ont été adaptées pour l'analyse de matrices jusque là peu étudiées : les végétaux.

Puis afin de déterminer la spéciation des composés organostanniques dans les boues, les sols et les plantes, la persistance et la répartition des organoétains dans les sols, la quantativité du prélèvement par la plante en fonction de différents paramètres physico-chimiques, la capacité de bioaccumulation ainsi que les flux d'organoétains dans ces plantes, plusieurs séries d'expériences ont été mises en œuvre :

- Une première série de cultures a permis de comparer deux types d'apport différents en composés organostanniques et notamment leur influence sur le prélèvement par la plante et leur présence dans les parties consommables de deux types de végétaux différents. Ainsi le sol a été contaminé soit directement par des solutions aqueuses de TBT et de TPhT, soit via une boue contenant plusieurs OTC. Au cours de cette même étude, le prélèvement des organoétains à différents stades de la croissance du végétal a également été évalué.
- Suite à ce premier « screening », une étude portant sur le devenir des organoétains dans un système boue d'épuration / sol / plante a alors été mise en œuvre afin d'évaluer en particulier l'incidence d'un apport de boue de station d'épuration, ce qui n'avait jamais été étudié jusqu'à présent. L'influence de différents paramètres physico-chimiques comme le pH et les niveaux de concentration ainsi que les interactions entre ces paramètres ont également été évaluées.

- Enfin, une étude en réacteur fermé, a permis de compléter nos connaissances en obtenant des renseignements sur les mécanismes d'adsorption d'un organoétain sur la boue et sa cinétique (isothermes d'adsorption). Compte tenu des résultats précédents, nous avons choisi de nous focaliser sur l'interaction de deux facteurs précédemment étudiés : la concentration en TBT et la boue.

Durant ce travail de thèse, la méthodologie des plans d'expériences a été largement mise en œuvre afin d'optimiser la réalisation des essais et de récolter le maximum de renseignements avec le minimum d'expériences. Elle a permis également d'obtenir la meilleure précision possible sur la modélisation des résultats, notamment par une mise en œuvre expérimentale précise et rigoureuse.

2. Mise en place des cultures de végétaux

Ce travail de thèse s'étant focalisé sur les organoétains dans un sol amendé et des végétaux cultivés, il nous a tout d'abord fallu choisir nos supports d'étude.

2.1. Le sol, la boue et les végétaux

2.1.1 Le sol de Pierroton

Le sol choisi pour cette étude est un podzol, sol prépondérant en Aquitaine (plus de 25% de la surface de la région). Ce sol provient du site expérimental de Pierroton de l'INRA de Bordeaux. Sa composition est décrite dans le tableau 2.1 suivant :

Tableau 2.1 : Caractéristiques physico-chimiques du sol de Pierroton

Granulométrie (g.kg ⁻¹)			Carbone organique (g.kg ⁻¹)	Azote organique (g.kg ⁻¹)	C/N	pH eau	CEC cmol.kg ⁻¹
Argiles	Limons	Sables					
33	25	942	20	0,78	25,9	5,6	5,94
Ca total	Mg total	K total	Na total	Fe total	P total	Al total	
0,113 %	0,023 %	0,325 %	0,091 %	0,109 %	0,011 %	0,593 %	

Le sol de Pierroton est constitué majoritairement de quartz (sables) et de très peu d'argiles et de limons. Il contient également une quantité de matière organique importante qui devrait être très influente sur la sorption des organoétains. De plus ce sol n'est pas contaminé en organoétains et est exempt de métaux lourds. Il constitue de ce fait, un très bon support d'étude, idéal pour modéliser la sorption des organoétains.

La méthode utilisée pour sécher le sol peut en modifier les propriétés physico-chimiques et donc influencer la sorption. La matière organique présente dans le sol peut être dégradée, l'hydrophobicité du sol peut augmenter, le pH peut être modifié. Afin de minimiser ces phénomènes, il est recommandé de sécher les sols à des températures peu élevées à l'étuve, voir à l'air libre. Nous avons utilisé une étuve à 40°C jusqu'à masse constante. Le sol a alors

été broyé et tamisé avec un tamis en INOX de 2 mm. Puis il a été stocké dans des flacons en verre de 1 L à température ambiante, jusqu'à utilisation.

2.1.2 La boue de station d'épuration

Deux boues différentes ont été utilisées au cours de ces travaux. Une boue contaminée en organoétain et une boue ne contenant pas d'organoétain.

2.1.2.1. La boue de Clos de Hilde

La boue de Clos de Hilde provient de la station d'épuration urbaine de 300 000 équivalents-habitants de Bègles, dans la banlieue de Bordeaux. Il s'agit de boue mixte c'est-à-dire d'un mélange de boues primaires (issues d'un décanteur lamellaire) et de boues biologiques (issues d'un biofiltre). Cette boue a été retenue pour notre étude préliminaire car son analyse montre une contamination importante en organoétain (Tableau 2.2). Par la suite, nous avons choisi de travailler sur une boue non contaminée afin de contrôler les concentrations en organoétains apportées à la boue.

Tableau 2.2 : Concentrations en organoétains dans la boue de Clos de Hilde

	MBT	DBT	TBT	MPhT
Concentration en ($\mu\text{g}(\text{Sn})\cdot\text{kg}^{-1}$)	250 ± 40	590 ± 30	470 ± 20	220 ± 30

2.1.2.2. La boue non contaminée

Cette boue provient d'une station d'épuration rurale de 5000 équivalents-habitants située dans la région de Pau. C'est une boue mixte. Elle a été choisie pour notre étude car elle ne contient pas d'organoétain (analyse préalable réalisée au laboratoire) et la station d'épuration est facilement accessible par le biais de la société EPURETEC. Les paramètres physicochimiques de cette boue sont décrits dans le tableau 2.3 suivant :

Tableau 2.3 : Caractéristiques physico-chimiques de la boue de station d'épuration de la région de Pau.

Granulométrie (g.kg ⁻¹)			Carbon organique (g.kg ⁻¹)	Matière organique (g.kg ⁻¹)	pH aqueux	CEC cmol.kg ⁻¹	Etain organique (mg.kg ⁻¹)	Etain minéral (mg.kg ⁻¹)
Argiles	Limons	Sables						
629	356	15	361	624	7.17	67.4	0	8.8

Cette boue a subi un dessèchement à la sortie de la station d'épuration. L'humidité résiduelle était alors de 80 % au moment du prélèvement. Afin de travailler avec un matériau malléable, plus facile à introduire dans un sol et à doper en contaminants, de l'eau a été ajoutée jusqu'à obtenir une consistance « crémeuse ». L'humidité était alors de 91 %.

Plusieurs échantillons de boue ont ensuite été dopés par une solution contenant des concentrations variables en TBT et TPhT, permettant d'atteindre des concentrations suivant les consignes du plan d'expériences. Les solutions d'organoétains (10 mL) ont été préparées quelques minutes avant le dopage pour éviter toute dégradation des composés de dopage. La boue ainsi dopée a été alors vigoureusement agitée pendant environ 10 minutes pour obtenir une répartition homogène des organoétains dans ce matériau. La boue a alors été placée au repos, à l'abri de la lumière pendant 15 à 24 heures avant d'être utilisée.

2.1.3 Les végétaux

Les végétaux retenus pour ces études sont :

- La laitue de type « Appia ».
- La pomme de terre de type « BEA ».
- Le haricot vert de type « Talisman ».

Ces végétaux ont été choisis car ils font partis du panier de la ménagère. Ils comptent parmi les légumes les plus consommés en France. De plus, ils sont faciles à cultiver et de nombreuses études sur les laitues ont déjà été entreprises à l'INRA de Bordeaux. Les parties consommables de ces trois végétaux sont différentes (feuilles de laitue, tubercules de pommes de terre et gousses de haricots verts) ce qui a permis une comparaison vis-à-vis du prélèvement des organoétains.

2.2. Mise en place des cultures de végétaux

Pour l'ensemble des cultures, deux procédures d'apport en OTC ont été utilisées :

- le sol a été dopé par des solutions d'organoétain (TBT et TPhT) de concentrations connues (apport contrôlé).
- Le sol a été dopé soit par une boue contaminée en OTC (Clos de Hilde – apport d'OTC non contrôlé) soit par une boue dopée en TBT et TPhT (boue non contaminée initialement – apport d'OTC contrôlé).

Lorsque l'apport en OTC a été contrôlé, les concentrations de dopage en ces composés dans le sol ont été comprises entre 20 et 150 $\mu\text{g}(\text{Sn}).\text{kg}^{-1}$. Ces valeurs ont été choisies afin d'être à la fois représentatives des concentrations généralement retrouvées dans le sol et de permettre une quantification aisée.

Le dopage a été réalisé en ajoutant à la boue une solution contenant les organoétains aux concentrations d'étude. Après 15 minutes d'agitation, la boue a été placée au repos, dans l'obscurité pendant environ 24 heures. La boue dopée a été mélangée au sol dans un rapport compris entre 1 et 9 % (suivant le plan d'expériences mis en place, détaillé et justifié plus tard dans ce chapitre). Les mélanges ont été ensuite homogénéisés puis répartis en pots d'environ 2 kg. Un fertilisant (nitrate d'ammonium, NH_4NO_3 , $0,035 \text{ mol.L}^{-1}$) a été apporté à chaque pot. Pour les expériences impliquant des pH de sols variables, un lessivage consistant à faire percoler de haut en bas 100 mL de solution (KOH ou HNO_3) par kilogramme de sol de Pierroton a été effectué.

Les végétaux ont ensuite été plantés ou semés dans les pots. Nous avons utilisé un plant de laitue de 4 semaines, deux plants de pomme de terre et 2 graines de haricots verts par pot respectivement. Ces pots ont ensuite été placés durant la culture :

- soit en chambre climatique dans laquelle la température, la lumière et l'humidité sont contrôlées. Les durées de jour et de nuit ont été fixées à 14 et 10 heures respectivement, les températures à 20 et 18 °C respectivement et l'humidité ambiante à 75 %.
- soit en serre dans laquelle on ne contrôle pas les paramètres climatiques mais où ils sont mesurés.

Pour chaque expérience, les cultures ont été préparées en double. De plus, une expérience située au centre du domaine expérimental (valeurs expérimentales moyennes) a été réalisée 4 fois. Ces répliqués ont permis d'évaluer la variabilité naturelle du système (en particulier celle du végétal) et celle liée aux incertitudes expérimentales, à l'inhomogénéité du dopage ou de la préparation du mélange sol / boue).

Une expérience témoin (mélange boue-sol sans organoétain) a été réalisée et a également servi de blanc pour les analyses. Les résultats obtenus pour cette expérience avant chaque série d'analyses ont été systématiquement retranchés aux résultats d'analyse des échantillons, si nécessaire.

2.3. La récolte des végétaux

A la fin de chaque culture, les végétaux ont été récoltés. Les racines, les feuilles (ainsi que les tiges de haricots verts) et les fruits ont été pesés, lavés à l'eau distillée trois fois, séchés, lyophilisés, broyés (sauf pour les racines qui ont simplement été lyophilisées, car il y avait trop peu de matériel). Tous les échantillons ont alors été stockés au congélateur (-80°C) jusqu'à analyse.

Les sols ont été, quant à eux, stockés au congélateur (-20°C) jusqu'à analyse.

3. Méthodes analytiques

Dans cette partie sont successivement présentés le protocole d'analyse et la méthodologie relative à l'étude de la sorption.

3.1. Le protocole d'analyse

L'analyse de spéciation, plutôt que la détermination de la teneur totale apparaît aujourd'hui comme un préalable indispensable à l'évaluation du comportement physicochimique, de la biodisponibilité, de la toxicité et donc du risque environnemental associé à la présence des contaminants organométalliques tels que les organoétains dans les écosystèmes terrestres.

3.1.1 Extraction des composés organostanniques avant analyse

En amont de la technique d'analyse, une étape de prétraitement est nécessaire pour la mise en solution des composés organostanniques présents dans les échantillons solides. Les techniques d'extraction sont désormais bien connues pour des matrices complexes telles que les sédiments (Desauziers, 1991), les échantillons biologiques (Pannier *et al.*, 1994 ; Simon *et al.*, 2002) et les boues de station d'épuration (Bancon-Montigny *et al.*, 2001 ; Fent, 1996a). Les échantillons analysés dans ce travail ont été principalement des boues, des sols et des végétaux. Le protocole d'extraction des végétaux est discuté dans le chapitre 3 de cette thèse. Les techniques analytiques suivantes ont été utilisées pour l'extraction des organoétains :

- Extraction Solide / Liquide (SLE)
- Extraction par Solvant Pressurisé (PSE)

3.1.1.1. L'Extraction Solide / Liquide (SLE)

Le protocole qui a été utilisé pour les sols et les boues est celui validé pour les sédiments (AFNOR, 2005). Sa description est la suivante : 0,5 à 2 g de sol ou de boue humide sont placés dans un tube à centrifuger en polypropylène en présence de 20 mL d'acide éthanoïque glacial. Le mélange est alors agité, sur une table d'agitation elliptique à 420 tours.min⁻¹,

durant une nuit (environ 12 heures) à l'obscurité. Après 15 minutes de centrifugation à 4000 tours min^{-1} , 0,5 à 4 mL de surnageant (extrait acide) sont prélevés et analysés.

Les limites de détections ont été déterminées selon la norme IUPAC. Elles sont de l'ordre de 0,2 à 0,4 $\text{ng}(\text{Sn}).\text{L}^{-1}$ pour l'ensemble des composés butylés et phénylés sauf pour le MPhT (1,0 $\text{ng}(\text{Sn}).\text{L}^{-1}$). Les répétabilités sont comprises entre 1 et 8% selon les composés, ce qui est très satisfaisant (Bancon-Montigny, 2001).

Pour les végétaux, l'extraction a lieu dans un solvant acidifié par HCl (0,035 $\text{mol}.\text{L}^{-1}$). Plusieurs solvants ont été étudiés et les résultats sont présentés dans le chapitre 3 de ce mémoire. Dans cette procédure, une étape préliminaire de mouillage est réalisée avec la solution extractive : 0,5 g de poudre végétale, placé dans un tube à centrifuger en présence de 3 à 5 mL de solvant, est agité pendant une heure. Puis 5 à 10 mL de solvant acidifié sont ajoutés et le tube est agité pendant encore une heure. Après 15 minutes de centrifugation à 4000 tours min^{-1} , 0,5 à 4 mL de surnageant sont prélevés et analysés. Les limites de détection sont de 4 $\mu\text{g}(\text{Sn}).\text{kg}^{-1}$ pour le TBT (répétabilité de 5%) et de 5 $\mu\text{g}(\text{Sn}).\text{kg}^{-1}$ pour le TPhT (répétabilité de 10%) (Simon *et al.*, 2002).

3.1.1.2. L'Extraction par Solvant Pressurisé (PSE)

La société DIONEX commercialise un système d'Extraction par Solvant Pressurisé (PSE) (appelé Accelerated Solvent Extraction, ASE) pour l'extraction de composés organiques depuis des échantillons solides et semi-solides. Lors de l'extraction, des solvants conventionnels sont maintenus à des températures et des pressions élevées pour accroître l'efficacité de l'extraction. De ce fait, le temps d'extraction est beaucoup plus court. Nous avons utilisé cette technique pour l'extraction des OTC dans les sols, les boues et les plantes.

Le principe de fonctionnement est schématisé sur la Figure 2.1. L'échantillon, mélangé si nécessaire à un agent dispersif (sable de Fontainebleau dans notre cas), est placé dans une cellule en inox. Chaque extrémité de la cellule comporte un fritté inox, doublé d'un filtre en cellulose changé à chaque extraction afin d'éviter toute fuite d'échantillon solide. La cellule est installée automatiquement dans le four, puis le solvant est délivré par une pompe. La cellule est alors chauffée et, en même temps, une arrivée d'azote permet de maintenir la mise sous pression de l'échantillon. Une fois les conditions de consigne atteintes, la première phase d'extraction statique commence. A la fin de celle-ci, le solvant est partiellement renouvelé et

le second cycle commence. Lorsque les cycles programmés sont terminés, la totalité du solvant est éjectée de la cellule par une purge d'azote.

Les principaux paramètres ajustables sur un tel système sont : la température (72 – 128°C), la pression (72 – 128 bars), la durée et le nombre de cycles d'extraction (3 cycles de 3 min), le volume et la nature du solvant à renouveler (60 % du volume de la cellule).

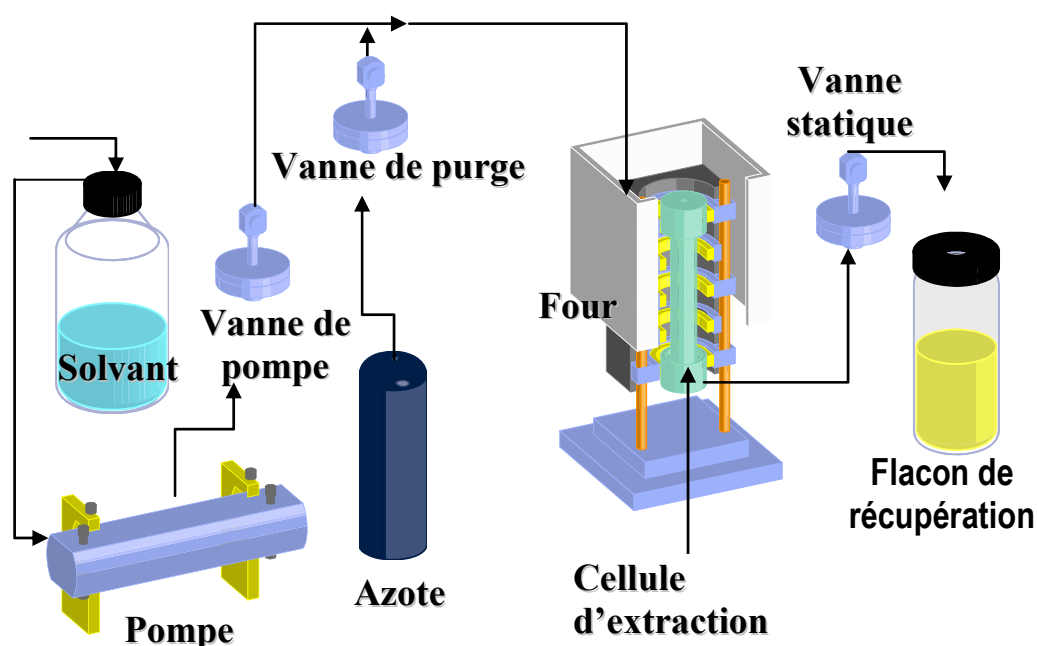


Figure 2.1 : Schéma de fonctionnement du système d'Extraction par Solvant Pressurisé (PSE)

3.1.2 Dérivation et analyse par GC-PFPD

La technique de spéciation des composés organostanniques par chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur de photométrie de flamme pulsée (GC-PFPD) après éthylation par NaBET_4 comprend deux étapes : la dérivation (l'éthylation) associée à l'extraction des organoétains (dans un solvant ou sur phase solide) et l'analyse chromatographique.

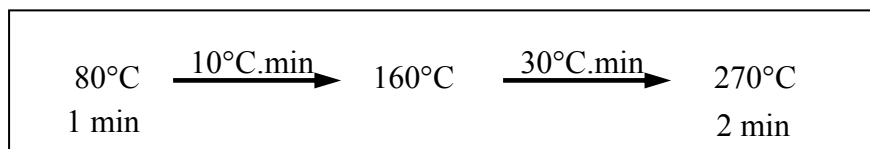
L'étape de dérivation permet de rendre les composés organostanniques plus facilement chromatographiables. Au cours de cette étape, les organoétains présents dans le mélange à analyser, réagissent quantitativement avec un réactif, le tétraéthylborate de sodium (NaBET_4) qui permet de transformer les organoétains en produits tetrasubstitués plus stables et/ou plus

volatils par éthylation. Ce réactif et un solvant organique apolaire (l'isooctane dans notre cas) sont directement introduits dans un réacteur contenant un tampon éthanoate de sodium / acide éthanoïque à pH= 4,8 et l'extrait acide à analyser. Après 30 minutes d'agitation sur une table elliptique à 420 tours.min⁻¹, l'isooctane est séparé de la phase aqueuse. Enfin 2 µL d'isooctane contenant les organoétains éthylés sont directement injectés dans le chromatographe.

Le chromatographe est un VARIAN 3800 (Walnut Creek, CA, USA) équipé d'un système d'injection split / splitless à température programmable VARIAN 1079 et d'un détecteur à photométrie de flamme pulsée (PFPD)

Le système d'injection permet la volatilisation instantanée de l'échantillon et le transfert des composés dans la colonne chromatographique par un gaz vecteur inerte, l'azote. La température utilisée dans notre méthode est de 290°C.

La séparation s'effectue dans une colonne capillaire (BP 5, SGE, France) de longueur 30 m et de diamètre intérieure 0,25mm. La phase stationnaire apolaire est en polydiméthylsiloxane d'épaisseur 0,25 µm. La programmation de température du four utilisée est la suivante :



Cette programmation permet la volatilisation et la séparation des différents composés éthylés des organoétains selon leurs points d'ébullition et leurs affinités avec la phase stationnaire.

La détection s'effectue par un photomètre de flamme pulsée (VARIAN). Une flamme air-hydrogène, allumée de façon discontinue, permet la formation d'espèces moléculaires excitées. On utilise donc l'émission de ces recombinaisons moléculaires. La mesure de l'intensité du rayonnement émis s'effectue via un filtre centré sur le maximum du spectre d'émission de l'espèce moléculaire. Cette mesure est réalisée à chaque allumage de la flamme (soit environ 4 à 5 fois par seconde). Les conditions opératoires employées ont été optimisées et validées précédemment : 350°C pour la température du détecteur, un délai de mesure de 3 ms avant une fenêtre de mesure de 2 ms pour chaque période de détection (Bancon-Montigny, 2001).

3.2. La sorption en réacteur fermé de type Batch

Pour tenter d'évaluer et de comprendre l'aptitude des composés organostanniques à l'état de trace à se sorber sur les supports solides, nous avons utilisé le protocole de l'Agence américaine pour la Protection de l'Environnement (United States Environmental Protection Agency, 1992).

L'étude des processus d'adsorption par la technique des batches, ou réacteurs fermés, doit sa popularité à sa simplicité. Une solution aqueuse contenant des solutés de composition et concentrations connues est mise en présence d'une certaine masse d'adsorbant pendant un temps défini. La solution est alors séparée de l'adsorbant et analysée chimiquement afin de mettre en évidence les changements de concentrations en solution. La quantité de soluté adsorbé est définie comme la différence entre la concentration initiale (avant le contact avec l'adsorbant) et la concentration de soluté après la période de contact (EPA/530/SW-87/006-F).

Cette technique fournit des informations de base à l'appréhension de la cinétique et des mécanismes de sorption des espèces chimiques étudiées.

Comme nous l'avons vu précédemment, plusieurs paramètres peuvent affecter l'adsorption. Compte tenu de ces données, nous avons choisi d'étudier le pH, le rapport sol / solution, la concentration de soluté et le temps de contact.

3.2.1 Le pH de la solution

Afin de connaître le pH du système sol / solution, il est nécessaire d'effectuer des mesures régulières de pH au cours des expériences. Il est possible de travailler à pH constant avec des tampons à conditions de vérifier qu'ils n'influencent pas l'adsorption. Dans nos expériences, nous avons choisi de fixer initialement le pH de la suspension par des micro ajouts de soude (NaOH) ou d'acide nitrique (HNO₃) en travaillant dans une gamme de pH comprise entre 4 et 9, correspondant aux pH utilisés dans les pratiques agricoles.

3.2.2 La force ionique

La force ionique de la solution peut avoir plusieurs effets sur l'adsorption. Ces effets dépendent de la concentration, de la composition et de la charge des constituants ioniques du milieu. La force ionique peut affecter l'adsorption de deux manières : en changeant l'activité

de la solution et en modifiant la distribution ionique de la surface du sol. Il peut alors y avoir un impact sur les échanges ioniques à l'interface solide/liquide. Afin de maîtriser les expériences, il faut au préalable tester l'influence de l'électrolyte employé pour fixer par la suite la force ionique. Nous avons utilisé une solution de nitrate de sodium (NaNO_3) à une concentration de $0,01 \text{ mol.L}^{-1}$.

3.2.3 Le rapport sol / solution

Il s'agit du rapport entre la masse de sorbant introduit dans le batch et le volume de liquide (solution contenant les organoétains). Pour construire une isotherme de sorption, ce rapport doit être déterminé afin de permettre une sorption du soluté suffisante pour que la concentration de soluté à l'équilibre soit significativement différente de la concentration initiale. Le protocole de l'EPA préconise de choisir un rapport boue / solution engendrant un **pourcentage de sorption supérieur à 10 %**. **En effet, un pourcentage inférieur ne permet pas de construire d'isothermes de sorption.**

Plusieurs essais ont été réalisés afin de déterminer ce rapport. Les rapports sont donnés en gramme de boue par volume de solution en millilitres. Ils sont définis à partir de la masse de boue séchée au four. Quatre rapport boue / solution ont été testés avec des masses de boue variables comprises entre 2 et 0.05 g, et un volume de solution contenant les composés organostanniques fixe de 50 mL. Les résultats donnant un pourcentage d'adsorption convenable à l'analyse ont été obtenus pour des rapports solide / liquide de 1/50 et 1/1000.

3.2.4 Détermination du temps d'équilibre

Selon le protocole de l'US-EPA et afin d'obtenir des résultats représentatifs, les mesures doivent être faites lorsque l'équilibre solide / liquide est atteint. Dans les expériences de sorption en batch, l'équilibre chimique correspond à des concentrations des espèces dans les différentes phases ne variant plus dans le temps. Ce temps de contact dépend évidemment du sol et des solutés utilisés. L'EPA suggère que le temps d'équilibre devrait être le temps nécessaire minimum afin que la variation de la concentration du soluté soit inférieure ou égale à 5% par 24 heures. Des temps compris entre 1 et 72 heures (1, 4, 10, 18, 24, 48 et 72h) ont été testés. Pour le TBT et le TPhT, le temps d'équilibre de la suspension est atteint après 24 heures.

3.2.5 La concentration du soluté étudié

Cette concentration doit être choisie pour qu'une fois l'équilibre atteint, la concentration de soluté en solution soit analysable (supérieure à la limite de détection de la méthode d'analyse) et significativement différente de la concentration initiale. Pour les rapports boue / solution choisis, des concentrations comprises entre 1 et 1500 $\mu\text{g}(\text{Sn}).\text{L}^{-1}$ (1, 10, 50, 100, 200, 400, 800, 1000 et 1500) ont été testées. Pour les expériences de cinétiques, la concentration choisie a été de 50 $\mu\text{g}(\text{Sn}).\text{L}^{-1}$.

3.2.6 Bilan

Les conditions opératoires des expériences en batchs définies au préalable et appliquées par la suite sont résumées dans le tableau suivant :

Tableau 2.4 : Tableau récapitulatif des conditions expérimentales pour les manipulations en batchs.

Expérience	pH	Temps d'agitation	Rapport Solide / Liquide	Concentration ($\mu\text{g}(\text{Sn}).\text{L}^{-1}$)
Cinétiques	6,5	1 à 72 h	1 / 50	50
Isothermes	6.5	24 h	1 / 50	10 à 1500
		24 h	1 / 1000	5 à 600
	2 à 10	24 h	1 / 50	50

3.3. Titrage acide-base de la boue de station d'épuration

La titration acide-base a consisté en un suivi du pH en fonction du nombre de moles d'acide (HNO_3) ou de base (NaOH) ajoutées à une suspension de boue. La gamme de pH étudiée est comprise entre pH 2 et 10. Le rapport solide / liquide choisi est de 1 / 50 correspondant à une prise d'échantillon de boue sèche de 1 g pour 50 mL de solution ($20 \text{ g}.\text{L}^{-1}$)

Les titrations ont été réalisées dans des réacteurs de 130 ml en verre à l'aide d'un titrateur automatique 716 DMS Titrino titrator (Metrhom AG, Herisau, Switzerland) combiné à une électrode de pH. Les titrages en milieu acide et basique ont été effectués dans des réacteurs indépendants. Elles ont été réalisées en partant du pH initial de la suspension boue/électrolyte

et les différents pH ont été obtenus par micro ajouts successifs de base ou d'acide. L'acide utilisé a été de l'acide nitrique supra pur (HNO_3) et la base de la soude supra pure (NaOH).

L'électrolyte permettant de fixer la force ionique a été une solution de NaNO_3 suprapure.

Quatre forces ioniques (I) ont été testées :

- $[\text{NaNO}_3] = 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$
- $[\text{NaNO}_3] = 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$
- $[\text{NaNO}_3] = 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$
- $[\text{NaNO}_3] = 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$

Le pH de la suspension a été mesuré sous agitation. Les mesures de pH ont été menées avec et sans bullage d'azote mais aucune différence n'a pu être mise en évidence.

4. Les plans d'expériences

Le recours aux plans d'expériences, méthodologie très utilisée en particulier en agronomie et en chimie, permet d'acquérir le maximum d'informations avec une précision et une fiabilité optimales.

4.1. Présentation de la méthodologie des plans d'expériences

Le nombre et la nature des expériences sont définis de telle façon que leur organisation permette d'obtenir le maximum de renseignements tout en minimisant le nombre d'expériences à effectuer.

Cette méthode offre de nombreux avantages parmi lesquels :

- un nombre d'essais à réaliser parfaitement contrôlés,
- un nombre de facteurs étudiés pouvant être grand,
- la détection d'interactions entre facteurs,
- la quantification de l'effet des facteurs et la prise en compte de leurs interactions
- la modélisation des processus étudiés.

Les plans d'expériences permettent donc, en premier lieu, d'optimiser l'acquisition d'informations expérimentales. Leur mise en œuvre obéit à une démarche précise et nécessite la définition au préalable :

- de l'objectif de l'étude,
- des facteurs qui pourraient être influents sur le ou les processus étudié(s),
- des niveaux des facteurs permettant la détermination du domaine de variation,
- de la réponse (ou des réponses) permettant de décrire au mieux le ou les processus que l'expérimentateur cherche à étudier.

Les facteurs à considérer et leurs domaines de variation ont été définis en fonction de la recherche bibliographique préliminaire que nous avons réalisée.

L'ensemble des expériences initiales destinées à évaluer l'effet des facteurs et de leurs interactions est regroupé dans une matrice, notée X. Cette matrice représente en fait, sous forme codée, la description précise de toutes les expériences planifiées. Ces expériences comportent plusieurs niveaux de réglage pour chacun des facteurs étudiés. Leur réalisation permet d'obtenir un ensemble de valeurs des réponses étudiées que l'on regroupe également dans une matrice, notée Y. L'utilisation de matrices va permettre une manipulation plus aisée des résultats. Les effets de chaque facteur et interaction sont ainsi évalués par calcul matriciel selon la formule suivante :

$$A = (X^t X)^{-1} . X^t . Y$$

avec : A, la matrice des effets calculés

X, la matrice des expériences planifiées

Y, la matrice des résultats expérimentaux obtenus après mesure de la réponse

X^t , la transposée de la matrice X

$(X^t . X)^{-1}$, l'inverse de la matrice $(X^t . X)$

Cette formule découle directement de la méthode d'ajustement au sens des moindres carrés. Les effets regroupés dans la matrice A représentent donc également les coefficients d'un modèle d'ajustement qui permet de transformer une connaissance expérimentale discrète (résultats des expériences) en connaissance continue sur le domaine étudié.

La précision sur un effet est calculée selon la formule suivante :

$$dA = \pm t.s \sqrt{(X^t . X)^{-1}_{(i,i)}}$$

avec : t, le coefficient de Student généralement pris dans un intervalle de confiance de 95%

$(X^t . X)^{-1}_{(i,i)}$, termes diagonaux de la matrice $(X^t . X)^{-1}$

s, l'écart type moyen sur les résultats expérimentaux (Y)

Un facteur ou une interaction est considéré comme significatif si la valeur absolue de son effet est supérieure à la précision : $|A| > dA$.

4.2. Choix de la matrice d'expériences

La méthodologie des plans d'expériences offre le choix entre plusieurs matrices expérimentales ayant chacune des propriétés intrinsèques bien définies. Il est donc nécessaire au préalable, de décider quel type de matrice est le mieux adapté à la problématique de l'expérimentateur.

Nous avons choisi d'utiliser deux types de plans :

- les plans factoriels à 2 niveaux, notés 2^{NF} , avec NF le nombre de facteurs étudiés et les plans composites centrés. Ce type de plans est adapté à l'optimisation de méthode sans connaître, au départ de l'étude, les facteurs influents. Si le nombre de facteurs à étudier est petit (2 ou 3 facteurs typiquement), on utilisera des plans complets qui comprennent toutes les combinaisons possibles des 2 niveaux de tous les facteurs (cela correspond à 2^{NF} expériences). Sinon, on préférera les plans fractionnaires qui permettent de sélectionner certaines expériences représentatives, et donc de diminuer le nombre d'expériences planifiées.
- les plans (ou réseaux) de Doehlert. Ces plans permettent d'étudier et de modéliser directement l'effet de facteurs sur une réponse. Ils demandent la réalisation de moins d'expériences, tout en gardant une lisibilité statistique significative. Plusieurs facteurs ainsi que les interactions entre ces facteurs peuvent donc être étudiés de manière rigoureuse. Ils donnent également la possibilité de rajouter des facteurs ou d'étendre le domaine d'étude a posteriori, si l'étude le nécessite. Ils s'avèrent donc bien adaptés aux cultures de végétaux, longues et dépendantes d'un grand nombre de facteurs.

4.2.1 Les plans factoriels et les plans composites centrés

4.2.1.1. Présentation générale

Ces plans sont souvent utilisés car ils se prêtent bien au déroulement séquentiel d'une étude d'optimisation, avec un nombre de facteurs et un domaine expérimental fixés. La détermination de chaque modèle est effectuée par une approche itérative basée sur l'équation polynomiale suivante :

$$Y = a_0 + \sum_{i=1}^n a_i X_i + \sum_{i=1, j=1}^n a_{ij} X_i X_j + \sum_{i=1}^n a_{ii} X_i^2$$

avec n , le nombre de facteurs,

Y , la représentation mathématique de la réponse étudiée,

X_i , la représentation du facteur i dans le domaine expérimental codé (entre les niveaux -1 et +1),

a_0 , la moyenne sur l'ensemble de expériences du plan d'expériences

a_i , l'effet du facteur i et a_{ij} , l'effet de l'interaction entre les facteurs i et j

a_{ii} , le carré de l'effet du facteur i .

On utilise tout d'abord un plan factoriel, complété par des points au centre du domaine pour vérifier la validité du modèle du premier degré (modèle pseudo-linéaire incluant seulement les trois premiers termes de l'équation précédente). Si le test de validation est positif (la réponse mesurée au centre du domaine est statistiquement égale à la réponse calculée au même point) l'étude s'achève et les conditions optimales peuvent être déterminées. Mais s'il est négatif, on entreprend des essais supplémentaires (points en étoile, α) pour établir un modèle du second degré (ajustement de la courbure expérimentale de la réponse). La démarche présente donc trois parties :

- Le plan factoriel. C'est un plan complet ou fractionnaire, à deux niveaux par facteurs. Les points expérimentaux sont au sommet du domaine (n essais).
- Le plan en étoile. Les points en étoile, α , sont sur les axes (en général à même distance du centre) (m essais). Le choix de l'emplacement des points en étoile, et donc de la valeur de α , est lié à des considérations expérimentales et à des critères d'optimalité (qualité désirée de l'expérimentation), l'isovariance par rotation par exemple. Les points sont alors placés en étoile à une distance α du centre égale à la racine quatrième du nombre de points du plan factoriel. Dans le cas où deux facteurs sont étudiés, $\alpha = (4)^{1/4} = 1,414$.
- Les points au centre du domaine d'étude (p essais). Ils servent à tester la validité du modèle proposé et permettent d'obtenir une estimation de l'erreur expérimentale

Le nombre total d'essais à réaliser est donc $N = n + m + p$. La figure 2.2 donne une représentation graphique du domaine expérimental dans le cas d'une étude à deux facteurs.

Expériences		Facteur 1	Facteur 2
●	1	-1	-1
●	2	+1	-1
●	3	-1	+1
●	4	+1	+1
●	5	0	0
●	6	0	0
○	7	- α	0
○	8	+ α	0
○	9	0	- α
○	10	0	+ α
●	11	0	0
●	12	0	0

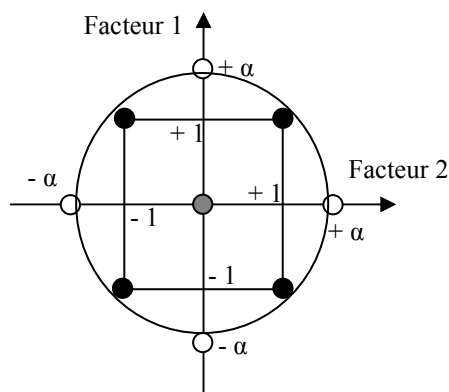


Figure 2.2 : Plan composite centré pour l'étude de deux facteurs. Sur le schéma, les points factoriels sont en noir, les points en étoile sont en blanc et les points centraux sont en gris.

Le modèle - quadratique ou pas - est ajusté par calculs itératifs permettant d'éliminer les effets a_i , a_{ij} et a_{ii} , non significatifs. L'analyse de la variance est faite selon Fischer Snedecor (95%) afin de déterminer la signification globale du modèle et de détecter de possibles erreurs systématiques (biais).

4.2.1.2. Applications

Des réponses sont ensuite définies afin d'évaluer les différents phénomènes expérimentaux. Dans notre cas, le but de l'étude était l'optimisation de deux techniques d'extraction des organoétains à partir de matrices végétales. Deux types de réponses permettant d'évaluer la quantitativité et la qualité de l'extraction ont donc été définis comme suit :

- Le premier type de réponse permet d'évaluer la quantité en OTC extraite par les procédés d'extraction. Les techniques analytiques employées permettent d'établir une relation directe entre cette quantité extraite à la surface du pic chromatographique, pour chaque espèce étudiée. La réalisation du plan d'expériences a conduit à l'obtention de réponses individuelles (surfaces de pics) pour chaque composé organostannique considéré. Leur comparaison montre qu'elles varient de la même manière pour tous les composés. Nous avons donc décidé d'utiliser une réponse unique, fonction des quatre réponses individuelles. Elle est définie de la façon suivante :

$$S = \sum_{i=1}^n S_i$$

avec S_i , représentant la surface absolue du pic chromatographique de l'organoétain i .

- un deuxième type de réponse représentant un indice qualitatif de la conservation des espèces organostanniques trisubstituées – espèces les plus susceptibles de se dégrader – après l'extraction a été définie comme suit :

$$I_C = \frac{S_{TXT}}{\sum_{i=1}^3 S_{OTCX}} \times 100$$

avec I_C , représentant l'indice de conservation et S_{OTCX} , la somme des surfaces des composés mono-, di-, et trisubstitués de l'espèce organostannique étudiée.

4.2.2 Les plans d'expériences de Doehlert

4.2.2.1. Présentation générale

C'est une démarche différente des plans composites. Les points expérimentaux remplissent de manière uniforme l'espace en formant un hexagone (en deux dimensions si deux facteurs sont étudiés) ou un « hyper-hexagone » (plus de deux facteurs) (Figure 2.3). On ne cherche pas, dans ce cas, à remplir les conditions d'optimalité maximale comme précédemment. Mais comme les points sont régulièrement répartis, il sera facile, si nécessaire, d'étendre le plan dans n'importe quelle direction de l'espace en ajoutant des points qui seront, eux aussi, régulièrement répartis. Les nouvelles expériences viendront compléter les premières et aucune manipulation ne sera perdue. La seule précaution à prendre est de maintenir les niveaux des facteurs non étudiés à une valeur constante pendant l'étude des autres facteurs étudiés. Ainsi, ce type de plan confère un aspect séquentiel et ouvert à l'acquisition d'informations expérimentales. Ils permettent enfin une modélisation directe par une relation polynomiale de second ordre, ajustant les variations de la réponse étudiée (prise en compte des variations non-linéaires).

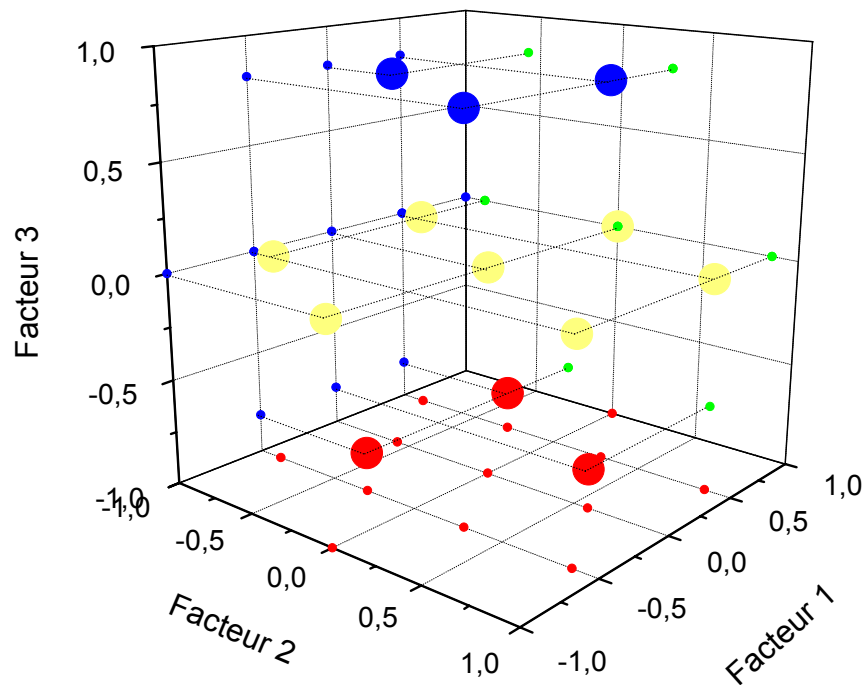


Figure 2.3 : Disposition des points d'expériences d'un plan de Doehlert à trois facteurs. C'est un empilement compact et régulier de billes.

4.2.2.2. Applications

Ce type de plan a été utilisé lors de la culture de végétaux. Le but de cette étude était d'étudier l'influence de plusieurs facteurs ainsi que l'interactions entre ces facteurs sur la conservation d'organoétains dans le sol et le prélèvement de ces contaminants par la plante.

Compte tenu des facteurs physico-chimiques que nous avons choisis d'étudier, et de leur nombre, nous avons décidé d'utiliser des plans de Doehlert à trois facteurs (Goupy, 1999) :

- facteur 1 : la quantité de boue ou le pH
- facteur 2 : la concentration en TBT
- facteur 3 : la concentration en TPhT

Ces facteurs ont été retenus suite à la première étude sur la nature de l'apport du contaminant au système sol / plante. Nous nous sommes donc focalisés sur l'influence de la quantité de boue contaminée en organoétains apportée au système vis-à-vis du prélèvement d'OTC par la plante. Dans une deuxième série d'expériences, le pH a été retenu comme facteur car la littérature montrait qu'il s'agissait d'un paramètre important dans le devenir des organoétains dans les systèmes environnementaux. Les deux facteurs communs aux deux séries d'expériences ont été la concentration en TBT et en TPhT, ces composés étant considérés comme les espèces les plus toxiques que l'on retrouve dans les écosystèmes agricoles. Les niveaux de valeurs de chaque facteur ont été choisis en fonction des apports habituels de boue dans les sols (entre 1 et 9 % de boue) et des concentrations en organoétains généralement rencontrées dans les boues (0,3 à 5 mg (Sn).kg⁻¹).

Les tableaux 2.5 et 2.6 décrivent les matrices expérimentales utilisées, présentent les domaines d'étude choisis et précisent les niveaux de chaque facteur. Les masses de boue, les concentrations de TBT, de TPhT et le pH correspondants y sont indiqués.

Dans le premier plan (Tableau 2.5), le pH est constant, égal à 5,5. Dans le second plan (Tableau 2.6), le facteur « boue » a été remplacé par le « pH ». La quantité de boue est alors maintenue constante pour toutes les expériences, égale à 100 grammes (ce qui représente un apport de 5 %).

Tableau 2.5 : Domaine d'étude du plan d'expériences de Doehlert à trois facteurs : la boue, la concentration en TBT et en TPhT (* concentration dans le sol)

Expérience	Facteur 1 : Quantité de Boue		Facteur 2 : [TBT]		Facteur 3 : [TPhT]	
	Valeur (g)	Niveau codé	Valeur* ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)	Niveau codé	Valeur* ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)	Niveau codé
1	100	0	35	0	35	0
2	180	1	35	0	35	0
3	140	0,5	48	0,866	35	0
4	60	-0,5	48	0,866	35	0
5	20	-1	35	0	35	0
6	60	-0,5	22	-0,866	35	0
7	140	0,5	22	-0,866	35	0
8	140	0,5	39	0,289	47	0,816
9	60	-0,5	39	0,289	47	0,816
10	100	0	26	-0,577	47	0,816
11	140	0,5	31	-0,289	24	-0,816
12	60	-0,5	31	-0,289	24	-0,816
13	100	0	44	0,577	24	-0,816
1a	100	0	35	0	35	0
1b	100	0	35	0	35	0
1c	100	0	35	0	35	0

Tableau 2.6 : Domaine d'étude du plan d'expériences de Doehlert à trois facteurs : la valeur du pH du sol, la concentration en TBT et en TPhT (* concentration dans le sol)

Expérience	Facteur 1 : pH		Facteur 2 : [TBT]		Facteur 3 : [TPhT]	
	Valeur (g)	Niveau codé	Valeur* ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)	Niveau codé	Valeur* ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)	Niveau codé
1	5,5	0	99	0	99	0
2	7,5	1	99	0	99	0
3	6,5	0,5	150	0,866	99	0
4	4,5	-0,5	150	0,866	99	0
5	3,5	-1	99	0	99	0
6	4,5	-0,5	48	-0,866	99	0
7	6,5	0,5	48	-0,866	99	0
8	6,5	0,5	117	0,289	148	0,816
9	4,5	-0,5	117	0,289	148	0,816
10	5,5	0	65	-0,577	148	0,816
11	6,5	0,5	82	-0,289	50	-0,816
12	4,5	-0,5	82	-0,289	50	-0,816
13	5,5	0	134	0,577	50	-0,816
1a	5,5	0	99	0	99	0
1b	5,5	0	99	0	99	0
1c	5,5	0	99	0	99	0

Les réponses obtenues à la suite de ces plans d'expériences ont été les concentrations et les masses de TBT et TPhT et de leurs produits de dégradation dans les sols et les végétaux. D'autres réponses telles que les masses de végétaux récoltés ont également été considérées. Le traitement des données s'effectue de la même manière que pour les plans composites. Dans le mélange sol / boue, ces réponses ont ainsi permis d'évaluer la dégradation des organoétains. Au niveau du végétal, ces réponses nous ont donné des informations sur le transfert du contaminant du sol vers la plante ainsi que son devenir à l'intérieur de la plante.

5. Références

- 1 AFNOR **2005**. Réalisation d'un essai inter - laboratoire pour le dosage des composés organostanniques dans des sédiments - Validation du projet de norme NF T90-250. *Rapport d'étude du 24/03/2005* n° INERIS - DRC - 59503 - CHEN - MSr - 05.0187, 103 pp.
- 2 Bancon-Montigny, C. **2001**. Optimisation d'une technique analytique couplée (GC-PFPD) pour la spéciation des composés organostanniques - Application à leur suivi dans le cycle hydrologique. Laboratoire de Chimie Analytique, BioInorganique et Environnement, Thèse de l'Université de Pau et des Pays de l'Adour. 231 pp.
- 3 Desauziers, V. **1991**. Dosage du tributylétain dans les sédiments marins, études préliminaires pour l'élaboration d'un matériau de référence international. Faculté de Chimie, Thèse de l'Université de Pau et des Pays de l'Adour. 160 pp.
- 4 Fent, K. **1996a**. Organotin compounds in municipal wastewater and sewage sludge: contamination, fate in treatment process and ecotoxicological consequences. *Science of The Total Environment* 185, (1-3), 151-159.
- 5 Goupy, J. **1999**. Plans d'expériences pour surfaces de réponses. Bordas, Paris. 409 pp.
- 6 Pannier, F., Astruc, A., Astruc, M. **1994**. Extraction and determination of butyltin compounds in shellfish by hydride generation-gas chromatography-quartz furnace atomic absorption spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 287, 17-24.
- 7 Simon, S., Bueno, M., Lespes, G., Mench, M. and Potin-Gautier, M. **2002**. Extraction procedure for organotin analysis in plant matrices: optimisation and application. *Talanta* 57, (1), 31-43.
- 8 United States Environmental Protection Agency **1992**. Batch-Type procedures for estimating soil adsorption of chemicals. *USEPA Technical Resource Document*, EPA/530/SW-87/006-F.

CHAPITRE 3

COMPARAISON DE DEUX MÉTHODES D'EXTRACTION : OPTIMISATION ET VALIDATION POUR L'EXTRACTION DES ORGANOÉTAINS DE MATRICES VÉGÉTALES

L'objectif de cette partie est de comparer la technique d'extraction solide / liquide précédemment développée au laboratoire pour le dosage des organoétain dans les matrices végétales à une nouvelle technique d'extraction : l'Extraction sous Solvant Pressurisé (PSE).

Dans un premier temps, la nature du solvant d'extraction a été étudiée, la littérature faisant état d'une influence importante de ce paramètre sur les quantités d'OTC extraites. Trois solvants (ou mélange) ont été comparés : le méthanol, l'acétate d'éthyle et un mélange 50/50 de ces deux solvants. L'étude a été réalisée en prenant en compte deux types de végétaux considérés comme étant les plus consommés en Europe : la pomme de terre et le haricot vert. Nous nous sommes intéressés aux deux composés organostanniques les plus toxiques : le TBT et le TPhT. De plus, deux composés triorganostanniques supplémentaires, le trioctylétain (TOcT) et le tricyclohexylétain (TcHexT), ont été pris en compte, ces composés étant potentiellement présents dans les systèmes agricoles.

Les conditions expérimentales initialement utilisées pour la PSE ont été celles préconisées par le constructeur. Les résultats de cette étude préliminaire montrent que l'extraction est plus quantitative pour le mélange de solvants ainsi que pour l'acétate d'éthyle. La PSE est plus efficace pour l'extraction à partir de pomme de terre et permet également d'avoir une plus grande préservation des espèces. L'ensemble de ces résultats nous a alors conduit à choisir le mélange de solvants (50 / 50) comme « solvant d'extraction ».

Suite à cette étape préliminaire, une optimisation de la technique PSE a été réalisée par plan d'expériences. La température et la pression d'extraction ont été retenues comme paramètres à optimiser. La quantitativité de l'extraction et la capacité à préserver la spéciation au sein de l'échantillon ont été considérées comme les deux réponses représentatives des performances de l'extraction. L'optimisation a permis de déterminer les conditions opératoires optimales : une température de 90°C et une pression de 90 bars ont ainsi été retenues pour obtenir un compromis satisfaisant entre les quantités extraites et la préservation des espèces.

Les performances analytiques ont ensuite été évaluées par le calcul des limites de détection (LD) et de quantification (LQ). Les LD sont généralement inférieures ou proches de 1 $\mu\text{g}(\text{Sn})\cdot\text{kg}^{-1}$. Les LD et les LQ sont toujours plus basses en SLE qu'en PSE.

Des applications réalisées à partir de laitue naturellement contaminée et de pommes de terre et de haricots vert dopés ont permis de valider la méthode analytique optimisée et de confirmer le potentiel de la PSE et la complémentarité PSE / SLE.

Pressurised Solvent Extraction for organotin speciation in vegetable matrices.

Christophe Marcic*, Gaëtane Lespes and Martine Potin-Gautier

Group of Analytical Chemistry – LCABIE, UMR-CNRS 5034,
Université de Pau et des Pays de l'Adour, Av. de l'Université, BP 1155, 64013 Pau, France

Article paru dans *Analytical Bioanalytical Chemistry*, **2005**, 382 (7), 1574-1583

Abstract:

Because the organic compounds of tin (OTC) are widely used in many fields of activities, their ubiquitous environmental presence is today undeniably established. The food safety is a crucial point as well, and the monitoring of organotin pesticides in fruits and vegetables has to be performed. Nevertheless, very few works exist on organotin speciation in plant. The objective of the present study was to evaluate and optimise a specific procedure based on Pressurised Solvent Extraction (PSE), suitable for the control of organotin content in vegetables. In ASE, solvents are used at elevated temperature and pressure to increase the rate and efficiency of the extraction process. This procedure was compared to the usually employed Solid / Liquid Extraction (SLE) in an acidic solvent by mechanical shaking. Three extracting solutions were tested (methanol, ethyl acetate and a mixture of methanol and ethyl acetate) and the mixture was found to give the best quantitativity with the preservation of the speciation. Leaves of French beans and lettuces as well as tubers of potatoes were taken as plant materials. These vegetables were considered because they are the most eaten in Europe. The study focuses on the trisubstituted OTC which are the most toxic tin species. The samples were spiked with the four trisubstituted organotins of interest: tributyltin (TBT), triphenyltin (TPhT), tricyclohexyltin (TcHexT) and trioctyltin (TOcT). The methodology of experimental design was used to evaluate the influence of pressure and temperature of the ASE on the process quantitativity and species preservation. The optimised PSE allows to reach limits of detection ranging over 1 – 2 ng (Sn) g⁻¹. They are higher than those obtained by SLE (0.1 – 1 ng (Sn) g⁻¹). Although the repeatability is similar for both PSE and SLE (ranged over 2 – 12 % for triorganotins compounds), it appears highly time-dependent in case of SLE. The comparison with SLE procedure confirms that Pressurised Solvent Extraction is an interesting tool for vegetables analysis considering the satisfactory OTC preservation and repeatability obtained with regards to the extraction duration (only 15 minutes against 2 to 12 hours by SLE).

Keywords: Pressurised Solvent Extraction, Organotins, Speciation, Vegetables

*Corresponding author

1. Introduction

For more than forty years, organotin compounds (OTC) are widely produced because of their numerous physico-chemical properties and especially the biocidal activity of trialkylated organotins. Thus, they are mainly used in agriculture and industry as fungicides, bactericides, insecticides (especially Tri-Phenyl (TPhT) and cycloHexylTins (TcHexT)) wood preservatives (TriButylTin, TBT) and found in PVC stabilizers (TriOctylTin, TOcT) leading to their large environmental spreading [1, 2]. Only very few studies have highlighted the plant uptake of these contaminants [3-5]. Unfortunately, the OTC, and more especially trisubstituted (TBT and TPhT) toxicity towards living organisms can be extremely high [2, 6]. Considering these data, the risk assessment is fundamental with regards to health especially. The chemical species distribution (or speciation) has to be assessed in the different environmental samples. The respect of the original trace OTC distribution over the whole analytical procedure is one of the most important points. In the analytical chain, the sample preparation and more especially the OTC extraction from solid to aqueous solution appears as a very crucial step. But the literature about OTC extraction from plants is scarce. Only Simon et al. (2002) [7] presented an extraction procedure optimised for these matrices. In case of vegetal analysis, speciation can be distorted by specific matrix effects such as chlorophyll or starch co-extraction leading to decrease the chromatographic signal [3, 7]. So, OTC extraction in plant matrix appears as a real analytical challenge.

The most commonly used extraction technique for reaching organotin compounds contained in solid samples is Solid / Liquid Extraction (SLE) performed by simple contact between solid and liquid, and mechanical or ultrasonic shaking [7-13]. The main advantages of SLE are its low cost, feasibility, and possibilities to work with acid or polar solvents on either crude or lyophilised samples. However most of the analysts consider that their solvent exposure is hazardous and the process duration too long for a routine use. Despite temperature was previously recognised as influential on extraction efficiency, it is often difficult to control or adjust it precisely [9]. More generally, the SLE operating conditions lead to a high dependance between the nature of the matrix and species recoveries [14].

Other processes such as Microwave Assisted Extraction (MAE) or Pressurised Solvent Extraction (PSE) allow the analytes to be extracted more rapidly [15-18]. Unfortunately, MAE applied to OTC remains critical because of serious TPhT degradations [15]. The high temperature used in PSE increases both the analyte solubility in the solvent and the diffusion

rates. A high pressure allows the solvent to remain in liquid state at elevated temperature, far above the boiling point [19, 20]. Consequently, the transfer of the chemical compounds to the solvent is faster and expected to be more quantitative [17-20]. All these considerations only concern analyte extraction from materials such as sediment or soil. In case of biological matrix in which the analyte is absorbed by the living organisms, few things are known. However, under PSE operating conditions, it can be expected that the vegetal cell integrity is destroyed, partly or totally, leading to release the analyte from the matrix as previously noticed in biological sample [20].

The PSE, is known as an alternative to the soxhlet extraction for large organic compounds (e.g. organochlorinated, organophosphorated or aromatic hydrocarbon compounds) coming from soil and found in biological samples, soils, sediments, sludge and fly ashes [17, 21-23]. Since a few years, PSE was used for extracting organometallic compounds such as organotin present in sediments or sludges [18, 24-26]. However, the number of application remains limited and extractions from plants have never been studied. It represents an important analytical lack since extraction process devoted to vegetables needs very particular operating conditions as demonstrated previously [3, 7].

In order to evaluate the analytical potential of the PSE applied to OTC, we studied the extraction of these compounds from cultivated vegetables. The present study focuses on the trisubstituted OTC, which are at once the most toxic, degradable and used in agriculture. They are also included in the projects of analytical standards. The final aims of this paper were to find the best operating compromise to extract the trisubstituted compounds from different matrices of food and health interest and compare the performances of the PSE to those of the SLE. Finally, some applications were performed on naturally contaminated samples.

2. Materials and Methods

All organotin concentrations reported in this paper are expressed as the mass of Sn per mass or volume unit.

2.1.Apparatus

Organotins were determined using a Varian 3800 gas chromatograph (Palo Alto, CA, USA) equipped with a pulsed flame photometric detector (PFPD) and a Varian 1079 split/splitless temperature programmable injector. The separation was carried out on a capillary column (30

m X 0.25 mm I.D.) coated with methylsilicone (0.25 μm film thickness) (Quadrex, New Heaven, CT, USA). Nitrogen was used as a carried gas, with a flow rate of 1 ml min^{-1} . The following temperature program was necessary for conveniently separate the organotin compounds: the column temperature was held at 80°C for the first minute, increased to 180°C at the rate of $30^\circ\text{C min}^{-1}$, then to 270°C at $10^\circ\text{C min}^{-1}$, and finally held at this temperature for 2 minutes. The detector was operated at 350°C with an air/hydrogen flame [9].

A Dionex ASE 200 Accelerated Solvent Extractor equipped with a solvent controller was used for the extraction from solid samples. 11 and 33 mL cells were used. All extracts from samples were collected in septum-topped 30 mL vials. Prepared samples were loaded into fingertight, stainless steel extraction cell. The cell was then transferred to the oven and automatically sealed under pressure. It was filled with solvent, heated and pressurized. After the set temperature was reached, the cell was held in the oven at constant temperature and pressure. The analyte and solvent were then collected into the vial and the cell was flushed and purged by nitrogen gas [27]. The total duration of the extraction of one sample was ranged over 10-20 minutes, depending on the number of extraction cycles (between 1 and 5).

2.2. Reagents

Hydrochloric (36-38 %), nitric (65 %) and acetic (99-100 %) acids, sodium acetate (99 %), ethyl acetate (99,6 %), methanol (99,8 %) were purchased from Atlantic Labo (Eysines, France). Isooctane was obtained from Fluka Chemie GmbH (Buchs, Switzerland). The Milli-Q water used was $18\text{M}\Omega$ (Millipore system). Sodium tetraethylborate (NaBEt_4 , min 98 %) was obtained from Strem Chemicals (Bischeim, France). The working solution was made daily by dissolving 0.02 g in 1mL of Milli-Q water and then stored at $+4^\circ\text{C}$ in the dark. Quartz sand was purchased from Aldrich (Milwaukee, WI, USA).

The whole glassware was rinsed with Milli-Q water, decontaminated for 3 days in 10% (v/v) nitric acid solution and then rinsed again three times in order to avoid cross contamination.

Monobutyltin trichloride (MBT, 95%), dibutyltin dichloride (DBT, 97%), tributyltin chloride (TBT, 96%), monophenyltin trichloride (MPhT, 98%), diphenyltin trichloride (DPhT, 96%), triphenyltin chloride (TPhT, 95%), tricyclohexyltin chloride (TcHexT, 90%) were purchased from Aldrich (Milwaukee, WI, USA). Tripropyltin chloride (TPrT, 98%) was obtained from

Strem Chemicals (Bisheim, France). Trioctyltin (TOcT, >99%) and the other octyltin compounds (mono-, MOcT, and di-, DOcT) came from Fluka.

The organotin stock solutions containing 1000 mg (Sn) L⁻¹ were prepared in methanol. Stored at + 4°C in the dark, they are stable for one year. Working standards were obtained by dilution in methanol weekly for solution of 10 mg (Sn) L⁻¹ and daily in water for 100 µg (Sn) L⁻¹.

2.3. Analytical procedure

2.3.1 vegetal materials

French Beans and lettuces were growth in an OTC-contaminated sludged soil, harvested and freeze at INRA (Bordeaux, France). In the same time other French Beans and potatoes were growth in a soil non-contaminated by OTC, harvested and frozen as well. Then, all these plants were lyophilized and ground.

Because no certified plant material is commercially available, laboratory reference materials were prepared by spiking the non-contaminated French Beans and potatoes with the four triorganotins of interest (TBT, TPhT, TcHexT and TOcT). For that, the spiking procedure usually used in intercomparaison studies was used: 4 mL of a methanolic solution containing 100 ng (Sn) L⁻¹ of each TBT, TPhT, TcHexT and TOcT were added to 4 g of non-contaminated powder sample (previously verified by GC-PFPD). After an equilibrium time of 24 hours, the solvent was eliminated by evaporation under a gentle flow of nitrogen for 24 hours. The spiked samples were analysed within 4 days. The naturally contaminated and spiked materials were then stored at - 20°C in the dark until analysis [7].

2.3.2 Extraction

The first Solid Liquid Extraction used (called SLE1), previously optimized for TBT and TPhT, is based on a solvent acidified by HCl [3, 7]. The nature of the solvent is studied later on in this paper. In this procedure, a preliminary wetting step must be performed with the extracting solution. For that, 0.5 g of sample was placed with 3 to 5 mL of this solution and 50 µL of a 10 mg (Sn) L⁻¹ TPrT solution used as internal standard (IS) into a tube mechanically shaken for 1 hour. Then, 5 to 10 mL of the same solution is added and the mixture is shaken again for 1 hour (final mean volume around 13 mL). Finally, the sample/extracting mixture was centrifuged at 4000 rpm for 10 min.

The second SLE method (called SLE2) used for studying the duration effect is based on the same principle than SLE1, with a 12 hours of shaking duration.

For PSE, the manufacturer's recommendations were first followed: 1 g of sample was mixed with 9 g of quartz sand [27]. The mixture was transferred to an 11-mL extraction cell and 50 μL of a 10 mg L^{-1} TPrT solution was then added. The extraction cell was fitted with solvent and heated within 5 min to the extraction temperature. The pressure and the temperature were 100 bars and 100°C respectively, before any optimization. OTC were then extracted from sample with several 3 min static cycles. Between each static extraction cycle, 2 mL of extracting solvent was renewed. Then, the extract was diluted up to 25 mL in extracting solvent. Finally, the ratio (mass of sample / volume of extracting solution) was taken similar over the two extracting techniques in order to allow comparison.

2.3.3 Derivatization and analysis

2 mL of extract were directly introduced into the derivatization reactor in the presence of a 100 mL sodium acetate - acetic acid buffer (pH = 4.5). Ethylation was carried out using NaBEt_4 (0.5 mL of the 2 % solution). A 0.5-mL volume of isooctane was added and the mixture was shaken at 450 rpm for 30 min. Then, 2 μL of isooctane were directly injected into the GC-PFPD system.

2.3.4 Quantitation

The TPrT relative chromatographic responses of butyl-, phenyl-, tricyclohexyl- and octyltin were first evaluated in plant samples by standard additions. The I.S. procedure was applied to all of the aliquots (i.e. extracts) obtained from the same sample (French beans, lettuces or potatoes) extracted with the same mixture.

2.4. Experimental design

Because of temporal and material constraints, the most reliable optimisation appeared as possible only by using experimental designs. They also lead to obtain complete quantitative information (i.e. evaluation of factors and interaction effects), which is not possible by using

any classical approach. In the present case, it allowed that the best operating conditions as possible for the triorganotin extraction from plant matrices were found. The used experimental designs are based on the concepts described by Goupy [28] and Sado and Sado [29]. The first step of the methodology is to build the experimental design, i.e. determine the experimental field (between -1 and +1) as well as the number and nature of experiments. This design allowed the reduction of the number of experiments. Each experiment can be performed once, except the experiment at the center of the experimental field (noted “0”), which was carried out five times, preventing any bias. The effects of each factor and interaction and their respective precision were evaluated according to least squares constraint [29]. A factor or an interaction was considered as significant if its effect (a), in absolute value, was higher than the precision (δa). The precision was calculated from the standard deviation (s) of the four replicates of the “0” experiment [28, 29].

For the optimisation design, the variance analysis was carried out according to Fisher–Snedecor statistics (in a chosen 95% confidence level) [30], in order to determine the global model significance and detect any possible bias.

3. Results and Discussion

3.1. Preliminary experimental choices

The SLE extraction yields appear highly dependent on the matrix nature. Thus, they are about 100 % for both TBT and TPhT in aquatic plant while only 83 % of TPhT are recovered from potato tubers, without any degradation [3, 7]. In another previous work dedicated to butyl- and phenyltins in sludge, the extraction was studied between 60 min and 20 hours [31]. Important TPhT degradations occurred after 13 hours, while no degradation was noticed for TBT. The optimal duration was found to be about 12 hours. So in order to evaluate the effect of time on OTC extraction (included TcHexT and TOcT) in the present study, it was decided to consider this parameter by using SLE1 (total time: 2 hours) and the alternative SLE2 (total time: 12 hours). In these conditions, the efficiency of the extraction could be enhanced, as previously demonstrated for OTC in sludge or sediment [31, 32].

The number of PSE cycles was previously evaluated by testing between 1 to 5 cycles on various environmental matrices [33]. Three cycles were found to be the best compromise to get satisfactory recoveries for all the four trisubstituted organotins (TBT, TPhT, TOcT and

TcHexT). In the present work, the same number of cycles has been confirmed to give a quantitative triorganotin extraction from plant matrices, in agreement with the literature [18, 34]. So, this parameter was kept constant, using three cycles later on in this work.

3.2. Optimisation

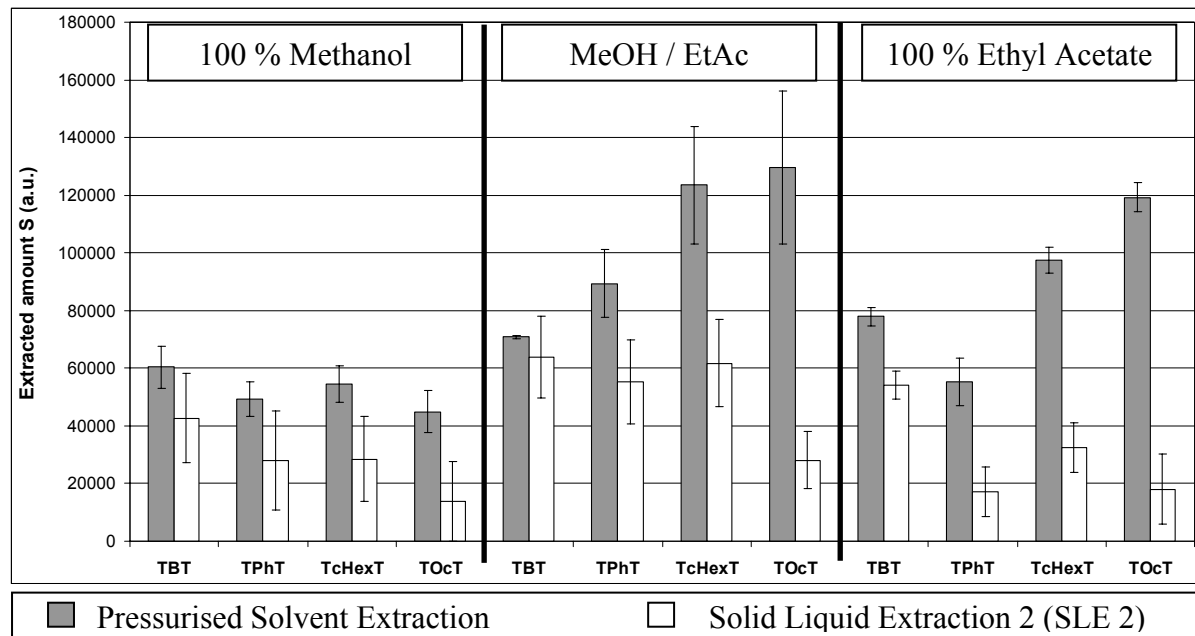
3.2.1 Extracting solvent

In order to compare pressurised extraction with the solid – liquid extraction by simple contact, this study was performed by using both PSE and SLE. Because of the probable influence of the extraction duration, the longest process, SLE2, was considered. The extraction efficiency and respect of the speciation (i.e. species preservation) were the two criteria taken into account. Three extracting solvents (simply called “solvent” later on) were tested: pure methanol, pure ethyl acetate, and a mixture 50% methanol / 50% ethyl acetate. These different solutions were chosen according to our analytical experience concerning OTC extracted from environmental matrices [7, 8]. According to the literature, OTC speciation analysis in animal and plant tissues is always performed by using methanol or ethyl acetate during the extraction step [7]. This choice is based on the capability of this solvent to dissolve organic matter. The experiments were carried out with spiked French bean and potatoe powders as vegetal materials.

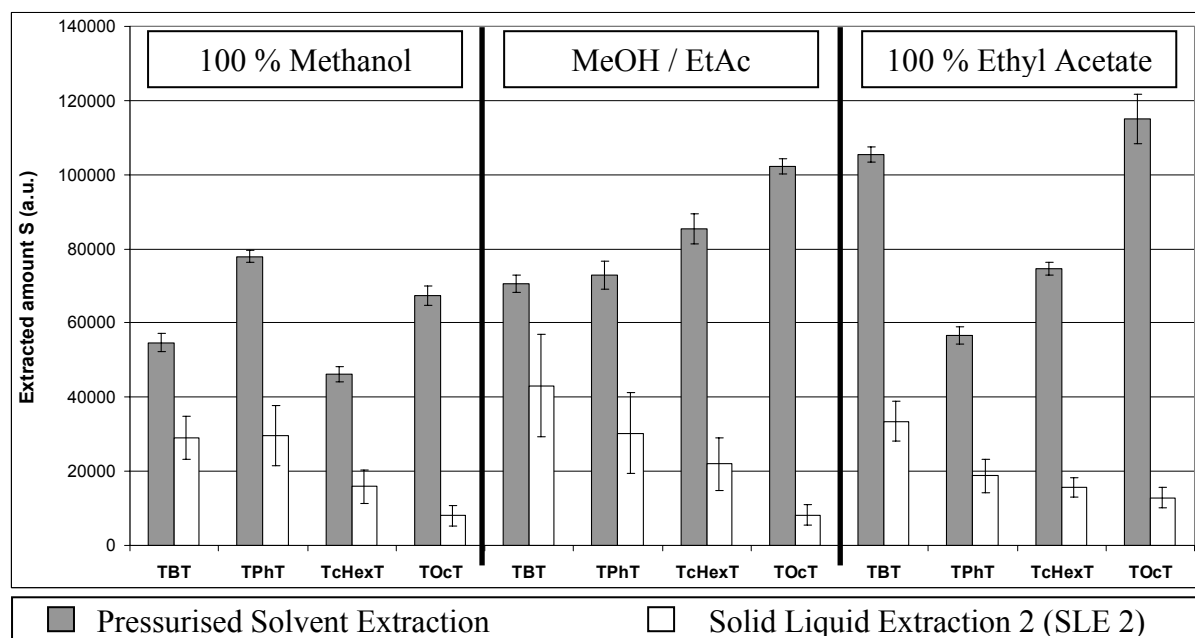
Extraction efficiency. This criterion can be evaluated by using the absolute areas of the organotin chromatographic peaks which depend on the injected analyte amount, directly proportional to the extracted analyte amount [3, 7]. This response was noted S. Extractions were made in triplicates. The results are presented in figures 3.1A and 3.1B. These figures clearly show that PSE is the most efficient procedure. Concerning the extracting solution and whatever the compound or the extraction technique, in most of the cases the mixture methanol / ethyl acetate (50 / 50, v:v) appears more efficient than the pure solvents to quantitatively extract the trisubstituted species. However in case of PSE, similar extracted OTC amounts are obtained by using either ethyl acetate or the solvent mixture, except for TBT contained in potatoes and TPhT in both vegetables.

Figure 3.1: Efficiency of extraction from **French beans (A)** and **potatoes (B)** according to the procedure of extraction (PSE or SLE 2) and the nature of the extracting solutions.

A: French Beans



B: Potatoes



Repeatability. Considering the Relative Standard Deviation (RSD calculated from the standard deviation on figures 3.1A and 3.1B), generally PSE extraction seems significantly more repeatable than SLE2 one: for example for both TBT and TPhT, the repeatability values obtained after respectively PSE and SLE are 8-9 and 30-32 %.. This is particularly significant when the potato sample is considered. For this vegetable matrix, the nature of the extracting solution has no effect on repeatability. For French beans, the results are more complex and different according to the extraction process: in SLE, the repeatability increases as the quantity, which is not the case in PSE. More generally, the poor influence of the solvent nature on PSE repeatability could be due to the fact that in this process, the temperature and the pressure are widely more influential than solvent nature because the high values used change the thermodynamic conditions. On the contrary, in SLE, the physico-chemical properties of the solvent are more influential because extraction is obtained by simple contact between the solvent and a solid matrix [7]. A particular attention was given to the comparison between SLE1 and SLE2. By using the first extraction process, the repeatability was found around 10 – 15 % for both TBT and TPhT. With SLE2, the RSD were increased up to 30 %. From these first results, it seems that a too long extraction duration leads to reduce the repeatability, by inducing some degradations or involving uncontrolled parameters such as room temperature or stirring regularity.

Species preservation. It was evaluated by using a qualitative index, I_C , defined as:

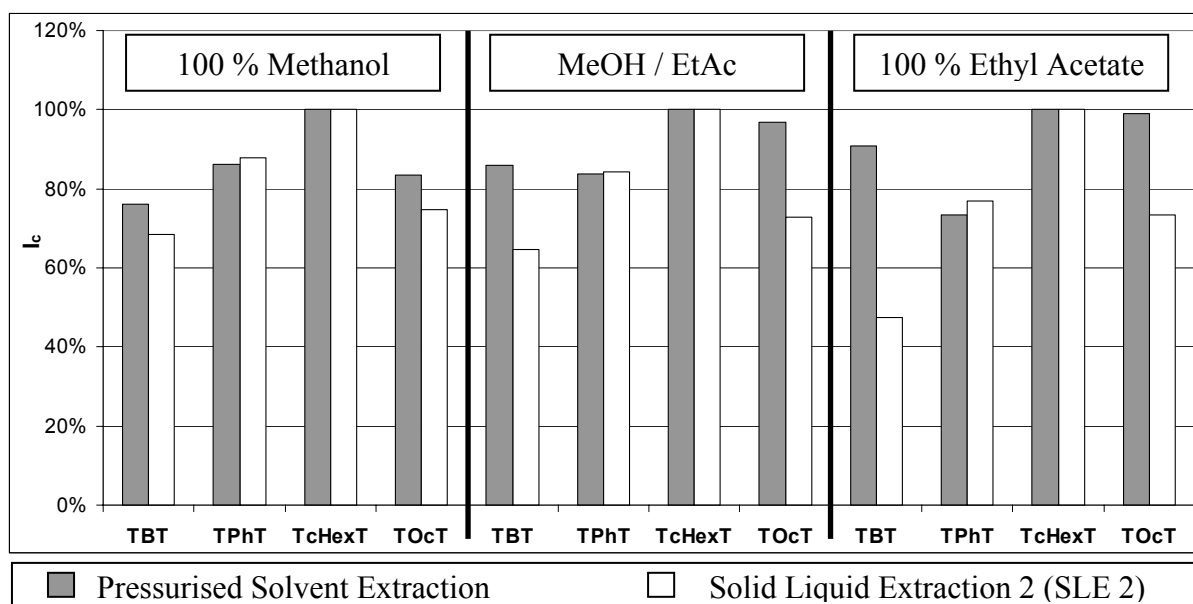
$$I_C = \frac{S_{TOTCX}}{\sum_{i=1}^3 S_{OTCX}} * 100$$

with S_{TOTCX} : peak area of trisubstituted OTC “X” and S_{OTCX} : peak area of OTC “X”, mono-, di- or tri- substituted. When $I_C = 100$, there is a total preservation of the trisubstituted OTC; when $I_C = 0$, a complete degradation occur. The results obtained are presented in Figures 3.2A and 3.2B. It can be observed that generally, PSE leads to less degradations than SLE2 (I_C over 70 % except for TPhT), while solvent nature appears often to be slightly influential. Concerning more especially SLE, it was confirmed that significant degradations could occur according to the extraction duration. For French beans for example, for 2 hours extraction, no OTC decomposition were found while after 12 hours the index of preservation (I_C) was found to be over 50 - 90 %, except for TcHexT (Figure 3.2B). However, PSE and SLE 1 lead to similar results with slight or no degradation as previously noticed for mammal tissues or plant [7, 21].

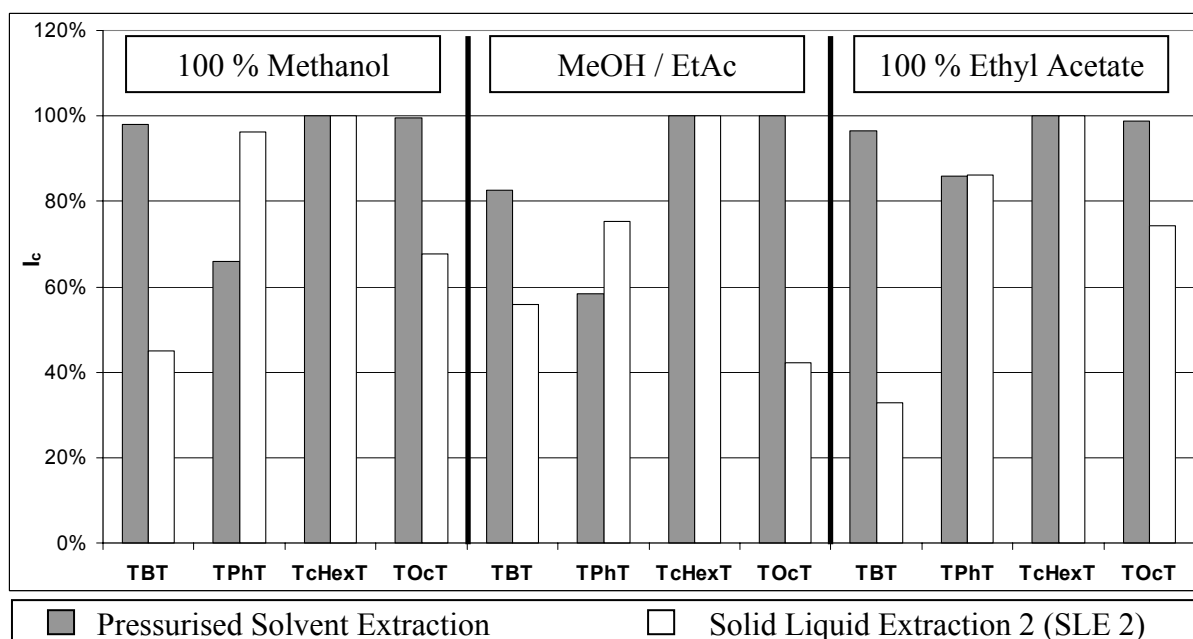
Despite the PSE-based process appears as an interesting alternative extraction technique for vegetal matrix analysis, it had to be improved with regards to the results concerning TBT and TPhT recoveries.

Figure 3.2: Organotin preservation (evaluated by the qualitative index I_c) after extraction from **French beans (A)** and **potatoes (B)** according to the procedure of extraction (PSE or SLE 2) and the nature of the extracting solutions.

A: French Beans



B: Potatoes



3.2.2 Optimisation

3.2.2.1. Experimental Design

According to the previous results, optimizing the PSE procedure appears necessary. Considering the preliminary results, the methanol / ethyl acetate was chosen as the extracting solution and used later on.

With regards to poor repeatability and more important degradations observed for OTC extraction from French bean, the PSE optimisation was performed by using this material. Efficiency (i.e. extracted analyte amount, S) and preservation (evaluated by I_C) were both considered again as the two responses to optimize. The temperature (T) and the pressure (P) of extraction were taken as factors in an initial 2^2 complete design including 5 experiments (4 ones for the initial design + one "0"). The definition of the initial experimental field is presented in Table 3.1 (grey part).

Table 3.1. Experimental field

	$-\alpha$	-1	0	+1	$+\alpha$
Temperature (°C)	72	80	100	120	128
Pressure (bars)	72	80	100	120	128

$\alpha = N^{1/4} = 1.414$

The design performing led to individual experimental responses obtained for each of the four trisubstituted compounds. For S responses, the comparison showed that they vary in the same way whatever the compound considered. So, in order to simplify the calculations and obtain a compromise result, a single response was defined according to:

$$S = S_{TBT} + S_{TPHT} + S_{TcHexT} + S_{TocT}$$

For the I_C responses, as expected with regards to the preliminary study, each triorganotin gave a specific result. So, it was decided to consider each of the four I_C responses individually later on in the optimisation part.

3.2.2.2. Influential factors, modelling and validation

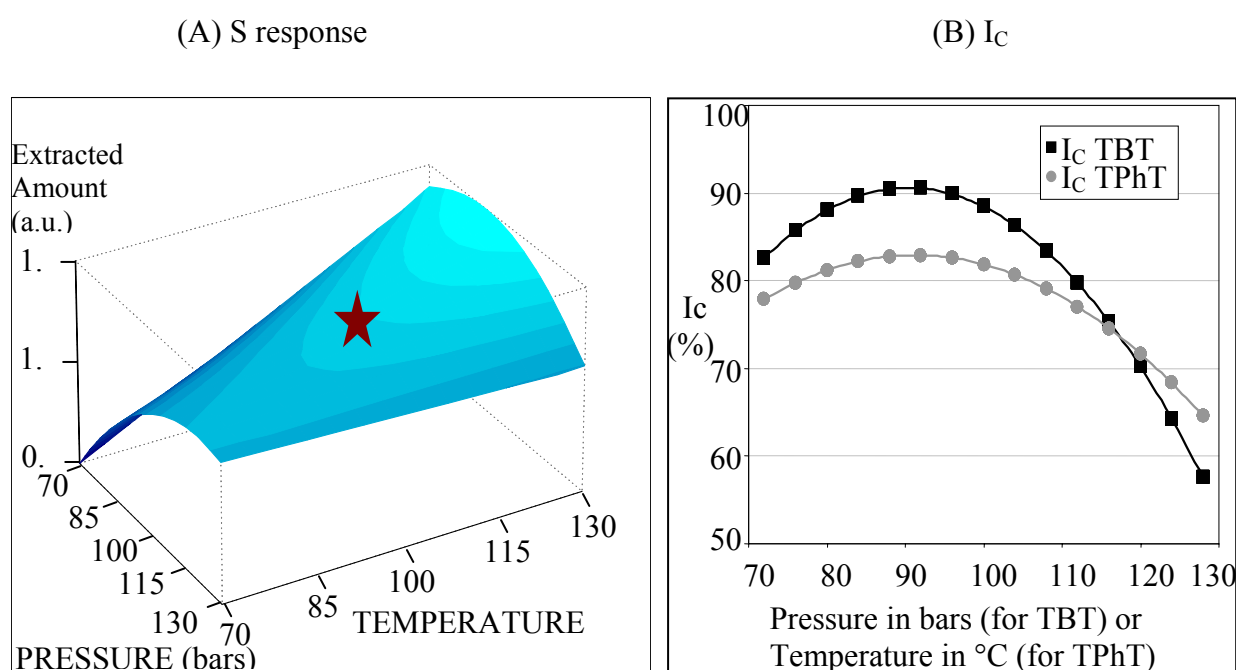
Extraction efficiency. The experimental design shows that both temperature and pressure have respectively positive and negative influences on the quantitativity response. Considering

the value obtained at the centre of the experimental field (“0”) it appears that the variations of the extracted amount S can not be fitted linearly. Four complementary experiments were then performed in order to model the curvature conveniently (Table 3.1, white part). The complete set of results obtained is presented in Table 3.2. The proposed model for S response (in bold characters in Table 3.2) could be validated (last 3 lines in Table 3.2). Then, the response curve, $S = f(P,T)$ was plotted and presented in Figure 3.3A.

Table 3.2. Calculation of the effects and validation of the models (I_C response and S response)

	Assignment	I_C response		S response
		TBT Response	TPhT Response	
Coefficients of the model	Mean	+ 0.9 ± 0.1	+ 0.8 ± 0.1	+ 1.30 ± 0.10
	T	+ 0.00 ± 0.03	- 0.05 ± 0.04	+ 0.12 ± 0.05
	P	- 0.09 ± 0.03	- 0.00 ± 0.05	- 0.06 ± 0.05
	TP	+ 0.00 ± 0.05	- 0.00 ± 0.06	+ 0.20 ± 0.06
	T ²	+ 0.01 ± 0.06	- 0.05 ± 0.03	- 0.05 ± 0.08
	P ²	- 0.09 ± 0.06	+ 0.02 ± 0.03	- 0.10 ± 0.08
Validation	Global Signification (F_{obs})	172	393	1170
	Coefficient of determination (R^2)	0.924	0.889	0.993
	Bias (F_{obs})	1.323	1.653	1.125

Figure 3.3: Curves of (A) S response and (B) I_C response obtained after PSE optimisation on French beans.



These results confirm the significant effects of both temperature and pressure which influence the process very differently. The temperature appears to have a positive influence. The pressure is positively influential until about 100 bars and no or slightly negatively influential over this value, depending especially on the value of the temperature.

The important observed effect of the interaction between pressure and temperature could come from the physico-chemical properties of the used solvent mixture (and especially the low boiling points: 65°C for methanol and 77°C for ethyl acetate) on which the PSE principle is based. As a consequence of the probable importance of solvent mixture properties, the temperature remains positively influential since the pressure is not too high (less than 90 – 100 bars) allowing to be far above the boiling point and keep a satisfactory contact between extracting solution and analyte containing solid matrix. Over 100 bars, it is probable that the pressure becomes too high for insuring an efficient liquid – solid exchange. The important quantitativity decrease could be also explained by some significant trisubstituted degradations.

Species preservation. During all the experiments performed in this study, organotin degradations were observed, depending on the experimental conditions. It was evaluated by using the same set of experiments previously involved for quantitativity evaluation.

According to the preliminary study, degradation was mainly observed for TBT and TPhT, while total preservation was obtained for the two other triorganotins. This is why, only the responses concerning TBT and TPhT are presented, in Table 3.2. (effects of the factors and their interaction). On the basis of influential factors, polynomial models were proposed, validated (last three lines of Table 3.2) and plotted in Figure 3.3B.

With regards to Table 3.2, only one factor was found as significant for each species: pressure for TBT and temperature for TPhT. Considering TPhT, this result could be expected since it is now well known that this compound is thermolabile, even at relatively low temperature and atmospheric pressure [4]. In the present case, and under high pressure (higher than 70 bars in all the experimental field), a significant TPhT degradation appears but only over 100°C, as it can be seen on Figure 3.3B. The applied pressure allows the temperature from which the TPhT is degraded to be significantly higher than this one observed at atmospheric pressure (about 40°C).

For TBT, a pressure higher than 100 bars induces significant degradations. This value corresponds to the negative pressure effect observed on quantitativity response (Figure 3.3A).

For both species inside the experimental field considered, the maximum qualitative index, I_C , is about 83 and 91 % for TPhT and TBT respectively. Considering the previous work on SLE optimization, Simon (2002) found that TBT extracted from algae was slightly degraded at room temperature. From the same sample, TPhT was preserved in order to have I_C between 45 and 100 %, depending on the experimental conditions of the extraction [7]. So, and even if some degradations occur, PSE appears as interesting compared to SLE, with regards to a qualitative aspect. In this way, the precise adjustment of the operating conditions is especially important, limiting the risks of bias or uncontrolled effect which can occur for example when room temperature varies.

3.2.2.3. *Determination of optimized conditions*

They were defined from the models using a home-made optimization software previously validated [30, 33-34]. The operating conditions were chosen as the best compromise to obtain satisfactory efficiency and preservation. The resulting choice corresponds to a pressure of 90 bars and a temperature of 90 °C (see the star on Figure 3.3). These conditions lead to extract 100 % of TcHexT and TOcT. For TBT and TPhT, I_C is respectively equal or over 90 % and 80 %.

3.3. Analytical performances and applications

In order to evaluate the potential of PSE and analytically validate the optimization, the performances were determined and several vegetable samples (spiked or naturally contaminated French beans, potatoes and lettuces) analysed.

French beans and potatoes powders were spiked with the four triorganotin compounds (TBT, TPhT, TcHexT and TOcT). The PSE and SLE 1 and 2 analytical performances obtained are presented in Table 3.3 for all materials (parts A and B). The sensitivities calculated from PSE-based process are generally lower than those obtained after SLE. The difference is especially important for TBT (20 times lower at least). This observation is not due to a less quantitative extraction efficiency as can be showed in figure 3.1, but probably to the co-extraction of a lot of organic compounds present in the matrix. Consequently, it leads to a decrease of the photometric signal as it was previously demonstrated [35]. Thus, the limits of detection (LOD) and quantification (LOQ) remain higher when PSE is used, especially for TBT and

TPhT. Unlike sensitivity, LOD and LOQ, the repeatability appears to be in the same order of magnitude and satisfactory according to the concentration level, for both processes.

Table 3.4 presents the OTC concentrations of the French bean and potato analyses after PSE extraction. These values correlate satisfactory, except for TPhT. For this compound, the results are in accordance to the low recovery previously noticed (see Table 3.3). This result could be due to some degradations, as previously observed for TPhT extracted from sea mammals [21]. In the present case MPhT and DPhT, are only present in slight concentrations. It is also possible that degradation to mineral tin occurred during either spiking procedure or extraction. However no significant mineral tin was detected. So, the hypothesis relative to more important degradations seems unlikely. The chlorophyll present in French beans might also disturb the extraction step as previously observed [7]. The TPhT could be simply less extracted. This hypothesis seems the most probable since a re-extraction by using SLE1 after PSE did not allow to obtain significant amounts of phenyltins despite about 100% SLE1 TPhT recovery. Nevertheless, TPhT extraction from potatoes reaches 86 % showing how the nature of matrix is important in the efficiency of the extraction. Concerning TBT, similar recoveries close to 100 % were assessed in the different studies referring to the different environmental matrices [22, 25]. In this present work, total recoveries are obtained for the trisubstituted species, TBT, TOcT and TcHexT.

Two natural contaminated lettuce samples (by TBT and TPhT) were analyzed as another application. Organotin concentrations found in leaves of lettuce after extraction by both procedures are reported in table 3.5. It appears that PSE extracts more quantitatively the butyltin compounds than SLE1. Limits of detection reached for PSE for the butyltin compounds are comparable to these reached by SLE1 (see Table 3.3.C) even if the sensitivity after SLE1 is almost 50 times higher than PSE one. Unlike for TBT, the phenyltin compounds can be highlighted only after SLE1. However the values of concentration remain below the LOQ. By using PSE-based process, no phenyltin compound was detected because the concentrations were below the LOD. No octyl- or tricyclohexyltin were detected in both lettuces analyzed after either PSE or SLE. Although only butyltins could be determined in this sample, the very low concentrations measured show the high potential of these procedures.

Table 3.3. Analytical performances

A: French beans analysis

	TBT			TPhT			TcHexT			TOcT		
	PSE	SLE 1	SLE 2	PSE	SLE 1	SLE 2	PSE	SLE 1	SLE 2	PSE	SLE 1	SLE 2
Sensitivity	171 ± 8	4286 ± 126	1818 ± 36	292 ± 40	1910 ± 98	682 ± 27	110 ± 5	574 ± 33	296 ± 12	140 ± 17	333 ± 24	141 ± 17
LOD (ng(Sn) g⁻¹)	1.2	0.1 (4)*	0.15	0.8	0.1 (5)*	0.2	1.4	0.5	0.7	1.5	0.7	0.9
LOQ (ng(Sn) g⁻¹)	4.0	0.4 (12)*	0.5	2.7	0.4 (15)*	0.6	4.6	1.4	2.4	5.1	2.1	2.9
Precision (%) (n=10)	4	3	19	12	5	33	20	12	28	28	10	30
Recoveries (%)[†]	99	100*	65	50	100*	55	96	61	63	98	58	29

*data from Simon *et al.* (2002)[6]

B: Potatoe analysis

	TBT			TPhT			TcHexT			TOcT		
	PSE	SLE 1	SLE 2	PSE	SLE 1	SLE 2	PSE	SLE 1	SLE 2	PSE	SLE 1	SLE 2
Sensitivity	23 ± 1	18 ± 2	288 ± 35	23 ± 1	19 ± 1	320 ± 35	16 ± 1	15 ± 1	240 ± 12	9 ± 1	23 ± 1	171 ± 13
LOD (ng(Sn) g⁻¹)	1.1	0.9	0.2	0.9	1.0	0.3	1.1	0.9	0.3	2.3	1.0	0.5
LOQ (ng(Sn) g⁻¹)	3.8	2.9	0.6	2.9	3.0	1.1	3.5	2.6	1.0	7.7	3.0	1.5
Precision (%) (n=10)	11	11	16	18	8	29	24	10	18	19	11	62
Recoveries (%)[†]	100	97	87	86	57	66	94	65	96	100	97	93

[†] evaluated from a 100 ng(Sn) g⁻¹ sample

C: Lettuce analysis

	TBT		TPhT		TcHexT		TOcT	
	PSE	SLE 1	PSE	SLE 1	PSE	SLE 1	PSE	SLE 1
Sensitivity	30 ± 1	1452 ± 59	22 ± 3	1212 ± 78	16 ± 1	237 ± 54	10 ± 3	254 ± 31
LOD (ng(Sn) g⁻¹)	0.2	0.1	1.3	0.1	1.0	0.4	1.8	0.6
LOQ (ng(Sn) g⁻¹)	0.5	0.4	4.3	0.4	3.3	1.2	6.1	1.8
Precision (%)	3	4	12	6	7	23	26	12

Table 3.4. Analysis of trisubstituted organotins in spiked French beans and potatoes after PSE (Concentrations in ng(Sn) g⁻¹).

	MBT	DBT	TBT	MPhT	DPhT	TPhT	TcHexT	MOcT	DOcT	TOcT
Spiked	-	-	100±10	-	-	100±10	100±10	-	-	100±10
French beans	3±1	3±1	99±7	5±1	1±1	50±5	96±6	-	4±1	98±4
Potatoes	2±1	3±1	104±4	3±1	4±2	86±3	94±5	2±1	6±2	101±3

Table 3.5. Analysis of contaminated lettuce (Concentrations in ng(Sn) g⁻¹) (RSD in %)

		MBT	DBT	TBT	MPhT	DPhT	TPhT
Lettuce A	SLE 1 values	0.4±0.1 (23%)	<LOQ	0.94±0.04 (4%)	<LOQ	<LOQ	<LOQ
	PSE values	1.0±0.2 (19%)	0.6±0.4 (63%)	1.3±0.2 (15%)	<LOD	<LOD	<LOD
Lettuce B	SLE 1 values	0.5±0.4 (76%)	<LOD	0.8±0.1 (12%)	<LOQ	<LOQ	<LOQ
	PSE values	0.7±0.1 (14%)	0.3±0.2 (65%)	0.9±0.1 (11%)	<LOD	<LOD	<LOD

4. Conclusion

The comparison between PSE and SLE allowed the highest efficiency of PSE to be evidenced, in terms of quantitativity. The preliminary study about various extracting solutions showed the mixture methanol/ ethyl acetate gives the highest PSE extraction yields for the whole studied OTC.

After the PSE optimisation by experimental designs and considering all these applications, satisfactory recoveries and suitable species preservation were obtained except for the TPhT in green vegetables (French beans and lettuces). For this compound, the extraction by PSE from such samples seems to be less powerful in terms of recovery and sensitivities especially. On the contrary, when TPhT and TcHexT are extracted by PSE from potatoes, the extraction yields are significantly improved compared to SLE1 ones. In this plant material, OTC extraction leads to obtain similar sensitivities after PSE or SLE1. Concerning TBT, whatever the extraction procedure (PSE and SLE1) quite close extraction yields (about 100 %) are obtained.

The PSE process offers convenient repeatability. It is shown to be sufficiently reliable for organotin extraction from plant sample with regard to matrix complexity. Even if PSE limits of detection are generally 2 to 10 times higher than SLE ones, they appear sufficient to reach the level of contamination usually found in such samples [3, 7]. The sub ng (Sn) g⁻¹ concentrations determined in lettuces confirm the capabilities of this technique. These results enhance the competitiveness of the rapid PSE-based analytical process in comparison with the classical SLE procedures which still remain the most widely used today. Finally, PSE appears to be a suitable process for assessing triorganotin vegetable contamination and insuring foodstuff safety.

5. Acknowledgments

The authors would like to express their thanks to the French Agency of Environment (ADEME) and the regional council of Aquitaine for their financial support.

6. References

- [1] M. Hoch (2001) *Appl. Geochem.* 16: 719.
- [2] K. Fent (1996) *Critical Reviews in Toxicology* 26 (1): 1.
- [3] G. Lespes, C. Marcic, I. Le Hecho, M. Mench, M. Potin-Gautier (2003) *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry* ISSN: 1579-4377.
- [4] K. Kannan, R.F. Lee (1996) *Environmental Toxicology and Chemistry* 15 (9): 1492.
- [5] G. Lespes, M. Potin-Gautier (2001) *L'eau, l'industrie, les nuisances* 239: 24.
- [6] Commission des Communautés Européennes (2001) COM(2001) 262 Final, Bruxelles, Belgique.
- [7] S. Simon, M. Bueno, G. Lespes, M. Mench, M. Potin-Gautier (2002) *Talanta* 57: 31.
- [8] C. Carlier-Pinasseau, A. Astruc, G. Lespes, M. Astruc (1996) *J. Chromatogr. A* 750: 317.
- [9] C. Bancon-Montigny, G. Lespes, M. Potin-Gautier (2000) *J. Chromatogr. A* 896: 149.
- [10] P.W. Looser, M. Berg, K. Fent, J. Mühlemann, R.P. Schwarzenbach (2000) *Anal. Chem.* 72: 5136.
- [11] Y. Chau, F. Yang, M. Brown (1997) *Analytica Chimica Acta* 338: 51.
- [12] K. Fent, J. Hunn, D. Renggli, H. Siegrist (1991) *Mar. Environ. Res.* 32: 223.
- [13] F. Pannier, A. Astruc, M. Astruc (1994) *Analytica Chimica Acta* 287: 17.
- [14] S. Aguerre, G. Lespes, M. Potin-Gautier (2003) *J. Chromatogr. A* 999: 61.
- [15] J. Szpunar, M. Ceulemans, V.O. Schmitt, F.C. Adams, R. Lobinski (1996) *Analytica Chimica Acta* 332: 225.
- [16] J. Carpinterio Botana, I. Rodriguez Pereiro, R. Cela Torrijos (2002) *J. Chromatogr. A* 963: 195.
- [17] K. Li, M. Landriault, M. Fingas, M. Llompart (2003) *Journal of Hazardous Materials* 102: 93.

- [18] C.G. Arnold, M. Berg, S.R. Müller, U. Dommann, R. Schwarzenbach (1998) *Anal. Chem* 70: 3094
- [19] B.E. Richter, B.A. Jones, J.L. Ezzell, N.L. Porter, N. Avdalovic, C.Pohl (1996) *Anal. Chem* 68: 1033
- [20] H. Giergielewicz-Mozajska, L. Dabrowski, J. Namiesnik (2001) *Critical Reviews in Analytical Chemistry* 31(3): 149
- [21] A. Wasik, T. Ciesielski (2004) *Analytical Bioanalytical Chemistry* 378 (5): 1357.
- [22] H. Preud'homme, M. Potin-Gautier (2003) *Analytical Chemistry* : (Washington, DC) 75 (22): 6109.
- [23] E. Conte, R. Milani, G. Morali, F. Abballe (1997) *J. Chromatogr. A* 765: 121.
- [24] S. Chiron, S. Roy, R. Cottier, R. Jeannot (2000) *J. Chromatogr. A* 879: 137.
- [25] P.A. Gallagher, J.A. Shoemaker, X. Wei, C.A. Brockhoff-Schwegel, J.T. Creed (2001) *Fresenius J. Anal. Chem.* 369: 71.
- [26] J.R. Encinar, P. Rodriguez-Gonzales, J.R. Fernandez, J.I. Garcia-Alonso, S. Diez, J.M. Bayona, A. Sanz-Medel (2002) *Anal. Chem.* 74: 5237.
- [27] Dionex Corporation, ASE 200, Sunnyvale, CA, (1999) LPN 0639-03 15M 3/99
- [28] J. Goupy (1999) *Plans d'Expériences pour Surfaces de Réponse*, Dunod, Paris.
- [29] G Sado, M.C. Sado (1991) *Les plans d'expériences*, Afnor Technique, Paris.
- [30] G. Lespes, M. Potin-Gautier (1998) *Analisis* 26.
- [31] C. Bancon-Montigny, G. Lespes, M. Potin-Gautier (1999) *Analyst* 124: 1265.
- [32] C. Bancon-Montigny, G. Lespes, M. Potin-Gautier (2004) *Wat. Res.* 38: 933.
- [33] M. Le Gac (2003) PhD Thesis, Université de Pau et des Pays de l'Adour, France.
- [34] Dionex Corporation, Application Note 339, Sunnyvale, CA, (2001) LPN 1184 3.5M 3/01
- [35] C. Montigny, G. Lespes, M. Potin-Gautier (1998) *J. Chromatogr. A* 819: 221.

CHAPITRE 4

**DEVENIR DES ORGANOÉTAINS
DANS UN SOL CULTIVÉ
AMENDÉ PAR UNE BOUE DE
STATION D'ÉPURATION**

Ce chapitre regroupe l'ensemble des résultats concernant la boue et le mélange boue / sol. Afin de comprendre le devenir des contaminants dans ces milieux, plusieurs expériences ont été mises en œuvre.

Dans un premier temps, nous nous sommes intéressés au comportement des organoétains dans la boue de station d'épuration. En effet, peu, voire aucun résultat n'était disponible sur le sujet dans la littérature. Des expériences de sorption du TBT sur la boue ont été entreprises. Les informations ainsi obtenues ont permis une première approche des mécanismes de sorption du TBT sur la boue de station d'épuration. De plus, un contrôle de la spéciation a été réalisé pour chaque expérience et a permis de montrer qu'aucune dégradation significative des organoétains n'est apparue au cours du temps.

Deux types d'expériences de sorption ont été réalisés selon un protocole faisant appel à des réacteurs fermés de types batchs :

- des expériences de cinétique qui ont permis d'évaluer le temps d'équilibre de sorption du TBT sur la boue. La modélisation des données expérimentales, a été réalisée via des lois cinétiques utilisées dans les milieux homogènes et des lois modifiées adaptées aux équilibres hétérogènes. Il en résulte que la boue possède une très grande affinité pour le TBT et le TPhT. Le temps d'équilibre nécessaire pour leur sorption est de 24 heures. La cinétique de sorption du TBT a pu être modélisée par une loi du 1^{er} ordre et une loi du pseudo 2nd ordre.
- des expériences faisant varier le pH ou les concentrations, appelées isothermes de sorption. Nous avons ainsi pu déterminer le pH de sorption maximum, proche de 7. Nous avons également mis en évidence la très grande capacité de rétention de la boue, à l'aide des modélisations empiriques de Langmuir et de Freundlich. Nous en avons conclu que la sorption du TBT sur la boue intervenait sur différents sites présents dans la boue.

Nous avons ensuite focalisé notre étude sur la dégradation des organoétains apportés par amendement d'une boue dopée dans le système sol / boue. En accord avec l'étude bibliographique, les paramètres étudiés ont été les concentrations du TBT et du TPhT dans le sol, la quantité de boue apportée et le pH du système. Ce travail a été réalisé via des plans

d'expériences afin de contrôler parfaitement l'expérimentation (fiabilité optimale) et d'étudier l'influence potentielle des concentrations en OTC, de la boue et du pH. Ces expériences ont été mise en place à l'INRA de Bordeaux, soit en chambre climatique, soit en serre.

Dans nos conditions expérimentales, on remarque que le TPhT dans le sol apparaît largement plus dégradé que le TBT. De plus, pour des expériences ayant reçu plus d'énergie (paramètre « degré jour de croissance » important), la dégradation est plus importante que pour les autres expériences. Ceci renforce l'hypothèse que la dégradation est essentiellement liée aux microorganismes. En ce qui concerne la quantité de boue, elle n'a pas d'influence directe sur la préservation des OTC étudiés dans ce système. Par contre la sorption du TBT et du TPhT sur la boue a une influence sur leur préservation. Ainsi, les tests de lixiviation réalisés sur le TBT montrent que ce composé est peu et/ou difficilement transféré vers la phase aqueuse, donc probablement moins biodisponible vis-à-vis des microorganismes susceptibles de le dégrader. Au final, le TBT apparaît peu dégradé dans le sol (inférieur à 20% en moyenne). Le TPhT apparaît, au contraire, plus facilement transféré vers la phase aqueuse, donc plus biodisponible que le TBT. Ceci expliquerait les taux de dégradation importants observés pour le TPhT (généralement supérieur à 60% en moyenne).

Article A:**Kinetics of tributyltin (TBT) sorption at trace levels on a natural sewage sludge**

Christophe MARCIC, Isabelle LE HECHO*, Gaëtane LESPES

Laboratoire de Chimie Analytique Bio-Inorganique et Environnement - UMR 5034 – CURS - Avenue de l'Université, F-64013 PAU cedex, France. (*Corresponding author: isabelle.lehecho@univ-pau.fr)

Article soumis dans *Environmental Science & Technology*, le 26 septembre 2005.

Abstract

Today, the contamination of sewage sludge by organotin compounds (OTC) is attested. Considering the high toxicity of the trisubstituted ones particularly, the knowledge of their fate into the soils is fundamental for agricultural production. Only few studies reported the sludge contamination and it appears that OTC can sorb on sludge particles. The present work focuses on the retention capacity of a sludge taken in a rural treatment plant. Kinetic and sorption experiments were performed in batch reactors at ambient temperature with a background electrolyte. Kinetic experiments of tributyltin (TBT) sorption highlighted an equilibrium sorption rapidly reached, after 24 hours. First-order and pseudo-second-order models fit the experimental data satisfactorily. Sorption equilibrium constant and kinetic rate constant were calculated and their statistical signification evaluated. The sludge shows a very high retention capacity for TBT, with a site surface capacity of $73 \mu\text{g}(\text{Sn}) \text{g}^{-1}$. The sorption isotherm can be modelled by both Langmuir and Freundlich equations. Finally, TBT sorption on sludge can be assumed as a complex process involving mainly hydrophobic interactions and ion exchange on minor phases such as sand.

Keywords: Tributyltin, sorption, sludge, kinetics, speciation

1. Introduction

Organotin compounds (OTC) are widely present in the environment because of their extensive use. The tributyltin (TBT) is found in domestic products because of its biocide and fungal properties (1). OTC can be found in waste water and are concentrated in sewage sludge after treatment in treatment plant (2). They are toxic to a wide variety of aerobic organisms at levels present in polluted environments and thus may induce ecological and safety problems. It is of high interest to understand how TBT behaves when arriving in contact with sludge. Unfortunately, the knowledge of the phenomena involved in such systems is still very limited. Relatively few investigations have examined the solid-solution partitioning behaviour of TBT and only sediments and synthetic soils were studied (3, 4). No survey refers to sewage sludge. The systematic sludge contamination by OTC was revealed by several studies in Switzerland, Germany, Canada and France. The range of OTC concentration in sludge can varies from 0.005 to 10 mg (Sn) kg⁻¹, depending on the place of sampling (5-9). All TBT sorption studies were made on solids such as sediment, quartz or clay (4, 5, 10, 11). In these studies, the levels of OTC concentration were often in the upper limit of the contaminated range of concentrations (0.005 to 10 mg (Sn) kg⁻¹) that is far above the level found generally in these environmental media.

Phenomena at the solid-liquid interface are extremely important (especially the sorption) by affecting the mobility, bioavailability and fate of OTC in soils and associated environments. The sorption studies of TBT has been mainly linked to environmental factors such as pH, salinity, organic matter contents, solid nature and TBT concentration (12-24). The pH appears as a major factor governing TBT sorption because it affects the chemical forms of the TBT species in the aqueous phase as well as the surface properties of the solid phase (11).

The complexity of the environment (natural solids) makes the interpretation of sorption behaviour difficult. Different sorption mechanisms were described on quartz sand. Thus, Behra et al. (2003) proposed a TBT sorption occurring as an homovalent 1:1 cation exchange between either H⁺ or Na⁺ and TBT⁺, for low TBT concentration (<40 μM) (4). For higher concentrations (> 100μM), after one monolayer was formed, the TBT sorption could be due to hydrophobic interaction between the butyl chains of the sorbed TBT and those of the TBT still available in the bulk solution. The mechanisms the most often cited are pH-dependent.

The maximum TBT adsorption corresponds to a pH range of 6 to 7, corresponding to the pK_a of TBT (6.23). For $pH < pK_a$, the sorption behaviour of TBT is led by electrostatic interactions. Thus a cation exchange process occurs. For $pH > pK_a$, hydrophobic forces govern the TBT sorption that is generally linked to the organic matter (3, 4, 10, 12, 14, 24).

Some authors observed that the sorptive capacity of the sediment for TBT was poorly or negatively correlated with the organic carbon content (25, 26). Others affirm that the sediment organic content and particle size distribution are important factors of sorption behaviour (3, 11, 19).

Empirical models have been used to explain TBT partitioning between solid and aqueous phases. Linear isotherm is often assumed to fit the best all the experimental points (12, 14-17, 19, 21, 23, 27). The published distribution coefficients, noted as K_D , of TBT onto natural surfaces, are ranged between 10 and 10^6 L kg^{-1} (11, 19, 28). This dispersion of K_D values is the consequence of the wide variety of the surfaces studied and numerous environmental parameters influencing the TBT sorption (3, 11). However other authors reported that Langmuir-type relations can successfully describe TBT sorption isotherm on quartz material (13).

Very few kinetic studies were achieved on the OTC sorption into natural media. A study about MBT shows that it is sorbed to clay minerals through two steps: a fast initial adsorption followed by a slower one. The best fit was obtained considering the adsorption process occurs in two successive first-order steps (23). Watanabe et al. (1997) found for sediments, a first order kinetics and a TBT desorption rate of $1.4 \cdot 10^{-2} \text{ min}^{-1}$ (16). Compared to the first-order kinetic desorption of DBT ($2.5 \cdot 10^{-3} \text{ min}^{-1}$), the TBT one is faster.

However, no study describing sludge behaviour out of regard to OTC was done whereas this media is proved to be quasi-systematically contaminated by OTC and represents a potential sanitary risk. Moreover, the available data are always given for high concentration levels. So, in this work, we evaluate and propose a modeling of the kinetic sorption of TBT on “natural” sewage sludge containing high amount of organic matter. The effect of important factors such as pH and TBT concentration on sorption was assessed. The predominant sorption mechanisms involved are discussed. All these experiments were performed with the control of the integrity of the OTC speciation.

2. Materials and methods

2.1. Sludge sample and characterization

A sewage sludge sample was collected in a rural sewage treatment plant (5000 equivalent inhabitants) near Pau in the South Aquitaine, France, after a dehydration treatment of the raw sludge. The sludge was transported to the laboratory in the dark and then stored at 4°C until use. Its analyse showed no OTC contamination (Table 1). The gravimetric water content was determined by oven drying at 105°C until constant mass.

Table 1: Physicochemical properties of the sewage sludge used in this study

Granulometry	(g kg⁻¹)
Clays	629
Silts	356
Sands	15
Carbon Content	(g kg⁻¹)
Organic Carbon	361
Inorganic Carbon	263
pH _{water}	7.17
CEC (cmol.Kg ⁻¹)	67.4
Dry matter	16 %
Organic tin (mg kg ⁻¹)	0
Mineral tin (mg kg ⁻¹)	8.8

2.2. Reagents

All the chemicals used were of the highest purity available. Hydrochloric (36-38 %), nitric (65 % and 69.0-70.0 %) and ethanoic (99-100 %) acids, sodium acetate (99 %), methanol (99,8 %), sodium hydroxide (99.99 %), sodium nitrite (99.99 %) were purchased from Atlantic Labo (Eysines, France). Isooctane was obtained from Fluka Chemie GmbH (Buchs, Switzerland).

Sodium tetraethylborate (NaBEt_4 , min 98 %) was obtained from Galab (Geesthacht, Deutschland). The working solution was made daily by dissolving 0.02 g in 1 mL of Milli-Q water and then stored at $+4^\circ\text{C}$ in the dark. Glassware was rinsed with Milli-Q water, decontaminated for 3 days in 10% (v/v) nitric acid solution and then rinsed again three times with Milli-Q water.

Monobutyltin (MBT, 95%), dibutyltin (DBT, 97%), tributyltin (TBT, 96%) were purchased under chloride form, from Aldrich (Milwaukee, WI, USA). Tripropyltin chloride (TPrT, 98%) was obtained from Strem Chemicals (Bischoffheim, France).

The organotin stock solutions containing 1000 mg L^{-1} as tin were prepared in methanol. Working standards were obtained by dilution in methanol weekly for solution of 10 mg L^{-1} and daily in methanol for $100 \mu\text{g L}^{-1}$. They were stored at $+4^\circ\text{C}$ in the dark. The Milli-Q water used was $18 \text{ M}\Omega$ (Millipore system).

2.3. Acidobasic TBT titrations

Acidobasic titrations consist of pH follow-up as a function of the quantity of acid (HNO_3) and base (NaOH) added to the suspension. The studied pH ranged over 2 - 10. The solid-liquid ratio was 1 g of sludge for 50 mL of electrolyte. Titrations were performed under nitrogen atmosphere with a 716 DMS Titrino titrator (Mettrom AG, Herisau, Switzerland) combined to a pH electrode (Mettrom AG, Herisau, Switzerland). The glass electrode was calibrated and the calibration was verified after each titration. They started with the initial pH of the sludge/electrolyte suspension and different pH values were obtained by micro-additions of ultra pure NaOH or HNO_3 . The electrolyte was ultra pure NaNO_3 . Four electrolyte concentrations were tested: 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} and $10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

2.4. Sorption isotherms

The experiments were carried out by using sewage sludge as the sorbent and the TBT species as the sorbates. The standard batch technique was used to study the equilibrium partitioning of TBT between aqueous and solid (29). Sorption experiments were performed in batch reactors (130-mL glass centrifuge bottles) at room temperature with a background electrolyte solution composed of $0.01 \text{ mol L}^{-1} \text{ NaNO}_3$. Glass centrifuge tubes were filled with 1.00 g of sludge and 50 mL of electrolyte solution. Samples were spiked with TBT stock solutions to

achieve initial aqueous concentrations of 10 to 1500 $\mu\text{g L}^{-1}$. The sludge suspensions were shaken for the desired time with an elliptic table (Fisher Bioblock Scientific, Illkirch Graffenstaden, France) at 350 rpm in the dark. pH was kept constant for all the experiment and regularly controlled. The suspensions were centrifuged at 4000 rpm for 15 min (Jouan, Cergy Pontoise, France). Sorptive losses to the flask wall were verified to be negligible. Thus, sorbed TBT was determined by the difference between initial and equilibrium aqueous TBT concentrations ($q_t = C_0 - C_t$). For sorption kinetics, the TBT solution concentration, C_e ($\mu\text{g L}^{-1}$), and sorbed amount, C_s ($\mu\text{g g}^{-1}$), were plotted versus time, t (in hours).

Each experiment was carried out in three replicates, with three replicates of the witness batch (Electrolyte + [OTC]) and one replicate of the blank (electrolyte + sludge).

The sorption isotherms were obtained by plotting q_t , the amount sorbed, versus equilibrium concentration in solution, C_e .

Kinetic experiments were performed for times ranging from 1h to 72h and TBT concentration of 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ in batch wrapped with an aluminium foil to protect OTC from photolytic degradation. The suspension was centrifuged at 4000 rpm for 15 min and the supernatant analyzed. The batches were wrapped Experiment were conducted at constant ionic strength ($I = 0.01 \text{ mol L}^{-1} \text{ NaNO}_3$) with a sorbent mass of 1 g and a liquid volume of 50 mL.

pH-sorption edge experiments were done with the same batch procedure as described above. The equilibration time was 24 h. A spiking solution of 50 ng(Sn) L^{-1} was used. pH was ranged from 2 to 10 (screening on a wide range of environmental conditions).

All constants were calculated by linear regression and statistically validated in a 95% confidence interval.

2.5. Analysis description

1 - 5 mL of the raw extract was introduced directly into 100 mL of sodium ethanoate/ethanoic acid buffer (pH = 4.8). Ethylation/extraction was performed by mixing 0.5 mL of NaBEt_4 (0.2 %) and 1 mL of isooctane at 400 rpm on a mechanical table for 30 min. Then, 2 μL of the organic phase were directly taken for analyze.

The internal standard (IS) procedure using TPrT was applied for OTC quantification. Overall quality control of the method was made by a previous work and by analyzing certified materials (30).

Organotins were determined using a Varian 3800 gas chromatography (Palo Alto, CA, USA) equipped with a pulsed flame photometric detector (PFPD). The separation was carried out on a capillary column (30 m X 0.25 mm I.D.) coated with methylsilicone (0.25 μm film thickness) (Quadrex, New Heaven, CT, USA). Nitrogen was used as a carried gas (flow rate of 1 ml min^{-1}). The following temperature program was necessary to conveniently separate the OTC: the column temperature was held at 80°C for the first minute, increased to 180°C at the rate of 30°C min^{-1} , then to 270°C at 10°C min^{-1} , and finally held at this temperature for 2 minutes. The detector was operated at 350 °C with an air/hydrogen flame (31).

3. Results and Discussion

For the entire experimental set, degradation of TBT can occur and release in the solution DBT and MBT. So, witness experiments were performed for every concentration and duration to control the TBT integrity. Very slight TBT degradations appeared (1 to 2% of TBT) being constant with time. So, these degradations were considered as negligible.

3.1. Characteristics of sludge surface properties

The buffer capacity of the sludge, surface charges, intrinsic pK_a (called pK_a^{int}) and pH_{ZPC} (pH of zero point charge) were assessed by titrations. The studied sewage sludge sample contained a relatively large proportion of clay-sized particles as shown in Table 1. The material had a neutral pH of 7.17. The organic carbon content was very high (around 36 %) which suggests that it was the main contributor to CEC value and played a key role in the sorption mechanisms of the TBT on the sludge.

An estimation of the surface charge was carried out from a potentiometric titration..

The acidic constants of surface, equal to the intrinsic acidity constants of the sludge ($K_{a_1}^s = K_{a_1}^{int}$) were determined with experimental data obtained by the different titrations. The pH_{ZPC} of the sludge was calculated with the intrinsic acidity constants, $pK_{a_1}^{int}$ and $pK_{a_2}^{int}$ by the relation:

$$pH_{ZPC} = (pK_{a_1}^{int} + pK_{a_2}^{int}) / 2 \quad (1)$$

By the calculation, with equation (5), the mean value of pH_{ZPC} is around 7.46.

pH_{ZPC} can also be evaluated directly by titrations at various ionic strength. The ionic strength has a very weak influence on the sludge surface behaviour and the pH_{ZPC} can be estimated to 7.2 in accordance with the precedent value.

3.2. Kinetic experiments and modeling of TBT sorption on sludge

The kinetic of TBT sorption on sewage sludge was studied in order to evaluate the equilibrium time. The sorption of TBT on the sludge was monitored as a function of time. The

evolution of TBT concentration in solution versus time is plotted in figure 1. This aqueous TBT concentration plummets during the first hours of the experiments. After around 24 hours, the concentration remains constant corresponding to the equilibrium time of the TBT sorption on this sludge. This value is in agreement with equilibrium times previously reported (10, 12, 24).

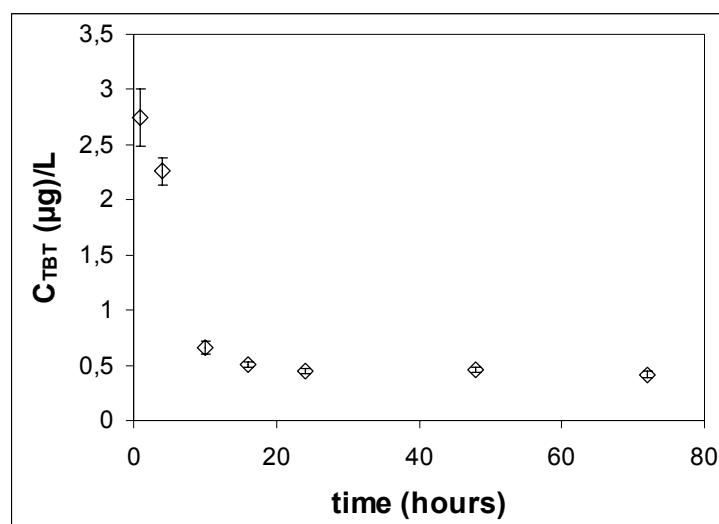


Figure 1: Evolution of aqueous TBT concentration ($\mu\text{g}(\text{Sn}) \text{L}^{-1}$) in the presence of sewage sludge, with time.

In order to predict of sorption kinetic models of TBT, the linear forms of different kinetic equations were applied to the sorption data and their fit precision was evaluated by the determination coefficient, R^2 . Different models were tested: first order, pseudo-first order, pseudo-second order and intra-particle diffusion.

3.2.1 First order kinetic model.

The simple first order reaction model is based on a reversible reaction with equilibrium being established between two phases.

The rate equation in terms of equilibrium conversion is expressed as:

$$\frac{dX_t}{dt} = (k_1 + k_2) (X_e - X_t) \quad (2)$$

where $X_t = C_0 - C_t$ (C_0 is the initial TBT concentration in solution ($\mu\text{g}(\text{Sn}) \text{L}^{-1}$) and C_t , the TBT concentration sorbed ($\mu\text{g}(\text{Sn}) \text{g}^{-1}$)) and $X_e = C_0 - C_e$ (C_e is the TBT sorbed at the equilibrium).

Integration of equation (2) gives

$$-\ln\left(1 - \frac{X_t}{X_e}\right) = (k_1 + k_2)t = k't \quad (3)$$

where k' is the overall rate constant, k_1 and k_2 are the first-order rate constants.

Therefore, a plot of $-\ln(1-X_t/X_e)$ versus time gives a straight line (see figure 3) from which the slope, k_1 , can be deduced (32). Using the kinetic equations, the overall rate constant k' and the forward (k_1) and backward (k_2) rate constants were calculated by using linear regression.

3.2.2 Pseudo-first-order model.

The sorption kinetics may also be described by a pseudo-first-order according to Azizian (2004). The model can be represented by the following differential equation:

$$\frac{dq_t}{dt} = k_{p1}(q_e - q_t) \quad (4)$$

where q_e is the amount of solute sorbed at equilibrium per unit weight of sorbent ($\mu\text{g kg}^{-1}$), q_t the amount of solute sorbed at any time ($\mu\text{g kg}^{-1}$) and k_{p1} , the sorption constant.

Integrating equation 4 for the boundary conditions $t=0$ to $t=t$ and $q_t=q_t$, gives:

$$\log\left(\frac{q_e}{q_e - q_t}\right) = \frac{k_{p1}}{2.303}t \quad (5)$$

This equation is the integrated rate law for a pseudo-first-order reaction. Equation (5) can be rearranged to obtain a linear form:

$$\log(q_e - q_t) = \log(q_e) - \frac{k_{p1}}{2.303}t \quad (6)$$

The rate constant can be deduced from equation (6) by using a linear regression of the plots of $\log(q_e - q_t)$ against time (33).

3.2.3 Pseudo-second-order model.

A pseudo-second-order model may also describe the kinetics sorption (33, 34). This model, based on sorption equilibrium capacity, may be expressed as:

$$\frac{dq_t}{dt} = k_{p2}(q_e - q_t)^2 \quad (7)$$

After integrating equation (7) for following boundary conditions, $t=0$ to $t=t$ and $q_t=0$ to $q_t=q_t$, it was rearranged to obtain the linearized form shown as follows:

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_{p2}q_e^2} + \frac{1}{q_e}t \quad (8)$$

The constants can be determined by plotting t/q_t versus t (figure 3). The sorption rate can be obtained from equation (8), as follows:

$$\frac{q_t}{t} = \frac{1}{\left(\frac{1}{k_{p2}q_e^2}\right) + \left(\frac{1}{q_e}\right)t} \quad (9)$$

The initial sorption rate, h , as $t \rightarrow 0$ can be defined as $h = k_{p2}q_e^2$. The rate constant can be determined experimentally from slope and intercept of the plotting of t/q_t versus t .

3.2.4 Intra-particle diffusion parameters.

According to the intra-particle diffusion model, the initial rate of intra-particle diffusion can be calculated by plotting q_t against $t^{1/2}$ (34).

$$q_t = k_{ip} t^{1/2} \quad (10)$$

where, q_t is the amount of solute on the surface of the sorbent at time t ($\mu\text{g kg}^{-1}$), k_{ip} is the intra-particle rate constant ($\mu\text{g kg}^{-1} \text{h}^{-1}$) and t the time (h).

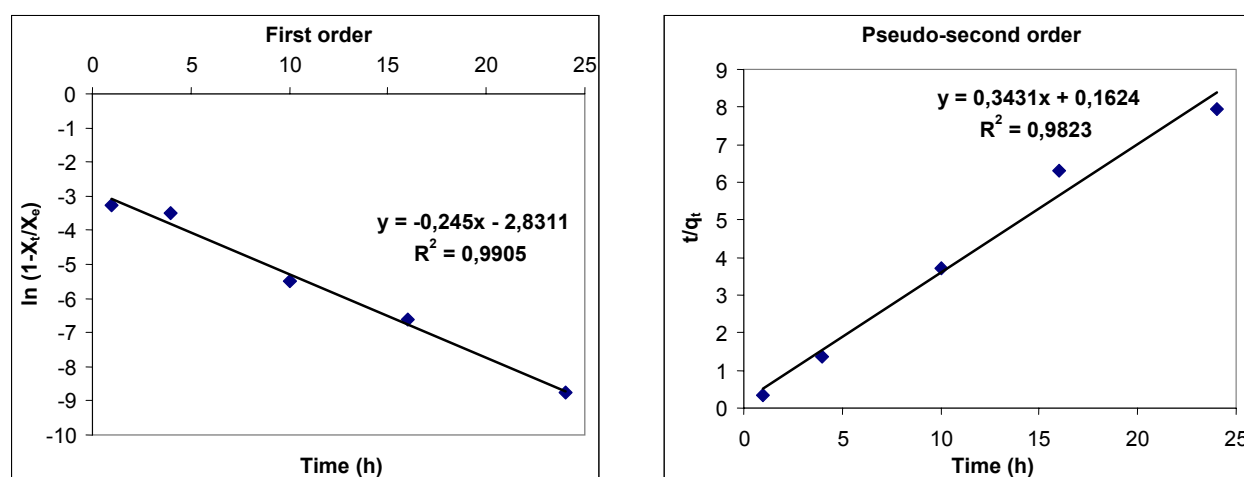


Figure 2: First-order and pseudo second-order kinetic fit for the sorption of TBT onto a sewage sludge. Initial TBT concentration is $50 \mu\text{g L}^{-1}$.

The kinetic experimental plots and the modelling of the first order and the pseudo-second order only are depicted in figure 2. The kinetic constants and determination coefficients obtained from the four kinetic models tested are given in Table 2. Satisfactory determination coefficients were obtained for the first order and the pseudo-second order kinetic model.

Table 2: Comparison of the different model parameters obtained for the kinetic experiments

First order					Pseudo-first order		Pseudo-second order					Intra-particle diffusion model	
K_C (L g ⁻¹)	k' (h ⁻¹)	k_1 (h ⁻¹)	k_2 (h ⁻¹)	R^2	k_{p1} (L h ⁻¹)	R^2	k_{p2}	h	$q_{e, cal}$	$q_{e, exp}$	R^2	k_{ip}	R^2
134 ±13	-0.25 ±0.01	-0.24 ±0.03	-18.10 ⁻⁴ ±2.10 ⁻⁴	0.9905	0.3 ±0.1	0,4396	0.7 ±0.4	6.2 ±0.5	2.9 ±0.2	3.0 ±0.2	0.9823	0.014 ±0.005	0.2361

Table 2 shows that the sorption kinetics of TBT on sludge fits the best with the first order and the pseudo-second order. This result is in agreement with the work of Hermosin et al. (1993) who found that MBT follows a first order sorption kinetic. Azizian (2004) reports that for low initial concentration of solute, the pseudo-second-order model is suitable for fitting the sorption kinetics whereas the pseudo-first order model becomes suitable when the initial concentration is high. In the present experimental conditions, the working concentrations remained low, below 0.4 $\mu\text{mol}(\text{Sn}) \text{L}^{-1}$ (50 $\mu\text{g}(\text{Sn}) \text{L}^{-1}$), that explains why the pseudo-first order does not fit correctly unlike the pseudo-second order (33).

3.3. Sorption isotherms

Considering the pH importance in the sorption process, the sorbed TBT concentration on the sewage sludge was plotted as a function of pH (Figure 3) in order to determine the pH of maximum TBT sorption. This experiment was made at equilibrium time and at constant TBT concentration.

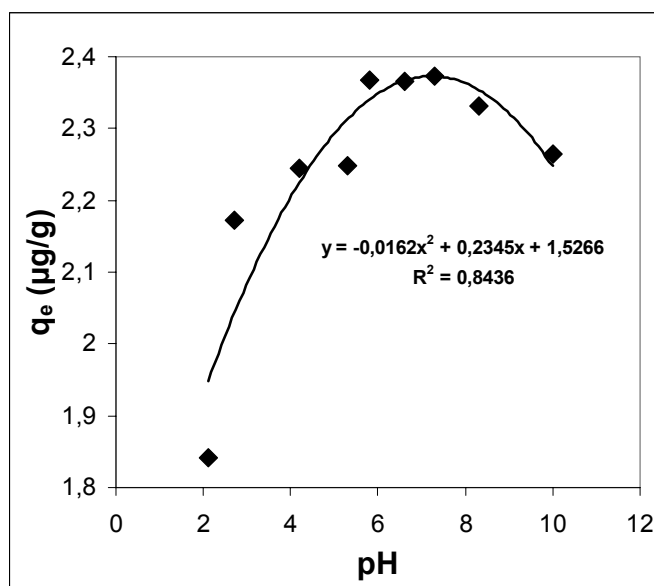


Figure 3: pH sorption edge of TBT on a sewage sludge.

As expected, TBT sorption with sludge sample was strongly pH-dependent (Figure 3). The maximum TBT sorption was observed for pH 7 - 7.5. This value is slightly above the pK_a value of TBT (6.25). This pK_a corresponds to an important process influencing TBT sorption i.e. the hydrolysis of TBT^+ (15).

Consequently on the minor phases present in the sludge such as sand and as in other solids, when the pH is below the pK_a , the TBT species is under its cationic form, TBT^+ . Therefore, the TBT^+ sorption process may be governed by electrostatic attraction, TBT^+ being exchangeable with cationic species on the surface (11).

For pH values above the pK_a , the TBT is mainly under its TBTOH form (hydrophobic character of TBT). So the hydrophobicity interactions are the most important phenomena occurring.

The observed pH-dependent behaviour is consistent with previous investigations into TBT sorption to natural sediments, quartz sand and clay minerals (3, 24, 35). The present study deals with a sludge containing a high organic matter quantity. The TBT sorption on organic matter has been shown to be hydrophobic interactions (3, 15). Consequently, this retention mode is certainly one of the phenomena occurring for the TBT sorption onto sludge.

By building the sorption isotherm, the TBT retention capacity of the sludge can be estimated. Previous study on TBT sorption onto various solids found a maximum of TBT sorption for pH close to the pK_a (15, 27). So we decided to combine the range of pH of maximum sorption and the natural sludge pH: the pH was set equal to 7. The TBT sorption isotherm was drawn

by plotting q_e values as a function of C_e values and is presented in figure 4. The influence of the solid/liquid ratio was evaluated by two experiments at 1/50 and 1/1000 ratio values. It allows the number of surface sites available at the surface sludge to be evaluated. The influence of this ratio on the TBT sorption behaviour can be also assessed.

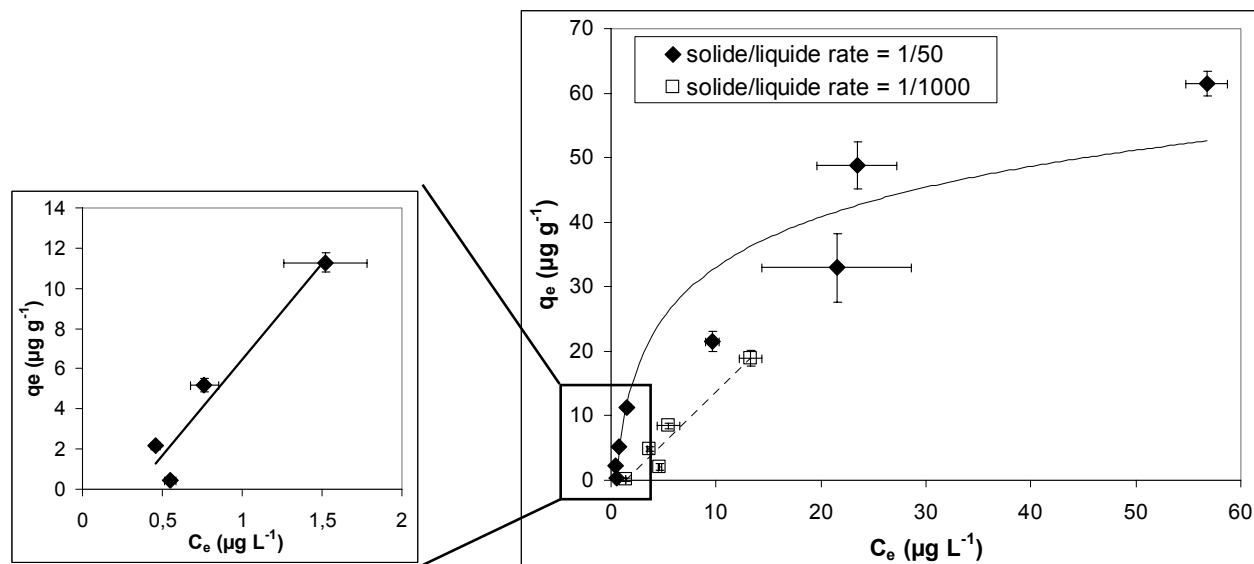


Figure 4: adsorption isotherm of TBT on sewage sludge for two solid/liquid ratio values. The zoom shows the linear behaviour of the TBT sorption for the low values of TBT in the liquid phase.

TBT sorption capacity initially increases rapidly as TBT concentration in solution increases. For C_e values inferior to $10 \mu\text{g L}^{-1}$ (figure 4 zoom), this increase slows down but never stops. This could be due to different sorption processes: a first involving rather active sites and a second one with less active or accessible sites. This particular shape of the sorption isotherm curve could be also explained by two different sorption phenomena and/or different sorption sites: ion exchange on minor phases and hydrophobicity on organic matter (4, 11).

In order to investigate the sorption isotherm, the Freundlich and Langmuir isotherm models were analyzed. These models are the most used to describe sorption equilibrium for wastewater treatment applications (36). The Freundlich isotherms are often used to fit the sorption behaviour for non-polar organic matter. The sorption behaviour of most heavy metal ions follows the Langmuir isotherm. An organotin, and particularly TBT, is composed by both Sn central atom and organic substituant group(s). Thus, the sorption equilibrium is expected to be well correlated by both models (37).

The Langmuir equation is applicable to homogeneous sorption, where the sorption of each sorbate molecule onto the surface has equal sorption activation energy (34). The Langmuir sorption isotherm is often used to describe sorption of a solute from a liquid solution as:

$$\frac{C_e}{q_e} = \frac{1}{Q^0 b} + \frac{C_e}{Q^0} \quad (11)$$

where C_e is the equilibrium concentration in the solution ($\mu\text{g L}^{-1}$) and q_e the amount of TBT sorbed per unit of mass of sludge at equilibrium ($q_e, \mu\text{g g}^{-1}$). The Langmuir constants Q^0 and b , which are related to the sorption capacity on maximum site concentration and heat of adsorption, respectively, were determined from the slope and intercepts of the linear plots of C_e/q_e versus C_e (32).

The Freundlich empirical isotherm can be used for non-ideal sorption that involves heterogeneous surface sites and is expressed by the following equation (34):

$$\log q_e = \log K_F + n \log C_e \quad (12)$$

where C_e is the equilibrium concentration in the solution ($\mu\text{g L}^{-1}$) and q_e the amount of TBT sorbed per unit of mass of sludge at equilibrium ($q_e, \mu\text{g g}^{-1}$). K_F is referred as the Freundlich constant and n is the measure of the nonlinearity involved (38). It can result from the overlapping patterns of several Langmuir-type sorption phenomena occurring at different sites on complex sorbents.

The Langmuir and Freundlich isotherm parameters are usually computed by linear regression. The relationships established are shown in figure 5 and both appear to fit the experimental data correctly. The different Langmuir and Freundlich constants were calculated and are presented in Table 3.

Table 3: Langmuir and Freundlich isotherm values for TBT sorption on a sewage sludge

Langmuir isotherm			Freundlich isotherm		
Q^0 ($\mu\text{g g}^{-1}$)	b (g^{-1})	R^2	n	K_F	R^2
73 ± 11	15.88 ± 0.04	0.8935	0.63 ± 0.07	5 ± 1	0.9464

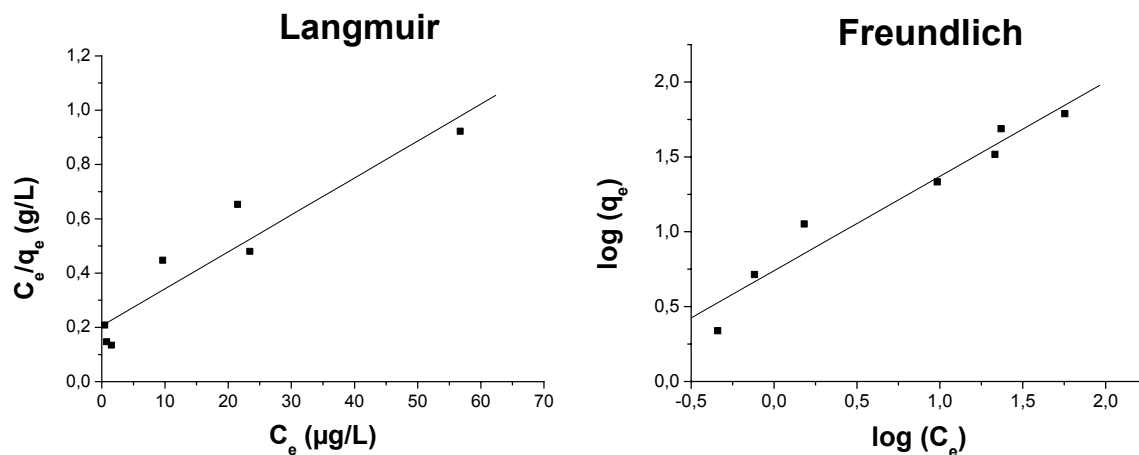


Figure 5: Freundlich and Langmuir plots for the TBT sorption on sewage sludge.

Thus, the sorption capacity described by Q^0 ($\mu\text{g g}^{-1}$) which also represents the maximum concentration of sorption sites has been assessed. It corresponds to $254 \mu\text{mol kg}^{-1}$.

Considering that Freundlich relation involves different sorption sites, with different energies and interactions (39), the TBT sorption can be assumed as a mixed processes involving mainly hydrophobic interactions and in a less extend ion exchange respectively on organic matter and on mineral phases found in the sludge. The nonlinearity factor determined with Freundlich modeling is inferior to 1. This could mean that different types of surface sites are involved in TBT sorption, unlike the Langmuir modeling.

Nevertheless, only a few studies were done on TBT sorption and modelling. Bueno et al (1998, 2001) and Sun et al. (1996) used Langmuir-type relations to describe experimental data of TBT sorption on sediment and different quartz sands (13, 35, 37). Some authors estimated that for this kind of materials, the maximum of surface site concentration (Q^0) ranges between 1.03 to $3.23 \mu\text{mol kg}^{-1}$ (13). Hermosin et al (1993) studied the MBT sorption on clay minerals. They found that surfaces site concentration ranges between 0.05 to $2.5 \mu\text{mol kg}^{-1}$ (23). These values are less important than the one found in the present study. The sewage sludge has a higher affinity for TBT, explained by a more important sorption surface site concentration. Sun et al (1996) showed that TBT sorption on estuarine sediment could be well described by both Langmuir and Freundlich relations. Langmuir model fits the experimental data the best (37). Thus, it seems reasonable to suggest that TBT sorption onto a sewage sludge with a high organic matter content occurs through a mixed process described by both Langmuir and Freundlich isotherms. This is in accordance with previous works done on

dissolved organic matter (22, 19) showing hydrophobic interactions and studies on clay mineral and quartz sand showing possible ion exchange (4, 23).

To conclude, this study gives kinetic information about the TBT sorption on a sludge. The equilibrium is fast and reached after 24 hours. Among the kinetic models applied, the first-order and the pseudo-second order fit these data the best, the statistical signification of all the constants having been controlled. TBT isotherm on the sludge was plotted and satisfactory modelled by both Langmuir and Freundlich equations. These models allowed the quantity of surface sites of the sludge to be estimated. This quantity is much higher compare to quartz or clays, meaning the sludge has a high retention capacity and a strong affinity for TBT. In environmental conditions, the sludge could store high amounts of TBT. Consequently, the storage and / or spreading of sludge contaminated by TBT could lead to expose cultures and underground waters highly.

4. Acknowledgements

The authors gratefully acknowledge the financial support of ADEME (Agence De l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie) and the Regional Council of Aquitaine. They also want to thank the EPURETEC society for the treatment plant access.

5. References

- (1) Hoch, M. Organotin compounds in the environment -- an overview. *Applied Geochemistry* **2001**, 16, 719-743.
- (2) Fent, K., Fassbind, R., Siegrist, H. Organotins in a municipal wastewater treatment plant. *1st European Conference on Ecotoxicology*, Copenhagen, Denmark,
- (3) Burton, E. D., Phillips, I.R., Hawker, D.W. Sorption and Desorption Behavior of Tributyltin with Natural Sediments. *Environ. Sci. Technol.* **2004**, 38, 6694-6700.
- (4) Behra, P., Lecarme-Théobald, E., Bueno, M., Ehrhardt, J.J. Sorption of tributyltin onto a natural quartz sand. *Journal of Colloid and Interface Science* **2003**, 263, 4-12.
- (5) Arnold, C. G., Berg, M., Müller, S.R., Dommann, U., Schwarzenbach, R.P. Determination of organotin compounds in water, sediment, and sewage sludge using perdeuterated internal standarts, accelerated solvent extraction, and large-volume-injection GC/MS. *Analytical Chemistry* **1998**, 70, 3094-3101.
- (6) Becker van Slooten, K., Merlini, L., Stegmueller, A.-M., de Alencastro, L.F., Tarradellas, J. Contamination des boues de stations d'épuration suisses par les organoétains. *Gas Wasser Abwasser* **1994**, 2, 104-110.

- (7) Schnaak, W., Kuchler, Th., Kujawa, M., Henschel, K.-P., Süssenbach, D., Donau, R. Organic contaminants in sewage sludge and their ecotoxicological significance in the agricultural utilization of sewage sludge. *Chemosphere* **1997**, 35, 5-11.
- (8) Chau, Y. K., Zhang, S., Maguire, R.J. Occurrence of butyltin species in sewage sludge in Canada. *The Science of the Total Environment* **1992**, 121, 271-281.
- (9) Chau, Y. K., Maguire, R.J., Brown, M., Yang, F., Batchelor, S.P. Occurrence of Organotin Compounds in the Canadian Aquatic Environment Five Years after the Regulation of Antifouling Uses of Tributyltin. *Water Quality Research Journal of Canada* **1997**, 32, 453-521.
- (10) Berg, M., Arnold, C.G., Muller, S.R., Mühlemann, J., Schwarzenbach, R.P. Sorption and desorption behavior of organotin compounds in sediment-pore water systems. *Environmental and Science Technology* **2001**, 35, 3151-3157.
- (11) Hoch, M. and Schwesig, D. Parameters controlling the partitioning of tributyltin (TBT) in aquatic systems. *Applied Geochemistry* **2004**, 19, 323-334.
- (12) Arnold, C. G., Ciani, A., Müller, S.R., Amirbahman, A., Schwarzenbach, R.P. Association of triorganotin compounds with dissolved humic acids. *Environmental and Science Technology* **1998**, 32, 2976-2983.
- (13) Bueno, M., Astruc, A., Lambert, J., Astruc, M., Behra, P. Effect of solid surface composition on the migration of tributyltin in groundwater. *Environmental and Science Technology* **2001**, 35, 1411-1419.
- (14) Hoch, M., Alonso-Azcarate, J., Lischick, M. Assessment of adsorption behavior of dibutyltin (DBT) to clay-rich sediments in comparison to the highly toxic tributyltin (TBT). *Environmental Pollution* **2003**, 123, 217-227.
- (15) Weidenhaupt, A., Arnold, C., Müller, S.R., Haderlein, S.B., Schwarzenbach, R.P. Sorption of organotin biocides to mineral surfaces. *Environmental and Science Technology* **1997**, 31, 2603-2609.
- (16) Watanabe, N., Takatsuki, H., Sakai, S. Desorption of tributyltin, dibutyltin and zinc from resuspended sediment. *Applied Organometallic Chemistry* **1997**, 11, 273-279.
- (17) Langston, W. J., Pope, N.D. Determinants of TBT adsorption and desorption in estuarine sediments. *Marine Pollution Bulletin* **1995**, 31, 32-43.
- (18) Keijzer, T. J. S., Loch, J.P.G. Accumulation of HNO₃-extractable tin in agricultural and non-agricultural soils by use of triphenyltin acetate. *Water, Air and Soil Pollution* **1995**, 84, 287-301.
- (19) Kram, M. L., Stang, P.M., Seligman, P.F. Adsorption and desorption of tributyltin in sediments of San Diego bay and Pearl Harbor. *Applied Organometallic Chemistry* **1989**, 3, 523-536.
- (20) Kuballa, J., Desai, M.V.M., Wilken, R-D. Influence of humic substances on sorption and methylation processes of inorganic- and organo-tin species. *Applied Organometallic Chemistry* **1995**, 9, 629-638.
- (21) O'Loughlin, E. J., Traina, S.J., Chin, Y-P. Association of organotin compounds with aquatic and terrestrial humic substances. *Environmental Toxicology and Chemistry* **2000**, 19, 2015-2021.
- (22) Poerschmann, J., Kopinke, F-D., Pawliszyn, J. Solid phase microextraction to study the sorption of organotin compounds onto particulate and dissolved humic organic matter. *Environmental and Science Technology* **1997**, 31, 3629-3636.
- (23) Hermosin, M. C., Martin, P., Cornejo, J. Adsorption mechanisms of monobutyltin in clay minerals. *Environmental and Science Technology* **1993**, 27, 2606-2611.
- (24) Hoch, M. Assessment of salinity variations in TBT adsorption onto kaolinite and montmorillonite at different pH levels. *Water Air and Soil Pollution* **2004**, 152, 349-362.

-
- (25) Unger, M. A., MacIntyre, W.G., Huggett, R.J. Equilibrium sorption of tributyltin chloride by Chesapeake Bay sediments. *Oceans* **1987**, 87, 1381-1385.
- (26) Unger, M. A., MacIntyre, W.G., Huggett, R.J. Sorption behavior of tributyltin on estuarine and freshwater sediments. *Environmental Toxicology and Chemistry* **1988**, 7, 907-915.
- (27) Hoch, M., Alonso-Azcarate, J., Lischick, M. Adsorption behavior of toxic tributyltin to clay-rich sediments under various environmental conditions. *Environmental Toxicology and Chemistry* **2002**, 21, 1390-1307.
- (28) Ohtsubo, M. Organotin compounds and their adsorption behavior on sediments. *Clay Science* **1999**, 10, 519-539.
- (29) United States Environmental Protection Agency Batch-Type procedures for estimating soil adsorption of chemicals. *USEPA Technical Resource Document* **1992**, EPA/530/SW-87/006-F.
- (30) Bancon-Montigny, C., Lespes, G., Potin-Gautier, M. Organotin survey in the Adour-Garonne basin. *Water Research* **2004**, 38, 933-946.
- (31) Bancon-Montigny, C., Lespes, G., Potin-Gautier, M. Improve routine speciation of organotin compounds in environmental samples by pulsed flame photometric detection. *Journal of Chromatography A* **2000**, 896, 149-158.
- (32) Hamadi, N. D., Chen, X.D., Farid, M.M., Lu, M.G.Q. Adsorption kinetics for the removal of chromium(VI) from aqueous solution by adsorbents derived from used tyres and sawdust. *Chemical Engineering Journal* **2001**, 84, 95-105.
- (33) Azizian, S. Kinetic models of sorption: a theoretical analysis. *Journal of Colloid and Interface Science* **2004**, 276, 47-52.
- (34) Rengaraj, S., Kim, Y., Joo, C.K., Yi, J. Removal of copper from aqueous solution by aminated and protonated mesoporous aluminas: kinetics and equilibrium. *Journal of Colloid and Interface Science* **2004**, 273, 14-21.
- (35) Bueno, M., Astruc, A., Astruc, M., Behra, P. Dynamic sorptive behavior of tributyltin on quartz sand at low concentration levels: effect of pH, flow rate, and monovalent cations. *Environmental and Science Technology* **1998**, 32, 3919-3925.
- (36) Bektas, N., Kara, S. Removal of lead from aqueous solutions by natural clinoptilolite: equilibrium and kinetic studies. *Separation and Purification Technology* **2004**, 39, 189-200.
- (37) Sun, H., Huang, G. and Dal, S. Adsorption behaviour and qspr studies of organotin compounds on estuarine sediment. *Chemosphere* **1996**, 33, 831-838.
- (38) Stumm, W., Morgan, J.J. Aquatic chemistry - Chemical equilibria and rates in naturel waters. **1996**. Wiley Interscience Publication, New York, 1022 pp.
- (39) Sposito, G. The surface chemistry of soils. **1984**. Oxford University Press, New York, 234 pp.

Article B:**Organotin fate in a soil contaminated by TBT and TPhT via a sludge.**Christophe MARCIC^{1*}, Isabelle LE HECHO¹, Laurence DENAIX², Gaëtane LESPES¹¹ Laboratoire de Chimie Analytique Bio-Inorganique et Environnement- UMR CNRS 5034 – CURS - Avenue de l'Université, F-64013 PAU cedex, France.² UMR TCEM, Equipe Biogéochimie des Eléments Traces, INRA – Centre Bordeaux Aquitaine - Avenue E. Bourleaux, BP 81, F-33883 VILLENAVE D'ORNON cedex, France.

* Corresponding author. E-mail: gaetane.lespes@univ-pau.fr – Fax: +33559407674

Article soumis au journal *Chemosphere* le 23 juillet 2005.**Abstract**

The contamination of soils by organotin compounds (OTC) has been recently emphasized. These species may come from the spreading of sewage sludge which contains OTC. A deep understanding of the role of physico-chemical parameters is necessary to assess the fate of tributyltin (TBT) and triphenyltin (TPhT) in soils. Thus, the quantity of sludge and OTC introduced into the soil as well as the pH were studied in this work. The OTC supply into the soil was made via an urban sludge, simulating agricultural practise. The OTC speciation was achieved by acidic extraction followed by analysis using gas chromatography coupled with pulsed flame photometric detection (GC-PFPD). The sludge appears to have a very high capability of sorption. Between 85 and 99% of TBT are strongly sorbed on sludge. TBT solid/liquid distribution is varying according to its initial amount in contact with the sludge. Its preservation in soil appears to depend on its initial concentration in sludge. More than 50% of the initial TBT added into the soil are always present over 2 months, whatever the experimental conditions, the main degradation product appearing to be dibutyltin. TPhT is also mainly sorbed on sludge, but seems more quantitatively exchangeable at the solid/liquid interface. TPhT is significantly degraded in sludged soil, about 20% of TPhT remaining present over 2 months. The monophenyltin is its main degradation product. The increase of soil pH has a significant effect especially on TPhT. However, it leads to promote the OTC preservation according to their initial amounts introduced into the soil. When the sludge is moderately contaminated by triorganotins (typically $\leq 50\mu\text{g}(\text{Sn}) \text{ kg}^{-1}$ in our conditions) the pH has no effect and the TBT and TPhT preservation appears as maximum.

Keywords

Tributyltin, triphenyltin, degradation, speciation, soil, sludge

1. Introduction

Use and rejection of organotin compounds (OTC) as fungicides, insecticides, bactericides, wood preservatives and PVC stabilizers lead to the contamination of the environment by these chemical forms. In terrestrial and aquatic media particularly, the OTC are present in sewage sludge, water, sediment and soil (Hoch, 2001). In soils, these species may come from the spreading of OTC-contaminated sludge (Kannan et al., 1995), pulverization of biocide products (Kannan and Lee, 1996), or atmosphere deposition (Huang et al., 2004). In France, the legislation authorizes the sludge spreading but imposes a latency time between the spreading and the culture (Ministère de l'aménagement du territoire et de l'environnement, 1997). This latency time can vary between 3 weeks and 18 months depending on the nature of the culture. According to the OTC amounts generally found in sludge (up to 1700 and 750 μg (Sn) kg^{-1} of dry sludge for total organotins and triorganotins respectively), this practise could be an important source of cultivated-land contamination (Bancon-Montigny et al., 2001; Héninger et al., 1998; Fent, 1996). In addition, the undeniable presence of butyl- and phenyltins up to some 20-100 μg (Sn) kg^{-1} in soils has been showed by some authors (Brémont, 2004; Huang et al., 2004). Despite these data, the terrestrial environment has not received as much attention as sediments or waters (Arnold et al. 1998; Hoch et al., 2003; Kram et al., 1989; Landmeyer et al., 2004; Langston and Pope, 1995; Maguire et al., 1986; Ohtsubo, 1999; Watanabe et al., 1997).

In the environment, OTC can be degraded by abiotic or biotic processes. Abiotic factors as UV or chemical cleavage are generally considered as negligible in soil and sediment (Dubey and Roy, 2003; Kawai et al., 1998; Landmeyer et al., 2004; Tsang et al., 1999). Kannan and Lee (1996) concluded in their study about TPhT pulverization on cultivated soil that photodegradation appeared as the major factor affecting the TPhT fate in soils. However, the sprayed products remaining at the soil surface and probably being exposed more directly to UV activity could explain this result. Despite this particular example, biotic processes are considered as the most significant way of the OTC degradation in terrestrial and aquatic environment (Dubey and Roy, 2003; Landmeyer et al., 2004). Barug and Vonk (1980) showed that microbial activity is a very important parameter in the degradation of TBT in soil. Barnes et al. (1973) and Yen et al. (2001) demonstrated that persistence of pesticides and fungicides containing TPhT acetate in soil is affected by microbial degradation, soil moisture and temperature as well as by adsorption.

Several studies have also attempted to identify the mechanisms of TBT biodegradation to determine if it is successively de-alkylated from tri- to di- (DBT), monobutyltin (MBT) and finally inorganic tin as mainly accepted, or directly converted to MBT. Some studies carried out in water have emphasized that DBT is the primary degradation product (Dowson et al., 1993). Other studies showed that MBT was the initial degradation product in the sediments from San Diego Bay (Stang and Seligman, 1986), whereas DBT was again identified as the first degradation compound in Toronto Harbour sediments (Maguire et al., 1986). According to the literature and although several bioprocesses of TBT degradation in aquatic medium seem able to occur, very few is known in terrestrial environment. In the same way, only some works reported that TPhT degradation in water gives directly or very rapidly monophenyltin (MPhT), while diphenyltin (DPhT) remains rarely found (Carlier-Pinasseau et al., 1997).

In aquatic systems, biotic activities induce TBT half-lives ranging from few days to several months (Dubey and Roy, 2003; Harino et al., 1997; Landmeyer et al., 2004; Tsang et al., 1999). In sediments, half-lives of OTC can vary from few weeks to several years (Dowson et al. 1993; Sarradin et al., 1993; Watanabe et al., 1995). In soils, half-lives are in a range of 8 to 150 days for TPhT and few weeks to several years for TBT (Barug and Vonk, 1980; Huang and Matzner, 2004). Kannan and Lee (1996) identified an important TPhT contamination in a Pecan orchard after several years of TPhT hydroxide mixture spraying. The corresponding concentrations in soil were up to 12 $\mu\text{g g}^{-1}$ of total phenyl species.

On the other hand, the toxicity of the different organotin compounds is related to exposure concentration and duration, bioavailability and sensitivity of the living organisms as well as their persistence (Rüdel, 2003). Previous papers reported toxic effects of organotin compounds, notably TBT and TPhT, on vegetals such as algae or French beans, fungi and aquatic micro-organisms (Huang et al., 1996; Kizlink, 2001; Nudelman et al., 1998; Simon et al., 2002). Nowadays, European Community has listed the OTC as priority water pollutants and they are also considered as endocrinal disrupters. Since the hazard of tributyltin (TBT) and triphenyltin (TPhT) appears undeniable, the study of their fate in ecosystems is important to assess their environmental impact (Tsang et al., 1999). Unfortunately, very few studies have inquired the fate of OTC in soil and the influence of these pollutants on terrestrial ecosystem remains badly understood today.

The present study focuses to the evaluation of the influence of various chemical parameters on the fate of the two organotin compounds, TBT and TPhT, added in a soil by the way of contaminated sludge. The organotin speciation was assessed in soil in order to evaluate the risk and impact of OTC in this ecosystem.

2. Materials and Methods

2.1. Spiked soil preparation procedure

Soil was collected at the INRA experimental site in Cestas-Pierroton, Aquitaine, France. It is a sandy duric/humic podzol and its main physico-chemical characteristics are presented in Table 4.1. The 0- 25 cm surface depth layer was collected, air-dried and sieved (2 mm).

Table 4.1: Physico-chemical parameters in Sludge (A) and Soil (B) (Plenet and Lemaire, 1999)

	Granulometry (g kg ⁻¹)			Total Organic Carbon (g kg ⁻¹)	Inorganic Carbon (g kg ⁻¹)	pH _{water}	CEC (cmol kg ⁻¹)	OTC content
	Clays	Silts	Sands					
A	629	356	15	361	263	7.17	67.40	< LOD
B	33	25	942	19.6	-	5.60	5.94	< LOD

The sludge comes from an urban treatment plant of 5000 equivalent Inhabitants in the South West of France. It has been dehydrated (80% of humidity). The sludge was stored at 4°C until analyze. No organotin compound was found in it. The sludge was then divided in different aliquots (20 to 180 g), each of them being spiked with TBT and TPhT by solutions of various concentrations. These solutions have been initially prepared in 10 mL volume. The sludge was rehydrated in order to have a liquid sludge after the spiking. Sludge and OTC solutions were mixed and homogenized in the dark for 2 hours. The spiked sludge was left to settle over night and then mixed with 2 kg of soil, homogenized and placed in pot (20 cm height). 100 mL of a fertilizing solution of ammonium nitrate (NH₄NO₃, 0.035 mol L⁻¹) was added into each pot of 2 kg. It represents an addition of Nitrogen of 200 g by hectare as it is used in French agriculture. The initial mean soil moisture was about 30 %. In order to adjust the soil pH when necessary, 100 mL of a KOH or HNO₃ solution of adapted pH was percolated in 1 kg of each soil before spiking. The spiked sludge was added to the soil after the pH stabilising.

The quantity of sludge mixed with soil was chosen between 1 and 9 % of the total soil in the pot because French legislation authorizes a mean contribution of 1 % on the first 30 cm of soil surface. We amended up to 9 % to evaluate the effect of important spreading cases.

A leaching test, according to the French standard AFNOR X 31-210 was applied to the spiked sludge in order to assess the distribution of OTC between liquid and solid phase after spiking (AFNOR, 1992). Spiked sludge was placed in contact with water, in a liquid/ solid ratio of 1L for 100 g, for five successive leaching runs of 16 hours, until OTC concentration in the liquid was below the limit of detection.

2.2. Experiment setup

The experimental design methodology was used in order to control as much as possible the experimentation. Complementary, this method allows the quantitative evaluation of the influence of different studied factors on the phenomenon of interest, (OTC fate in the soil in the present case). The modelling of the influence of various factors also allows a continuous knowledge over the whole experimental field.

Each experiment was duplicated. The experiment at the centre of the experimental field (noted "0") was carried out four times in order to determine the experimental precision by mean of the standard deviation (σ) of the "0" (Dubascoux, 2004). It also allowed any bias to be prevented.

The first step of the methodology is to determine the studied factors, the experimental field as well as the number and nature of the experiments. Thus, concentrations of TBT and TPhT, sludge amount added into the soil and pH were taken into account. In addition, the effects of temperature and light were also examined. All these parameters and their respective range of controlled variations were chosen according to the different results found in the literature and our own knowledge, as followed:

The OTC environmental fate is now recognised as dependant on their concentrations (Behra et al., 2003). So, the target OTC concentrations in the designs were chosen in order to obtain realistic chronicle contamination levels similar to those observed in sludge and soil (Bancon-Montigny et al., 2001; Huang and Matzner, 2004). Because Keijzer and Loch (1995) demonstrated that TBT sorption increased with the organic carbon content in the soil, the range of amounts of sludge added into the soil was expected to simulate various organic carbon quantity. The pH was also considered because previous study demonstrated that the OTC availability in soil is pH-dependent (Bueno et al., 2001). Moreover and because the possible effect of vegetable roots on OTC fate in soil was important to evaluate, lettuce plants were growth at the same time. Three different experimental durations were considered.

Finally, the temperature and the light exposure were taken into consideration by using at once climatic room and greenhouse for cultures. The temperature and light were fixed in the climatic room, whereas measurements were done every hour in the greenhouse, no control of these parameters being possible there.

Considering all these parameters – controlled and/ or measured – and our temporal and material constraints, the experimentation was organised according to a set of 4 Doehlert design matrices, each containing three factors. Table 4.2 described the whole experimentation. The Doehlert design was chosen because it offers a potential sequencing, allowing a possible *a posteriori* experimental field extension, which is especially interesting when the experimentation is long and the setup not easy (Ferreira et al., 2004).

The corresponding number of experiments included in each design is 13. Each experiment from each design was performed in a 2 kg soil pot under precise conditions and duplicated (see Table 4.3). The whole combination of experiments corresponds to a particular experimental field in which each factor varies according to design rules in order to allow the modelling (Goupy, 1999). Additionally, a blank (i.e. pot with no OTC) was performed for every design in order to check possible contamination.

At the end of each set of experiments (i.e. each experimental design), the soils coming from the pots were placed in the dark at – 20°C until analysis.

In order to determine and evaluate the influence of the studied factors on the fate and distribution of the OTC, two responses, noted I_P (index of preservation), were chosen and defined as followed:

$$I_{P_{TBT}} = \frac{[TBT]_{soil}}{[TBT]_{initial}} \quad I_{P_{TPhT}} = \frac{[TPhT]_{soil}}{[TPhT]_{initial}}$$

with $[TBT]_{soil}$ and $[TPhT]_{soil}$ the concentrations of the corresponding OTC in the soil at the end of the experiment ; $[TBT]_{initial}$ and $[TPhT]_{initial}$, the corresponding calculated OTC initial concentrations in the soil, immediately after sludge/ soil mixing. Similar responses were also calculated for MBT, DBT, MPhT and DPhT, evaluating the final relative concentration of these compounds with regards to the corresponding initial trisubstituted OTC amount.

Table 4.2: Experimental conditions

Name	Designs		
	32L	54L	69L
Vegetable	Lettuce (Appia)		
Initial pH*	5.5	5.5	3.5 to 7.5
Amount of Sludge*	1 to 9 %	1 to 9 %	5 %
[OTC] _{initial} * ($\mu\text{g}(\text{Sn}) \text{kg}^{-1}$)	20 to 50	20 to 50	50 to 150
Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	20 (day) 18 (night)	Variable (6 – 40)	Variable (-2 – 22)
Duration of experiment	32 days	54 days	69 days
$^{\circ}\text{C}$ days **	613	1009	865
Light (mean exposure)	12h00 (day) 12h00 (night)	10h45 (day) 13h15 (night)	8h20 (day) 15h40 (night)
Location of experiment	Climatic chamber	Greenhouse	Greenhouse

* in soil

** The degree-day value ($^{\circ}\text{C}$ day) corresponds to the quantity of heat that the soil received during the experiment. It is calculated by the difference between the mean temperature of the day and a reference temperature value (5°C in agriculture).

2.3. Analytical description

2.3.1 Extraction

The first analytical step is the OTC extraction from the solid matrix (soil/sludge mixture). The procedure used was previously optimised and validated. It is described elsewhere (Bancon-Montigny, 2000). Briefly, 0.5 – 2 g of freeze soil were introduced into a capped 50mL polycarbonate tube with 20 mL of glacial ethanoic acid. The sample / acid mixture was shaken for 12 hours at 400 rpm, and then centrifuged at 4000 rpm for 15 minutes.

2.3.2 Derivatisation

This step is required in order to have organotin compounds under suitable forms for gas chromatography analysis. 1 - 5 mL of the supernatant obtained after extraction was introduced directly into the derivatisation reactor. Ethylation was performed in 100 mL of sodium ethanoate/ethanoic acid buffer (pH = 4.8) with 0.5 mL of NaBEt₄ (0.2 %) and 1 mL of isooctane. The mixture was shaken at 400 rpm on a mechanical table for 30 min. Then, 2 μ L of the organic phase were directly taken for analysis.

2.3.3 Quantitation

Tripropyltin, TPrT, was used as internal standard. The TPrT relative chromatographic responses of butyl- and phenyltin compounds were first calculated from soil / sludge mixture samples by standard additions. The internal standard procedure was then applied to all the aliquots (i.e. extracts) obtained from the same sample and extracting procedure.

All organotin concentrations reported in this paper are expressed as the mass of Sn per mass of dry sample (μ g (Sn) kg⁻¹).

2.3.4 Apparatus

Organotins were determined using a Varian 3800 gas chromatography (Palo Alto, CA, USA) equipped with a pulsed flame photometric detector (PFPD) and a Varian 1079 split/splitless temperature programmable injector. The separation was carried out on a capillary column (30 m X 0.25 mm I.D.) coated with methylsilicone (0.25 μ m film thickness) (Quadrex, New Heaven, CT, USA). Nitrogen was used as a carried gas, with a flow rate of 1 ml min⁻¹. The following temperature program was necessary to conveniently separate the organotin compounds: the column temperature was held at 80°C for the first minute, increased to 180°C at the rate of 30°C min⁻¹, then to 270°C at 10°C min⁻¹, and finally held at this temperature for 2 minutes. The detector was operated at 350 °C with an air/hydrogen flame (Bancon-Montigny, 2000).

2.3.5 Chemicals

Hydrochloric (36-38 %), nitric (65 %) and ethanoic (99-100 %) acids, sodium acetate (99 %), ethyl acetate (99,6 %), methanol (99,8 %) were purchased from Atlantic Labo (Eysines,

France). Isooctane was obtained from Fluka Chemie GmbH (Buchs, Switzerland). The Milli-Q water used was 18M Ω (Millipore system).

Sodium tetraethylborate (NaBEt₄, min 98 %) was obtained from Strem Chemicals (Bisheim, France). The working solution was made daily by dissolving 0.02 g in 1mL of Milli-Q water and then stored at +4°C in the dark. Glassware was rinsed with Milli-Q water, decontaminated for 3 days in 10% (v/v) nitric acid solution and then rinsed again three times with Milli-Q water.

Monobutyltin trichloride (MBT, 95%), dibutyltin dichloride (DBT, 97%), tributyltin chloride (TBT, 96%), monophenyltin trichloride (MPhT, 98%), diphenyltin trichloride (DPhT, 96%), triphenyltin chloride (TPhT, 95%) were purchased from Aldrich (Milwaukee, WI, USA). Tripropyltin chloride (TPrT, 98%) was obtained from Strem Chemicals (Bisheim, France).

The organotin stock solutions containing 1000 mg L⁻¹ as tin were prepared in methanol. Stored at + 4°C in the dark, they were stable for one year. Working standards were obtained by dilution in methanol weekly for solution of 10 mg L⁻¹ and daily in water for 100 μ g L⁻¹. They were stored at + 4°C in the dark.

2.3.6 Analytical validation

The whole analytical process, from extraction of OTC contained in soil or sludge to final GC-PFPD analysis was validated and the analytical performances evaluated previously (Bancon-Montigny et al., 2000). Briefly, the limits of detection range over 1 to 5 μ g(Sn) kg⁻¹ and repeatability around 5-10 %. Prior analysis, the method accuracy (trueness and precision (AFNOR, 1994)) was controlled again by using soil and sludge samples spiked with TBT, TPhT and their degradation products. The recoveries over the whole analytical process were found to be ranged over 80-100%.

2.4. Data Analysis

The effects of each factor and interaction and their respective precision were evaluated by mean of the experimental design method, according to least squares constraint.

A factor or an interaction was considered as significant if its effect, in absolute value, was higher than the precision. The precision was calculated from four replicates of the “0” experiment at the centre of the experimental field (noted “0”) from each experimental design.

It also allowed any bias to be prevented. For each design, a model (i.e. a regression chosen as a second order polynomial model with quadratic terms) was proposed on the basis of influent factors. It was validated by a variance analysis according to Fisher–Snedecor statistics (in a chosen 95% confidence level) (Lespes et al., 1998).

Data analysis and modelling were performed using PLEX software developed in the laboratory and previously validated (Lespes et al., 1998). The corresponding mathematical expression was assumed to empirically describe relationships between the responses, Y (i.e. index of preservation (IP), or organotin concentration (e.g. [TBT] or TPhT)) and the experimental factors Xi. These relationships allow the conversion of the experimental data into continuous information over the whole experimental field.

3. Results and discussion

3.1. OTC distribution between liquid and solid phases in the spiked sludge

Before processing to the different experimental designs, leaching test were achieved on spiked sludge. These experiments were carried out in order to assess the distribution of TBT and TPhT between the solid part of the sludge and the corresponding solution, before sludge/soil mixing.

Various OTC concentrations were considered, according to the spiking values given in Table 4.3. The ratios between the TBT or TPhT amounts in solid and liquid phases respectively were evaluated from these experiments. They were calculated after each leaching run, by cumulating the respective amounts obtained from all the previous leaching runs. They are called solid/ aqueous ratios and noted FP.

Table 4.3: Description of the Doelhart design experiments relative to the soil conditions

Exp	Sludge (g)	Designs				
		32L and 54L		pH	69L	
		[TBT] * ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	[TPhT] * ($\mu\text{g kg}^{-1}$)			[TBT] * ($\mu\text{g kg}^{-1}$)
1	100	35	35	5.5	100	100
2	180	35	35	7.5	100	100
3	140	48	35	6.5	150	100
4	60	48	35	4.5	150	100
5	20	35	35	3.5	100	100
6	60	22	35	4.5	50	100
7	140	22	35	6.5	50	100
8	140	39	47	6.5	117	150
9	60	39	47	4.5	117	150
10	100	26	47	5.5	65	150
11	140	31	23	6.5	82	50
12	60	31	23	4.5	82	50
13	100	44	23	5.5	134	50

* The concentrations are calculated from the amount of OTC brought to the soil.

Because TBT and TPhT were simultaneously present in the spiked sludge, the possible competition of solid/ liquid distribution between these 2 species has to be taken into consideration (Bancon-Montigny et al., 2001). So, the data were first treated according to the [TBT]/ [TPhT] ratio. However, the solid/ liquid distribution for both TBT and TPhT does not appear to depend on this ratio, in the range 0.5 - 1.5 considered in our experimental field.

According to these results, the variations of the solid/liquid ratios of both TBT and TPhT are presented in Figure 4.1. On this figure, it can be noticed that F_p is decreasing a lot when the initial TBT concentration in sludge is ranged over 400 - 700 $\mu\text{g}(\text{Sn}) \text{kg}^{-1}$, whatever the leaching run number considered. The percentage of TBT sorbed on solid phase is always very

important, even after the fourth leaching run (over 98%, except when the initial TBT concentration = 3500 $\mu\text{g}(\text{Sn}) \text{kg}^{-1}$ sludge, corresponding to 85% sorbed). These results show that TBT is mainly in the solid phase, whatever its initial concentration and the number of leaching runs. More generally, these data confirm that the major part of the TBT was introduced into the soil via the solid part of the sludge. This compound appears strongly fixed onto the sludge, especially at low concentration. In these conditions, only a minor part, present in the liquid, could reach directly the soil phases immediately after the sludge/ soil mixing.

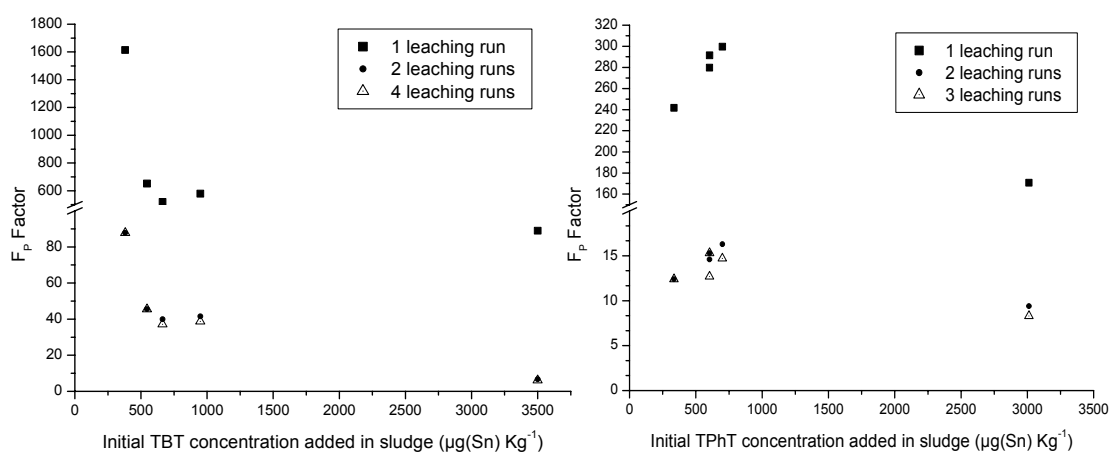


Figure 4.1: Ratio between TBT and TPhT amounts in solid and aqueous phases (F_p) as a function of the initial OTC concentration, according to the leaching run number

Unlike TBT, the relative TPhT amount remaining in aqueous phase after several consecutive leaching runs (or TPhT solid/ liquid distribution) does not appear so highly dependant on the initial TPhT amount added in the sludge (Figure 4.1). Thus, the corresponding F_p varies slightly (e.g. between 15 and 8.5, after two leaching runs). TPhT appears always mainly present in the solid phase: around 90% after the fourth leaching run, whatever the concentration. However, it could be more quantitatively released to the soil as TPhT, F_p appears generally significantly less important than TBT one. Finally, these experiments confirm that the sludge shows different affinity for TBT and TPhT (Le Hécho *et al.*, 2005).

3.2. OTC fate in the soil: speciation, temperature and time influence

The TBT and TPhT concentrations at the end of each experiment of the designs have been reported in Figure 4.2, as a function of the initial trisubstituted spiking concentrations. The degradation compounds (MBT, DBT, MPhT and DPhT) are also plotted. The typical distributions of the butyl and phenyltin compounds in the soil at the end of the experiments are presented in Table 4.4.

Table 4.4: Mean Butyl- and Phenyltin distributions at the end of the experimentation.

°C days	Concentration \pm standard deviation ($\mu\text{g}(\text{Sn}) \text{kg}^{-1}$)							
	(Percentage \pm standard deviation(%))							
	Σ Butyls	TBT	DBT	MBT	Σ Phenyls	TPhT	DPhT	MPhT
613	46 \pm 5 (91 \pm 9)	40 \pm 8 (80 \pm 15)	6 \pm 2 (11 \pm 3)	0 \pm 2 (0 \pm 3)	44 \pm 4 (87 \pm 7)	20 \pm 5 (40 \pm 10)	11 \pm 2 (22 \pm 4)	13 \pm 2 (25 \pm 4)
865	49 \pm 2 (98 \pm 4)	39 \pm 3 (78 \pm 6)	9 \pm 2 (17 \pm 3)	2.0 \pm 0.5 (4 \pm 1)	42 \pm 3 (83 \pm 6)	12 \pm 3 (23 \pm 6)	10 \pm 2 (19 \pm 3)	21 \pm 3 (42 \pm 6)
1009	48 \pm 2 (97 \pm 4)	32 \pm 3 (63 \pm 5)	12 \pm 2 (23 \pm 3)	6 \pm 2 (11 \pm 3)	47 \pm 3 (94 \pm 5)	11 \pm 1 (21 \pm 2)	8 \pm 2 (15 \pm 4)	29 \pm 2 (58 \pm 4)

Experimental conditions: Initial TBT or TPhT concentration in soil: 50 $\mu\text{g}(\text{Sn}) \text{kg}^{-1}$; pH = 5.5 ; amount of sludge: 100 g/ 2 kg soil

In soil, TBT appears generally few degraded and represents the predominant butyltin species (60% - 80 %), whatever the experimental conditions considered. However, degradation products are always present, whatever the initial TBT concentration. Furthermore, it is interesting to notice the differences of variation profiles of final concentrations according to the range of initial concentrations. Thus, in the figure 4.2A and B, the variation can be fitted by logarithmic curves ($[\text{TBT}]_x = 9.9 * \ln([\text{TBT}]_0 - 16)$, with $x = 32$ or 54 days, $0 = \text{initial}$; $R^2 = 0.70$ and 0.81 for 32 and 54 days respectively). It suggests that the preservation is strongly dependent on the initial concentration in the soil only when this concentration is very low ($< 25 \mu\text{g}(\text{Sn}) \text{kg}^{-1}$). At the opposite, for higher initial TBT concentration (over 30 or $45 \mu\text{g}(\text{Sn}) \text{kg}^{-1}$), the variation is linear ($R^2 = 0.95$) suggesting no or weaker influence of the initial TBT concentration.

For TPhT, more degradations are observed (20 to 40% preserved). They logically appear to depend on both temperature and duration of the experiment (or degrees days, as defined in Table 4.2) (see Figures 4.2B and C).

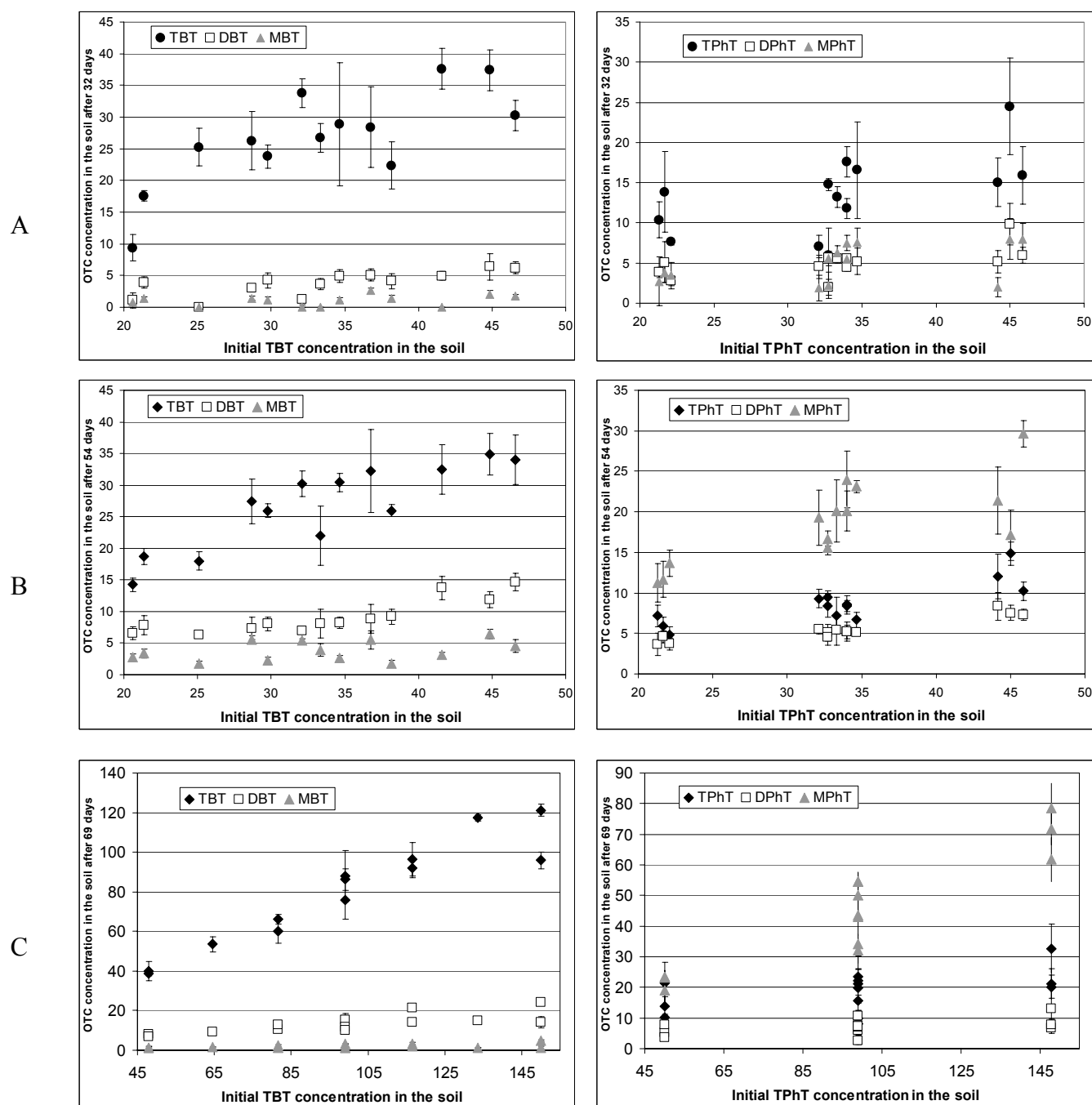


Figure 4.2: Final TBT and TPhT speciation according to the initial concentration in soil (in $\mu\text{g}(\text{Sn}) \text{kg}^{-1}$) after sludge/ soil mixing and experiment type A) 32 days in climatic chamber, B) 54 days in greenhouse and C) 69 days in greenhouse

As shown in table 4.4, about 100% of the initial TBT were found under butyltin forms in the soils at the end of all the experiments. It means that no significant transformation into mineral tin or volatile species occurred for the butyltins. The phenyltin recovery remains sometimes slightly lower, and several possibilities can be suggested:

- Significant biotransformations given volatile species could occur. Complementary experiments made in a hermetically-closed experimental system did not allow the detection of any volatile OTC species in the atmosphere.
- Furthermore, in our experiment, none of these species can be detected during soil analysis. Considering the analytical limits of detection, these different results demonstrate that in our experimental conditions, biotransformation into volatile species is not the reason why the phenyltin recovery is significantly lower than 100% for most of the experiments.
- A possible phenyltin degradation until mineral Sn. This last hypothesis seems to be the most probable.

In order to examine the rates of TBT and TPhT degradation, the variations of trisubstituted concentrations can be considered according to the temperature and duration (or degrees days). Thus, a clear degradation profile can be emphasised for both TBT and TPhT (see Table 4.4). On the other hand, the light effect could not be evidenced in our experimental conditions. These results confirm that OTC degradation is more quantitative for TPhT than TBT, as previously shown by some authors (Barug and Vonk, 1980; Huang and Matzner, 2004). According to these data, 50% of TPhT could be degraded before 600°C days (which correspond to 30 days at 18 - 20 °C). TBT is widely persistent, the 50% of degradation seeming to be never significantly reached.

According to the data available in the literature, the question about TBT and TPhT mechanisms of degradation can be raised again. From the results presented in Table 4.4, successive TBT debutylations clearly occur. DBT remains the main degradation product, whatever the experimental conditions (duration and temperature especially). This observation suggests that DBT → MBT has a very slow degradation kinetics.

For TPhT degradation, the process appears different because the dephenylations are more important. DPhT and MPhT concentrations are of the same order of magnitude for 613 °C days (32L design). Over 865 °C days, MPhT appears as the predominant degradation product. Similarly to TBT desalkylations, the possibility of successive desarylations should be also considered (Stasinakis *et al.*, 2005). However, MPhT appears to be accumulated, according to

degrees days. So, the different steps of degradation could have different kinetics. Thus, TPhT \rightarrow DPhT \rightarrow MPhT transformations would be the fastest processes with regards to MPhT \rightarrow Sn^{IV} which appears widely as the slowest one. These hypotheses are in agreement with previous observations from aquatic environmental monitoring, where MPhT is often the predominant species (Bancon-Montigny *et al.*, 2004).

3.3. Sludge amount and OTC concentration influence on the OTC preservation

Owing the experimental design methodology, the effects of the physico- chemical factors and their interactions on the OTC preservation (represented by I_p) as well as the final OTC concentrations could be evaluated.

The calculations show that strong interactions exist between the sludge amount initially introduced in the soil and the initial OTC concentrations (Figure 4.3). It means that the effect of the initial TBT (or TPhT) concentration on TBT (or TPhT) preservation also depends on the sludge quantity in the soil. For high TBT concentration, a high amount of sludge promotes the TBT preservation. Unlike TBT, high TPhT concentration is negatively related to sludge amount. Consequently, its preservation is promoted by low-sludged soil. However, for both triorganotins, this effect is decreasing according to the degrees days. This observation could be connected directly to the spiking procedure. Thus, the OTC were introduced into the soil mainly via the solid part of the sludge, as previously shown. Consequently, it could indicate that both TBT and TPhT first remained significantly in sludge solid phase. Then, their partition between the different solid and liquid phases in the sludge/ soil mixture depended on the different exchanges occurring at solid/ liquid interfaces. These different phenomena would influence directly the fate and especially the preservation of TBT and TPhT.

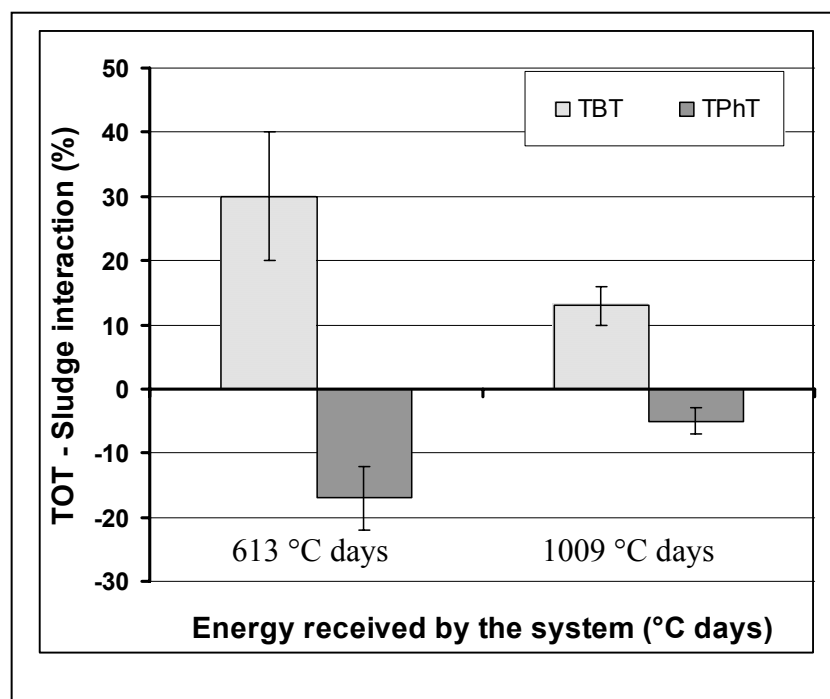


Figure 4.3: Relative effect of the interaction between sludge and triorganotin on OTC preservation (expressed in %). A positive (or negative) interaction means that, at once, high TOT concentration and high sludge amount promote (or affect) the OTC preservation.

According to the figure 4.4, the TBT preservation first decreases when its concentration increases until around 700-800 $\mu\text{g}(\text{Sn}) \text{kg}^{-1}$ in sludge. This phenomenon could be explained by the TBT availability, and so its distribution between the liquid and solid phases. Over 1000 $\mu\text{g}(\text{Sn}) \text{kg}^{-1}$ in sludge, I_p increases (right part of figure 4.4) showing a less TBT degradation. As observed elsewhere, a TBT biocide effect could occur also (Dubascoux, 2004). Then, the consequence would be a more quantitative preservation of this organotin.

Concerning TPhT, the design calculations confirm that its initial concentrations either in soil or even in sludge had no significant influence on its preservation and final concentration in soil, in the present experimental conditions. The TPhT degradation remains important, I_p never exceeding 0.65, i.e. 65% of TPhT preserved. These observations can be connected to the initial TPhT distribution in sludge, which is nearly constant, whatever its concentration. Moreover, TPhT appears more quantitatively and easily released from the sludge after water-leaching, indicating it is probably more available than TBT (Le Hécho *et al.*, 2005).

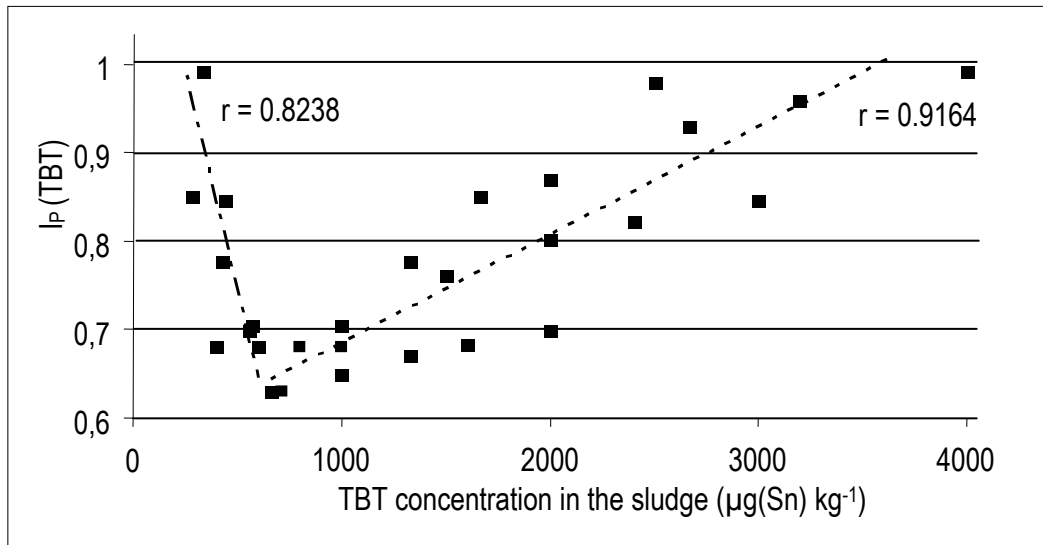


Figure 4.4: Evolution of modelled I_p (TBT) as a function of initial TBT concentration in sludge. The dashed lines are correlation test.

3.4. pH influence on the OTC preservation

According to the literature, the pH has a significant influence on the sorption and solid/ liquid distribution of the OTC (Behra *et al.*, 2003; Hoch *et al.*, 2003; Arnold *et al.*, 1998; Bueno *et al.*, 1998; Weidenhaupt *et al.*, 1997). From the different sets of data obtained, the persistence of both TBT and TPhT appears also pH-dependant, being generally higher when the soil pH is high, as shown in Figure 4.5.

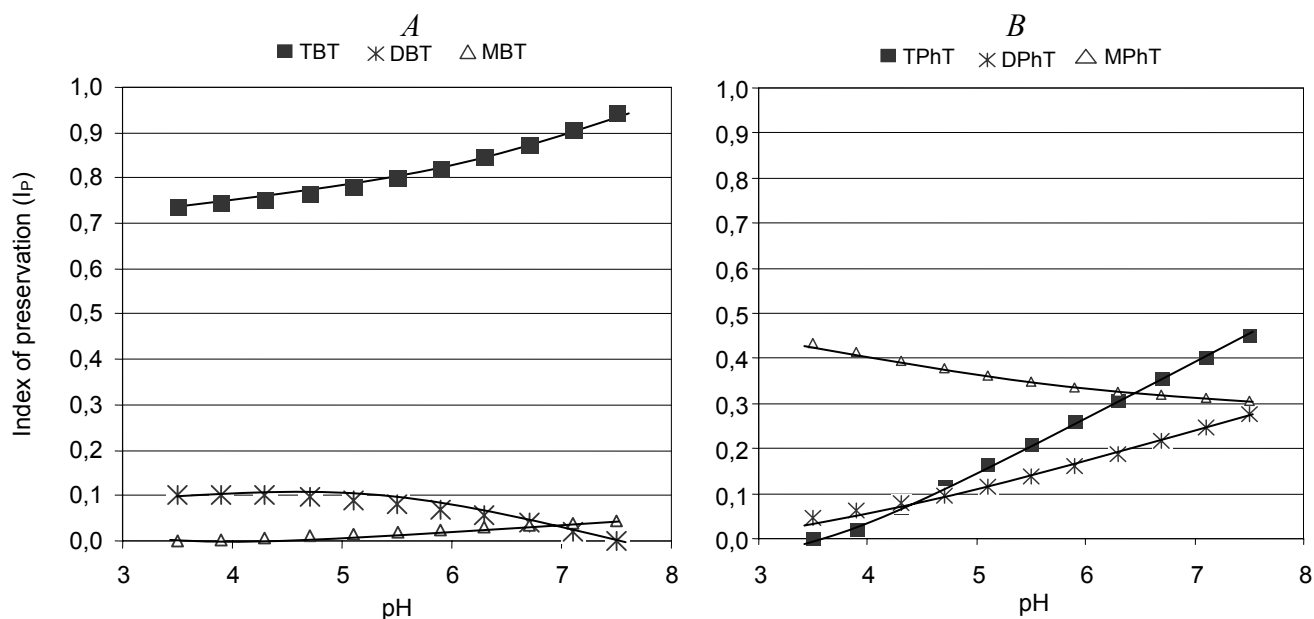


Figure 4.5: Influence of pH on butyl- and phenyltin preservation (values calculated with experimental designs model; initial TBT and TPhT concentrations: A) 50 and 150 and B) 150 and 50 $\mu\text{g}(\text{Sn}) \text{kg}^{-1}$ in soil, respectively). The lines represent the regression fits.

As the result of degradation process, the variation of OTC speciation in soil is also pH-dependent. Thus, DBT appears present only at low pH. In the same time, $I_P(\text{TBT})$ decreases, which could be linked to the important TBT mobility as shown in various works (Bueno *et al.*, 1998; Behra *et al.*, 2003). The plotted MBT relative concentration is not really significant since it remains very low. The mean experimental values of MBT, DBT and TBT concentrations expressed in percentage are 2.2, 14.0 and 84.0 % respectively, which is in accordance with the values presented in Table 4.4 (865°C days, fourth line).

The pH has more influence on the phenyltin distribution, the TPhT and DPhT relative concentrations increasing simultaneously according to the pH. However, MPhT remains generally the main TPhT degradation product (around 30-50% according to the experimental conditions), whatever the pH.

According to Figure 4.5, TBT, TPhT and DPhT are the most pH-sensitive. Consequently, the key step of degradation processes (in terms of faster kinetics and/ or quantitiveness) could be the TBT/DBT and TPhT/DPhT/MPhT transformations respectively, as previously observed at fixed pH equal to 5.5. Finally, all these observations show that some changes in soil pH do not lead to simply influence the importance of both TBT and TPhT degradations but also those of their main degradation products.

On the other hand, the pH effect varies according to the initial OTC amounts in soil. Furthermore, the pH-dependence of TPhT persistence appears also directly connected to its initial concentration. As a consequence, when both TBT and TPhT concentrations are low (e.g. $\leq 50 \mu\text{g}(\text{Sn}) \text{kg}^{-1}$ in soil for each species), no pH effect is noticed neither on $I_p(\text{TBT})$ nor $I_p(\text{TPhT})$. Then, these preservation indexes appear maximum, respectively equal to 0.95 ± 0.05 and 0.40 ± 0.05 . This observation could be explained by a quantitative sorption limiting the environmental availability with regards to biodegradation. Finally and whatever the conditions of pH and concentrations, TBT is always widely less degraded than TPhT (around 20 and 85 % mean degradations respectively over the whole experimental field).

4. Conclusion

The way of introducing the organotin into the soil via a sludge has significant consequences on the persistence of these toxic species. This is widely due to the initial solid/ liquid distribution of OTC in sludge before mixing with the soil. This partition directly influences their availability in soil and so their persistence. TBT appears very quantitatively and strongly sorbed on sludge, whatever the initial TBT amount in contact with the sludge. In these conditions and because TBT could have a significant biocide effect when its concentration becomes sufficient, this triorganotin is few degraded. Thus, more than 60% of this compound are generally always present in soil at the end of the experiments, corresponding to the highest degrees days (1009°C days). Although TPhT is also mainly sorbed on sludge, it seems more quantitatively and easily exchangeable at the solid/ liquid interface. As a consequence, TPhT is significantly degraded in sludged soil, until 80% being transformed into DPhT and especially MPhT. MPhT appears widely more persistent than TPhT.

Initial OTC amounts in sludge and pH have been confirmed to influence the OTC availability for degradation in soil. Over pH 7 and $50 \mu\text{g}(\text{Sn}) \text{kg}^{-1}$ concentrations, the triorganotin preservation is maximum in our experimental conditions. Nevertheless, when the sludge and consequently the soil is low contaminated by triorganotins, the pH has no effect, the respective TBT and TPhT preservation also appearing as maximum in these conditions.

Finally, the direct spreading of sludge low-contaminated by triorganotins on agricultural soil can lead to an important persistence of TBT especially and MPhT as well. This information is particularly important considering the significant contamination of urban sludge by these compounds in concentrations corresponding to the critical ones found in the present study. It

also confirms the results from different works establishing the presence of OTC in soil, even after a long time following their introduction. To determine the risk of vegetable contamination, further experiments are in process to evaluate the plant uptake of TBT and TPhT contaminants.

5. Acknowledgments

The authors gratefully acknowledge the financial support of ADEME (Agence De l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie) and the regional Council of Aquitaine. They also want to thank the EPURETEC society for the treatment plant access.

6. References

- AFNOR, 1992. Déchets : essai de lixiviation. AFNOR X 31-210.
- AFNOR, 1994. Application de la statistique. Exactitude (justesse et fidélité) des résultats et méthodes de mesure. AFNOR NF ISO 5725.
- Arnold, C.G., Berg, M., Müller, S.R., Dommann, U., Schwarzenbach, R.P., 1998. Determination of organotin compounds in water, sediment, and sewage sludge using perdeuterated internal standards, accelerated solvent extraction, and large-volume-injection GC/MS. *Anal. Chem.* 70, 3094-3101.
- Bancon-Montigny, C., Le Hécho, I., Lespes, G., Potin-Gautier, M., 2001. Mobilité des composés organostanniques : transfert eaux usées - boues d'épuration - eaux de ressource. GRUTEE, 4ème Congrès International sur la mobilité et les traitements des polluants dans l'environnement, Limoges, France.
- Bancon-Montigny, C., Lespes, G., Potin-Gautier, M., 2004. Organotin survey in the Adour-Garonne basin. *Water Res.* 38, 933-946.
- Bancon-Montigny, C., Lespes, G., Potin-Gautier, M., 2000. Improve routine speciation of organotin compounds in environmental samples by pulsed flame photometric detection. *J. Chromatogr. A* 896, 149-158.
- Barnes, R.D., Bull, A.T., Poller, R.T., 1973. Studies on the persistence of the organotin fungicide Fentin acetate (triphenyltin acetate) in the soil and on the surfaces exposed to light. *Pestic. Sci.* 4, 305-317.

- Barug, D., Vonk, J.W., 1980. Studies on the degradation of bis(tributyltin) oxide in soil. *Pestic. Sci.* 11, 77-82.
- Behra, P., Lecarme-Théobald, E., Bueno, M., Ehrhardt, J.J., 2003. Sorption of tributyltin onto a natural quartz sand. *J. Coll. Interf. Sci.* 263, 4-12.
- Brémont, P., 2004. Etat des lieux des teneurs en organoétain dans différents compartiments environnementaux. Université de Pau et des Pays de l'Adour, Pau.49 pp.
- Bueno, M., Astruc, A., Astruc, M., Behra, P., 1998. Dynamic sorptive behavior of tributyltin on quartz sand at low concentration levels: effect of pH, flow rate, and monovalent cations. *Environ. Sci. Technol.* 32, 3919-3925.
- Bueno, M., Astruc, A., Lambert, J., Astruc, M., Behra, P., 2001. Effect of solid surface composition on the migration of tributyltin in groundwater. *Environ. Sci. Technol.* 35, 1411-1419.
- Carlier-Pinasseau, C., Lespes, G., Astruc, M., 1997. Determination of butyl- and phenyltin compounds in sediments by GC-FPD after NaBEt₄ ethylation. *Talanta* 44, 1163-1171.
- Dowson, P.H., Bubb, J.M., Lester, J.N., 1993. A study of the partitioning and sorptive behaviour of butyltins in the aquatic environment. *Appl. Organomet. Chem.* 7, 623-633.
- Dowson, P.H., Bubb, J.M., Lester, J.N., 1996. Persistence and Degradation Pathways of Tributyltin in Freshwater and Estuarine Sediments. *Estuar. Coast. Shelf S.* 42, 551-562.
- Dubascoux, S., 2004. Etude de la dégradation des organoétains dans un sol. Université de Pau et des Pays de l'Adour, Pau.26 pp.
- Dubey, S.K., Roy, U., 2003. Biodegradation of tributyltins (organotins) by marine bacteria. *Appl. Organomet. Chem.* 17, 3-8.
- Fent, K. Organotin compounds in municipal wastewater and sewage sludge: contamination, fate in treatment process and ecotoxicological consequences. *Science of The Total Environment* 1996, 185, 151-159.
- Ferreira, S.L.C., dos Santos, W.N.L., Quintella, C.M., Neto, B.B., Bosque-Sendra, J.M., 2004. Doehlert matrix: a chemometric tool for analytical chemistry—review. *Talanta* 63, 1061-1067.
- Harino, H., Fukushima, M., Kurokawa, Y., Kawai, S., 1997. Susceptibility of bacterial populations to organotin compounds and microbial degradation of organotin compounds in environmental water. *Environ. Poll.* 98, 157 -162.
- Héninger, I., Potin-Gautier, M., Astruc, M., Galvez, L., Vignier, V., 1998. Speciation of selenium and organotin compounds in sewage sludge applied to land. *Chem. Speciat. Bioavail.* 10, 1-10.

-
- Hoch, M., 2001. Organotin compounds in the environment -- an overview. *Appl. Geochem.* 16, 719-743.
 - Hoch, M., Alonso-Azcarate, J., Lischick, M., 2003. Assessment of adsorption behavior of dibutyltin (DBT) to clay-rich sediments in comparison to the highly toxic tributyltin (TBT). *Environ. Poll.* 123, 217-227.
 - Huang, G., Dai, S., Sun, H., 1996. Toxic effects of organotin species on Algae. *Appl. Organomet. Chem.* 10, 377-387.
 - Huang, J.H., Schwesig, D. and Matzner, E., 2004. Organotin compounds in precipitation, fog and soils of a forested ecosystem in Germany. *Environ. Poll.* 130, 177-186.
 - Huang, J.H., Matzner, E., 2004. Degradation of organotin compounds in organic and mineral forest soils. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 167, 33-38.
 - Kannan, K., Tanabe, S. and Tatsukawa, R., 1995. Occurrence of butyltin residues in certain foodstuffs. *B. Environ. Contam. Tox.* 55, 510-516.
 - Kannan, K., Lee, R.F., 1996. Triphenyltin and its degradation products in foliage and soils from sprayed pecan orchards and in fish from adjacent ponds. *Environ. Toxicol. Chem.* 15, 1492-1499.
 - Kawai, S., Kurokawa, Y., Harino, H., Fukushima, M., 1998. Degradation of tributyltin by a bacterial strain isolated from polluted river water. *Environ. Poll.* 102, 259-263.
 - Keijzer, T.J.S., Loch, J.P.G., 1995. Accumulation of HNO₃-extractable tin in agricultural and non-agricultural soils by use of triphenyltin acetate. *Water Air Soil Poll.* 84, 287-301.
 - Kizlink, K., 2001. Structure-affected bioactivity of triorganotin compounds. *Chem. Pap.* 55, 53-57.
 - Kram, M.L., Stang, P.M., Seligman, P.F., 1989. Adsorption and desorption of tributyltin in sediments of San Diego bay and Pearl Harbor. *Appl. Organomet. Chem.* 3, 523-536.
 - Lalanne, F., 2001. Etude du transfert des organoétains dans le système eau/sol/plante. Université de Pau et des Pays de l'Adour, Pau. 25 pp.
 - Landmeyer, J.E., Tanner, T.L., Watt, B.E., 2004. Biotransformation of Tributyltin to Tin in Freshwater River-Bed Sediments Contaminated by an Organotin Release. *Environ. Sci. Technol.* 38, 4106-4112.
 - Langston, W.J., Pope, N.D., 1995. Determinants of TBT adsorption and desorption in estuarine sediments. *Mar. Pollut. Bull.* 31, 32-43.
 - LeHécho, I., Marcic, C., Lespes, G., 2005. Influence of organotin speciation on sorption / desorption kinetics on sludges. 8th International Conference on the Biogeochemistry of Trace Elements, Adelaide, Australia.

- Lespes, G., Dezausier, V., Montigny, C., Potin-Gautier, M., 1998. Optimization of solid-phase microextraction for the speciation of butyl- and phenyltins using experimental designs. *J. Chromatogr. A* 826, 67-76.
- Lespes, G., Marcic, C., Le Hecho, I., Mench, M., Potin-Gautier, M., 2003. Speciation of organotins in French beans and potatoes cultivated on soils spiked with solutions or amended with sewage sludge. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry* 2, ISSN: 1579-4377.
- Maguire, R.J., Tkacz, R.J., Chau, Y.K., Bengert, G.A., Wong, P.T.S., 1986. Occurrence of organotin compounds in water and sediments in Canada. *Chemosphere* 15, 253-274.
- Marcic, C., Lespes, G., Potin-Gautier, M., 2005. Pressurised solvent extraction for organotin speciation in vegetable matrices. *Anal. Bioanal. Chem.* 382, 1574-1583.
- Ministère de l'aménagement du territoire et de l'environnement, 1997. Décret n° 97-1133 du 8 décembre 1997 relatif à l'épandage des boues issues du traitement des eaux usées, Paris, France.
- Nudelman, M.A., Carro, C., Nudelman, N.S., 1998. Effects of tin(IV) chloride and of organotin compounds on aquatic micro-organisms. *Appl. Organomet. Chem.* 12, 67-75.
- Ohtsubo, M., 1999. Organotin compounds and their adsorption behavior on sediments. *Clay Sci.* 10, 519-539.
- Plenet, D., Lemaire, G., 1999. Relationships between dynamics of nitrogen uptake and dry matter accumulation in maize crops. Determination of critical N concentration. *Plant Soil* 216, 65-82.
- Rüdél, H., 2003. Case study: bioavailability of tin and tin compounds. *Ecotox. Environ. Safe.* 56, 180-189.
- Sarradin, P.M., Lapaquellerie, Y., Astruc, A., Latouche, C., Astruc, M., 1995. Long term behaviour and degradation kinetics of tributyltin in a marina sediment. *Sci. Total Environ.* 170, 59-70.
- Simon, S., Bueno, M., Lespes, G., Mench, M. and Potin-Gautier, M., 2002. Extraction procedure for organotin analysis in plant matrices: optimisation and application. *Talanta* 57, 31-43.
- Stang, P.M., Seligman, P.F., 1986. Distribution and fate of tributyltin in sediment of San Diego Bay. In: *Proceedings of the Organotin Symposium. Oceans '86 Conference, Washington, DC, USA.*

-
- Stasinakis, A. S., Thomaidis, N.S., Nikolaou, A., Kantifes, A. 2005. Aerobic biodegradation of organotin compounds in activated sludge batch reactors. *Environmental Pollution* 134, 431-438.
 - Tsang, C.K., Lau, P.S., Tam, N.F.Y., Wong, Y.S., 1999. Biodegradation capacity of tributyltin by two *Chlorella* species. *Environ. Pollut.* 105, 289-297.
 - Watanabe, N., Sakai, S., Takatsuki, H., 1995. Release and degradation half lives of tributyltin in sediment. *Chemosphere* 31, 2809-2816.
 - Watanabe, N., Takatsuki, H., Sakai, S., 1997. Desorption of tributyltin, dibutyltin and zinc from resuspended sediment. *Appl. Organomet. Chem.* 11, 273-279.
 - Weidenhaupt, A., Arnold, C., Müller, S.R., Haderlein, S.B., Schwarzenbach, R.P., 1997. Sorption of organotin biocides to mineral surfaces. *Environ. Sci. Technol.* 31, 2603-2609.
 - Yen, J.H., Tsai, C.C., Su, C.C., Wang, Y.S., 2001. Environmental dissipation of Fungicide Triphenyltin acetate and its potential as a groundwater contaminant. *Ecotox. Environ. Safe.* 49, 164-170.

CHAPITRE 5

LES ORGANOÉTAIENS DANS LES VÉGÉTAUX CULTIVÉS

Dans cette partie, les résultats concernant le transfert et l'accumulation des organoétains par les végétaux sont présentés. Le but est l'estimation de la capacité de bioaccumulation des végétaux et l'importance du prélèvement par la plante des organoétains dans le sol. Pour cela deux indices ont été définis :

- Le Facteur de Transfert (FT), rapport des concentrations d'organoétain dans la plante et dans le sol
- Le Facteur de Prélèvement (FP), rapport des masses d'organoétain dans la plante et dans le sol.

Des expériences préliminaires ont permis de mettre en évidence l'existence du transfert des organoétains du sol vers la plante. Il apparaît aussi que pour des cultures de pommes de terre en présence de TBT et/ou de TPhT apporté via une solution, les tubercules sont contaminés par ces composés et leurs produits de dégradation, les concentrations étant très importantes. Le facteur de bioconcentration maximal atteint 25.

Pour les haricots verts, deux types d'apport ont été réalisés. Soit par une solution contenant du TBT et du TPhT soit par une boue contaminée avec ces composés. Il en ressort que toutes les parties de la plante apparaissent contaminées quelle que soit la voie d'apport.

Ces expériences ont aussi permis de comparer les différents comportements des plantes vis-à-vis du prélèvement des organoétains. Ainsi, l'accumulation dans le végétal dépend directement de la voie d'apport des contaminants (contamination par une boue contenant des OTC ou directement par une solution d'OTC). Enfin, l'incidence de l'âge de la plante sur le transfert sol / plante et la translocation dans la plante ont pu être mis en évidence, la plante jeune prélevant plus.

Par la suite, nous avons mis en place des cultures de haricots verts et de laitues sur un sol amendé par des boues de station d'épuration dopées en organoétains. Le but de ces expériences a été d'estimer la capacité de bioaccumulation des végétaux et l'importance du prélèvement des organoétains. La finalité de ce travail était d'avoir une première approche des mécanismes de prélèvement des OTC par la plante, de montrer le devenir des organoétains au sein du végétal et d'évaluer l'influence des différents paramètres physico-chimiques sur le transfert au végétal.

Plusieurs plans d'expériences ont été mis en place pour étudier l'influence des facteurs suivants sur le prélèvement d'organoétains par la plante :

- la quantité de boue de station d'épuration ou le pH
- les concentrations de TBT et de TPhT

Concernant les haricots verts cultivés sur le sol contenant la boue dopée, on remarque que la plante prélève des quantités non négligeables d'organoétains dans le sol. Les quantités d'organoétains dans les racines sont très largement supérieures à celle retrouvées dans les parties aériennes. Le TPhT apparaît en concentration plus importante que le TBT pour des durées de culture plus courtes.

Concernant les laitues, on observe également des quantités non négligeables d'organoétains dans les feuilles et les racines. D'après les facteurs de prélèvement, et pour des faibles quantités d'énergie reçues par la plante (DJC d'environ 450, paramètre tenant compte de la durée de culture et de la température), le TPhT est plus prélevé que le TBT, car peu encore dégradé dans le sol. Comme pour le haricot vert, les racines de laitue accumulent une quantité beaucoup plus importante d'organoétains que les parties aériennes.

L'exploitation des plans d'expériences permet de montrer que le pH du sol n'a aucune influence sur ce prélèvement. Ce résultat pourrait être dû à l'étroitesse de la gamme de pH étudiée. La quantité de boue quant à elle, n'a pas d'effet sur les facteurs de prélèvement pour la durée de culture la plus courte (32 jours).

La concentration initiale en OTC dans le sol a une influence positive sur la bioaccumulation dans la plante : plus la concentration initiale est grande, et plus on retrouve d'organoétains dans la plante. Cette relation est linéaire, ce qui semblerait indiquer que la biodisponibilité vis-à-vis de la plante dépend également directement des conditions initiales et des apports.

Finalement, la quantativité du prélèvement d'un OTC par le végétal apparaît fortement liée non seulement au devenir de ce composé dans le sol mais aussi à sa nature. Ainsi, après quelques semaines de culture seulement, et lorsque le TBT et le TPhT sont encore présents en quantités similaires dans le sol, le TPhT est largement plus prélevé par la plante. Par contre à durée de culture plus grande, le TBT apparaît encore transféré vers le végétal, ce qui n'est plus le cas du TPhT, probablement à cause de sa dégradation importante dans le sol. En ce qui concerne leurs produits de dégradation, le MBT et le DBT semblent pouvoir être prélevés par la plante. Cependant, leurs concentrations dans le végétal restent faibles à cause de leurs

faibles concentrations dans le sol. Le MPhT et le DPhT apparaissent très peu disponibles vis-à-vis de la plante. Dans l'ensemble, ces produits étant peu (voire pas) présents, il semble que les phénomènes de dégradation au sein du végétal aient été limités, dans nos conditions expérimentales.

Article:**Speciation of organotins in French beans and potatoes cultivated on soils spiked with solutions or amended with a sewage sludge**G. Lespes¹, C. Marcic¹, I. Le Hecho¹, M. Mench² and M. Potin-Gautier¹¹Group of Analytical Chemistry - LCABIE- UMR 5034, Avenue de l'Université, 64000 Pau, France²Institut National de la Recherche Agronomique, Centre Bordeaux Aquitaine, BP 81, 33883 Villenave d'Ornon cedex, FranceArticle paru dans *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, **2003**, 2 (3), ISSN : 1579-4377.**Abstract**

The speciation of organotins was used to study their behaviour in two vegetables cultivated on a sandy soil spiked with solutions of either triphenyltin (TPhT) or tributyltin (TBT), and on a sludged soil. According to actual contamination levels in waters and sludged soils, organotin supply in soil amounted from some μg up to $20 \mu\text{g}(\text{Sn})/\text{kg}$. The analyses were made using an analytical method previously developed for speciation analysis in an aquatic plant and French beans. It consists in an acidic extraction of analytes from the plant material, followed by an aqueous ethylation/ liquid-liquid extraction (LLE)/ gas chromatography- pulsed flame photometry (GC-PFPD). Solid phase micro-extraction (SPME) can be used as an alternative to the classical LLE. This analytical method was checked for potatoes analysis before use. Organotins were detected in the shoots of French beans, mean concentrations being about 10-15 $\mu\text{g}(\text{Sn})/\text{kg}$ dry weight (DW) . No degradation of the pollutant species could be noticed. Important accumulation was established in potato tubers, ranging from 60 to 2200 $\mu\text{g}(\text{Sn})/\text{kg}$ DW. Debutylation or dephenylation phenomena were observed, degradation products being 80 and 50% respectively of the trisubstituted compound originally added into the soil.

Keywords: Speciation, GC-PFPD, organotins, vegetable, soil, sewage sludge, plant uptake

1. Introduction

The extensive use of organotin compounds (OTC) in a lot of domestic and industrial products leads to the presence of these toxic species in all environmental media [1-4]. These compounds are detected in sewage sludges, freshwaters, sediments, and soils, at various concentrations ranging from some ng up to some $\mu\text{g}(\text{Sn})/\text{L}$ in freshwaters [5, 7]. In river waters, butyltins are the major fraction of present OTC. However, phenyltins have been also found [8, 9]. In the same time, the ecotoxicological impact of OTC has been recognised. Above some $\text{ng}(\text{Sn})/\text{L}$ in water, the most toxic species, tributyltin (TBT) and triphenyltin (TPhT) can affect living organisms.

Irrigation waters, coming from river, can contribute to expose cultivated plants to organotins. A lot of pesticides (acaricides, fungicides...) contain compounds such as triphenyltin (TPhT). Plant treatment with such preparation directly exposes plant shoots to OTC. Moreover, atmospheric dispersion of pesticides occurring during spraying could contribute to diffuse OTC widely. Consequently, aquatic and terrestrial plants may be contaminated. The phytoaccumulation can be very high, with concentration ratios between (2 to 4). 10^4 for different types of algae [10, 11]. Aquatic plants growing in effluents of urban treatment plants are polluted by butyltins, but fruits and vegetables also have been found contaminated by organotin-based pesticides [11, 12]. For example, between 0.03 to 0.13 mg (total Sn)/kg DW were found in some vegetables, highest concentrations being in lentils, potato tubers, chicory, and carrots; about 3 μg fentin/kg DW (TPhT) were detected in commercialised potato tubers [13, 14]. Phenylated species were also found in pecan leaves: ten days after spraying with a TPhT hydroxyde solution, leaf samples contained from 6 to 50 mg/kg of the three mono-, di- and triphenylated species respectively [15]. In this case, the dephenylation process seems rapid, since 66% of TPhT were degraded in mono- and especially diphenyltin. However, concentrations remained very high, particularly for the high-toxic TPhT. Butyl- and phenyltins have been determined in French beans after hydroponic culture in presence of TBT and TPhT [11]. These results demonstrate that OTC can be transferred and concentrated into plants after root uptake.

Soils cultivated with plant species treated by organotin pesticides are contaminated by some $\mu\text{g}/\text{kg}$ up to some mg /kg of these pollutants as well [15, 16, 17]. Sewage sludges spread on agricultural fields are another potential source of soil contamination [18]. This way of

organotin diffusion could be important because sewage sludges are systematically contaminated by organotins [4, 7].

Accordingly, understanding on the OTC behaviour and persistence in soils is important for assessing their availability to plant species and in particular vegetables. Photolysis described as one of the possible ways of organotin degradation is limited to the soil surface [19]. Bioactivity is probably a main way of OTC degradation, leading especially to successive desalkyl- or desarylations under environmental conditions [16, 18, 20]. Degradation kinetics are different according to organotin and matrix types. TPhT would be degraded, while its degradation products, mono- and di-phenyltins (MPhT, DPhT) would have longer half-life times. Few studies have been made on tricyclohexyl- (TcHexT) and octyltins in soils. TcHexT half-life time ranges between 50 days and 3 years [19, 21]. As butyl- and phenyltins, it can be photodegraded, inducing the formation of mono-(McHexT) and dicyclohexyltins (DcHexT). According to our knowledge, no study has been reported about butyltins in the soil, while in sediment half-life times vary between 4 months and several years, in oxic conditions [10, 19, 22]. More generally few data are available about OTC persistence in soils. Their mobility seems reduced, since they are found to be strongly adsorbed depending on soil composition [16, 23, 24]. However, a recent study has showed the contamination of underground waters by butyl- and phenyltins, from the river [7]. Unfortunately, the actual mobility of these compounds at trace levels and consequently their bioavailability, according to acidic and redox conditions in soils remain unknown. Considering the frequency and variety of agricultural supplies, the organotin half-life times may be sufficient to allow these chemical species to be transferred into plant parts via root uptake [17, 18].

Accounting for the high toxicity of some OTC (trisubstituted ones particularly), to understand the transfer and the becoming of these chemical species from soil to plants appears fundamental for agricultural production and human health. Only few studies were performed on such mechanisms [25, 26]. In the field of chemical speciation analysis especially, the availability and distribution of OTC in the soil-plant system remain unknown. Therefore the main purpose of this work is to study organotin speciation in plants, in order to assess OTC taken from the soil by vegetable roots, their possible phytoaccumulation and biotransformation into plants.

2. Materials and methods

2.1. Apparatus

A Varian 3800 GC equipped with a Pulsed Flame Photometric Detector (PFPD) and 390 or 610 nm tin-selective optical filters was used. A split/splitless injection was employed with splitless mode for 60 s. Chromatographic parameters have been previously optimised and are precisely described elsewhere [27, 28]. The separation was carried out on a capillary column (30 m x 0.25 mm id) coated with polydimethylsiloxane (0.25 μm thickness) (DB-1, Quadrex, New Heaven, USA). The column temperature was held at 80°C during the first minute, increased to 180°C at the 30°C/min rate, then to 270°C at 10°C/min, and finally held at this temperature for 2 min. Nitrogen was used as carrier gas, with a flow rate of 0.7 mL/min.

The detector was operated at 350°C with an air/ hydrogen flame. The flow rates were, respectively 22 and 245 mL/min, and an additional air supply of 30 mL/min was used to fill the combustion chamber [28].

2.2. Reagents

Tripopyltin (TPrT, 98%), mono-, di-, tributyltins (MBT, 95%, DBT, 97%, TBT, 96%), mono-, di- and triphenyltins (MPHT, 98%, DPhT, 96%, TPhT, 95%) were purchased under chlorides forms from Aldrich (Saint-Quantin Fallavier, France). Methanol and sodium ethanoate were obtained from Prolabo (Paris, France). Hydrochloric, nitric and ethanoic acids came from Merck (Nogent-sur-Marne, France) and isooctane from Fluka (Saint-Quantin Fallavier, France). Sodium tetraethylborate (NaBEt_4) was purchased from Strem Chemical (Bischoffshausen, France). Deionised water used was 18 M Ω milli-Q water.

The organotin stock solutions containing 1000 mg (Sn)/L were prepared in methanol. Stock solutions are stable for at least 1 year when stored in darkness at +4°C. Diluted solutions of 10 mg(Sn)/L and 100 μg (Sn)/L were prepared weekly in water and stored in dark at +4 °C. A 2% (w/v) NaBEt_4 solution was prepared daily in deionised water and stored in the same conditions.

Glassware and material of extraction was rinsed with deionised water, decontaminated during 2 days in 10 % (v/v) nitric acid solution and rinsed again before use.

2.3. Samples

Sewage sludge was sampled in a treatment plant (Clos de Hilde), near Bordeaux, France. This sludge was chosen because of its butyl- and phenyltin contents.

The sandy soil was collected in the 0-25 cm surface depth layer of a field annually cropped with maize at the INRA Pierroton Experiment Farm, near Bordeaux (France). It is a duric/humic podzol type and contains 94% sand, 3,3% clay, and 2,5% silt. Its complete characterisation is presented precisely elsewhere [29]. Aliquots of 12 kg of air-dried soil were spiked independently with TBT or TPhT solutions containing 20 ng(Sn)/L. Other aliquots of 12kg of air-dried soil were mixed with the sewage sludge at a 1% sludge/soil ratio, according to usual agricultural practice. Each aliquot was carefully mixed and homogenised, prepared in duplicate, and placed into plastic pot before cultures start.

French beans (*cv. Talisman*) and potatoes (*cv. BEA*) were cultivated on soil spiked with organotin solutions. In case of the sludged-soil, only French beans were cultivated. All plant experiments were made in a greenhouse at the INRA Bordeaux-Aquitaine Centre, Villenave d'Ornon, France. For French beans, 25 plants were seeded into each duplicated pot. For potatoes, 2 tubers were transplanted per pot, previously fertilised at 100 kg N and 400 kg K per ha using ammonium nitrate and potassium sulfate. For both vegetables, control cultures were made on the untreated soil, allowing to control the analytical results presented later on. After 15 days, the primary leaves and stems of French beans were harvested on the first third of the culture. Then, second leaves and stems were harvested 15 days later on the second third. Finally, fruits were harvested after 2 months on the last third of the cultivated plants. Potato tubers were harvested after 3 months. Post harvest, shoots of French beans were weighted. Each plant sample was washed 3 times in distilled water, frozen in liquid nitrogen, freeze-dried, milled in a zirconium planetary grinder, and then stored in darkness and dryness until analysis.

2.4. Analytical procedure

2.4.1 Sample extraction

Sewage sludge. The process used was precisely described elsewhere [30]. Briefly, between 1 and 2 g of raw sludge was precisely weighted and introduced into a capped 50 mL polycarbonate tube with TPrT as an internal standard and the glacial CH₃COOH acid (20 mL). The sample/extractant mixture was shaken over night, then centrifuged at 4000 rpm for 10 min before derivatization and analysis.

Plants. The procedure of extraction has been recently optimised [11]. A mass between 0.5 and 1 g of dry powder was precisely weighted, introduced into a capped tube with TPrT as an internal standard and 6 mL of HCl 0.035 M in ethyl ethanoate, and shaken mechanically for 1 h. Thereafter, the mixture was centrifuged at 4000 rpm for 15 minutes before derivatization and analysis.

2.4.2 Derivatization

This step has been previously optimised [27, 30]. One to two mL of the raw extract was directly introduced into the derivatization reactor. Ethylation was performed in 100 mL of sodium ethanoate/ ethanoic acid buffer (pH = 4.8) with 0.5 mL of NaBEt₄ (0.2%). Simultaneously, the extraction was performed using either classical liquid/ liquid extraction (LLE) or solid phase microextraction (SPME). In case of LLE, 0.5 mL of isooctane was introduced into the reactor [7]. In case of SPME, a manual SPME device from Supelco (Supelco, Saint Quentin Fallavier, France) was used, with a fibre coated by an apolar polydimethylsiloxane (PDMS) phase of 100µm. The device was fixed to the flask top such as the fibre was continuously in the air space above the buffered aqueous medium (headspace SPME). The solution was then shaken horizontally on an elliptic table (420 rpm) for 20 (SPME) to 30 min (LLE) in order to ensure efficient transport of the analytes from the solution to either the organic solvent or the fibre. In case of SPME, measurement was performed immediately after the sorption process. The optimised conditions have been determined and precisely described elsewhere [31, 32].

The complementary use of LLE and headspace SPME allows to decrease strong matrix effects, especially when French beans were analysed. In this case, GC analysis was disturbed after the injection of the organic extract obtained from LLE, because co-extracted products are present. By using headspace SPME, such matrix effect does not exist and the quantitation quality is satisfactory, as presented later on.

2.4.3 Quantitation

Relative chromatographic responses of butyl- and phenyltins were calculated using tripropyltin as internal standard on the basis of peak areas. These responses were evaluated independently for each studied medium, that means from either French beans, potato tubers or sewage sludge. For their calculation, standard additions were used according to the sample by adding once, twice or three times respectively an appropriate amount of each compound into

the buffered solution before derivatization. Each addition was duplicated. This procedure allows to significantly decrease the matrix effects [33]. Each result was given on the basis of $n=4$ independent measurements, after that a blank control was made.

All organotin concentrations reported in this paper are expressed as the mass of tin per mass of dry sample ($\mu\text{g}(\text{Sn})/\text{kg}$).

Table 5.1: Analytical validation of acidic extraction/ ethylation/ LLE/ GC-PFPD

(A) Main characteristics of the calibration curves ($n=6$)

	MBT	DBT	TBT	MPhT	DPhT	TPhT
<i>French bean leaves</i>						
Relative response:						
$K_{i/E} \pm \text{standard error}$	1.02 ± 0.05	1.6 ± 0.1	1.22 ± 0.02	0.16 ± 0.02	1.7 ± 0.1	1.38 ± 0.001
(RSD %)	(5%)	(7%)	(2%)	(12%)	(7%)	(1%)
Precision (R^2)	0.995	0.989	0.999	0.993	0.992	0.999
<i>Potato tubers</i>						
Relative response:						
$K_{i/E} \pm \text{standard error}$	0.20 ± 0.02	0.62 ± 0.04	0.57 ± 0.04	0.19 ± 0.01	1.20 ± 0.04	0.82 ± 0.03
(RSD %)	(10%)	(6%)	(7%)	(5%)	(3%)	(4%)
Precision (R^2)	0.966	0.983	0.992	0.988	0.995	0.994

(B) : Analysis of spiked materials

	Concentrations $\pm s$ ($\mu\text{g}(\text{Sn})/\text{kg}$)					
	(RSD%)					
	MBT	DBT	TBT	MPhT	DPhT	TPhT
<i>French beans</i>						
Spiking value :	120 ± 12	120 ± 12	120 ± 12	120 ± 12	120 ± 12	120 ± 12
Measured value	162 ± 18	109 ± 13	145 ± 18	89 ± 14	99 ± 12	115 ± 9
($n=4$)	(11%)	(12%)	(12%)	(16%)	(12%)	(8%)
<i>Potato tubers</i>						
Spiking value :	500 ± 50	500 ± 50	500 ± 50	500 ± 50	500 ± 50	500 ± 50
Measured value	537 ± 75	564 ± 125	445 ± 72	446 ± 89	505 ± 21	415 ± 65
($n=4$)	(14%)	(22%)	(16%)	(20%)	(4%)	(15%)

3. Results and discussion

3.1. Validation of the analytical process

The analytical procedure previously optimised and used for aquatic plants and French beans [11] was first checked and validated for potato tubers. Plant samples were spiked with organotins at known concentrations. Extraction yields were evaluated using the procedure recommended for certification of reference materials or intercomparison exercises (mussel tissue: CRM 477 and freshwater sediment RM 140) and previously described [11]: briefly, it consists in standard addition directly made on plant powder before acidic extraction. The amounts of organotins added correspond to “theoretical” concentrations. The theoretical concentration *vs.* determined ones give a representative slope of the extraction yield, while the origin indicates the actual organotin content in the sample. By this method, the extraction yields from potato tubers have been found to range from 83 to 97%, for phenyl- and butyltins respectively [11]. These different values are satisfactory, especially considering that no noticeable degradation was detected. Table 5.1 presents the main characteristics of calibration curves used for this study (part A) and data on spiked plant materials (part B). The relative responses calculated over either 1) derivatization and analysis ($K_{i/E}$) or 2) the whole analytical process (*i.e.* from acidic extraction to analysis) have been found to be similar since the variations between the two sets of data are not significant. This observation confirms that acidic extraction is quantitative and does not appear to have significant effect on the analytical process. It is in accordance to previous results [33]. The standard deviation (*s*) and the determination coefficient (R^2) presented in Table 5.1, part A, show that the calibration curves are precise. The calculation of the Fisher-Snedecor coefficient (*F*) allows to evaluate the significance of the curves. The *F* values obtained are all widely higher than the limit value of significance (F_{tab}), which demonstrates that all the calibration curves can be statistically validated.

The accuracy (trueness and precision) of the analytical method, defined according to NF- ISO 5725-1, has been evaluated (Table 5.1, part B). Reference plant material certified for its organotin content does not exist, therefore spiked plant extract was used. In the case of potato tubers analysis, disturbing effect of co-extracted starch leads to increase the relative standard deviation (RSD). However, considering that plant matrix is especially complex, the precision remains satisfactory and in agreement with the usual precision obtained in environmental analysis [8, 9, 30, 33]. All concentrations experimentally determined match well with the

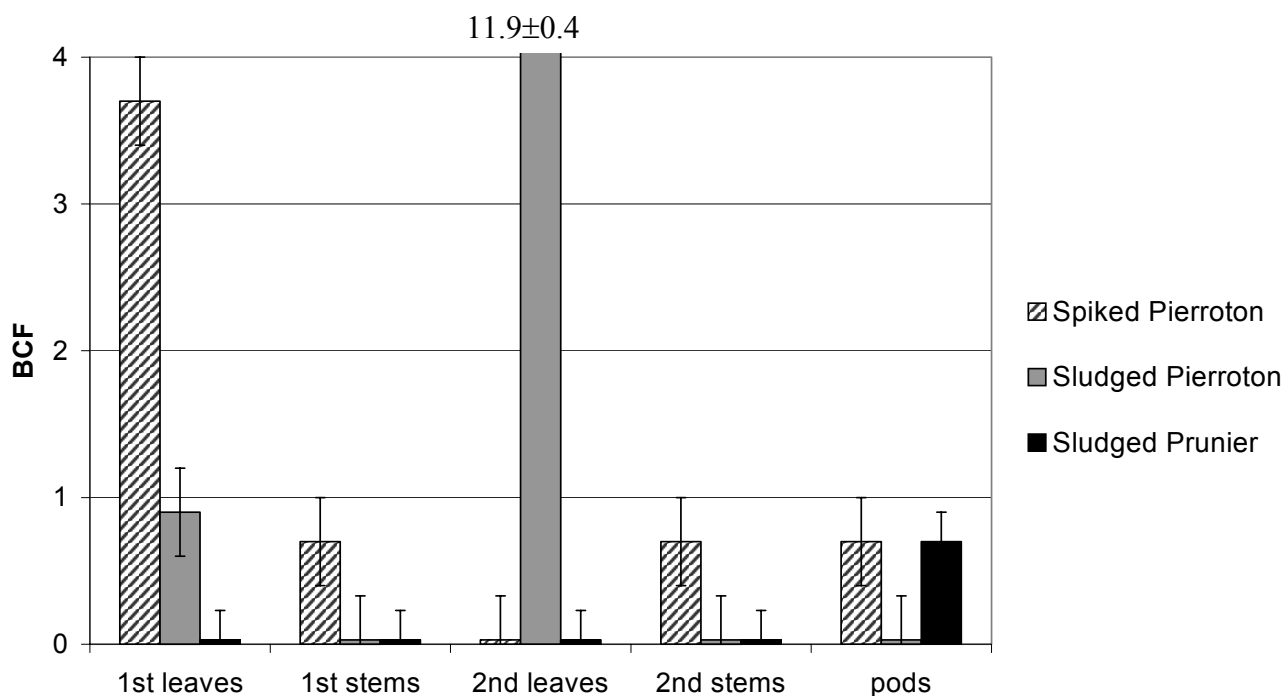
spiking values, in a 95% confidence interval (T-test). According to the data set given in Table 5.1, part B, the analytical method used can be considered as statistically accurate.

The detection limits (LOD) were calculated according to the IUPAC recommendations [34]. Relative LOD obtained using LLE are presented in Table 5.2. Highest LOD values are for potato tubers analysis. When the SPME is used, these limits can be decreased under 0.1 $\mu\text{g}(\text{Sn})/\text{kg}$ for all the organotins. In this case, SPME is really an attractive alternative to LLE to determine organotins in plant tissues, especially when it is used in headspace mode because no disturbing effect is noticed. This data set allows to validate the analytical procedure for determining organotin speciation in plant samples.

Table 5.2: Relative limits of detection (LOD) of acidic extraction/ ethylation/ LLE/GC-PFPD

LOD ($\mu\text{g}(\text{Sn})/\text{kg}$)	MBT	DBT	TBT	MPhT	DPhT	TPhT
French bean leaves	8	12	2,5	13	10	4,5
Potato tubers	69	48	41	20	27	28

Fig. 1 Bio-Concentration Factor (BCF) of TBT in different parts of French beans according to the culture conditions (organotin source, soil type) and the growth period.



3.2. Speciation in plants

Prior to start the cultures on sludged soil, the sewage sludge was analysed and the results are presented in Table 5.3. The organotin concentrations measured in the different parts of French beans and in potato tubers cultivated on contaminated soils are summarised in Tables 5.3, 5.4 and 5.5.

Table 5.3: Organotin speciation analysis in the sewage sludge used for soil amendment

	MBT	DBT	TBT	MPhT
Concentrations ($\mu\text{g}(\text{Sn})/\text{kg DW}$) (n=4)	250 ± 40	590 ± 30	470 ± 20	220 ± 30

Table 5.4: Organotin speciation in French beans and potato tubers cultivated in the Pierroton soil spiked with a TBT- chloride solution (n = 4)

Initial concentration in soil after spiking : $20 \mu\text{g}(\text{Sn})/\text{kg DW}$

French beans ¹	TBT ($\mu\text{g}(\text{Sn})/\text{kg DW}$)
1 st leaves	73 ± 11
1 st stems	13 ± 3
2 nd leaves	< LOD
2 nd stems	14 ± 5
Pods	13 ± 6

Potato tubers ¹	($\mu\text{g}(\text{Sn})/\text{kg DW}$)
MBT	2200 ± 800
DBT	< LOQ
TBT	480 ± 60

LOQ : limit of quantification

¹Other OTC not detected

Table 5.5: Organotin speciation in French beans and potatoes cultivated in the Pierroton soil spiked with a TPhT- chloride solution (n = 4)

Initial concentration in soil after spiking : $20 \mu\text{g}(\text{Sn})/\text{kg DW}$

French beans ¹	TBT ($\mu\text{g}(\text{Sn})/\text{kg DW}$)
1 st leaves	16 ± 6
1 st stems	<LOD
2 nd leaves	< LOD
2 nd stems	10 ± 1
Pods	10 ± 2

Potato tubers ¹	($\mu\text{g}(\text{Sn})/\text{kg DW}$)
MPhT	185 ± 35
DPhT	60 ± 15
TPhT	260 ± 90

¹Other OTC not detected

3.2.1 Transfer and bioaccumulation

Considering the different results, the organotin transfer from contaminated soils to both plant species is clearly established, for both OTC sources, i.e. solution or sludge. Based on concentrations in French beans (Table 5.4, first part and Table 5.6), the phytoavailability of OTC depends on the chemical species. Figure 1 presents a comparison of the different Bio-Concentration Factors of TBT (BCF, evaluated for a given OTC as the ratio between its concentration in plant and its initial concentration in soil); these values are presented according to the development stages of French beans and the OTC source. The TBT phytoavailability is higher after direct spiking by an OTC solution, since the corresponding BCF in first leaves is four times more important than one obtained for the sludged soil. However the initial TBT amount is also four times higher in the TBT spiked soil. This suggests that BCF directly depends on the initial OTC amount present in the soil. The highest BCF value for French beans was found when plants are cultivated on the sludged soil. These different results suggest also that the TBT chloride from the spiking solution is immediately present in the soil solution, and so quickly stored in the first leaves. Concerning the amended soil, there is probably a delay corresponding to the start of mineralisation of the organic matter contained in the sludge and/ or solubilisation of the other solid parts before the organotins are in the soil solution. This hypothesis could explain why, on the sludged soil, the phytoaccumulation is more important in the French bean second leaves.

The most frequent BCF value vary between 0.7 and 0.9. This range is obviously lower than one observed for aquatic plant [5]. However this factor presents important variations. As such OTC initially are not present in plant parts and not carried by gaseous way from other vegetables or spiking solution (this hypothesis was checked previously), it demonstrates that organotins are taken by plant roots and transfer to plant shoots. The TBT distribution in the plant differed according to the culture conditions (type of OTC sources and organotin chemical species) and the plant development stages. We suggest that the soil type must be considered, because similar experiments made with another soil (soil sampled at Prunier, developed on alluvions of the Loire river (France): 28% sands, 23% clay and 49% silt) amended with another sewage sludge, have given quite different results of organotin distribution: for beans cultivated on this sludged soil; $3 \pm 1 \mu\text{g}(\text{Sn})/\text{kg}$ were detected in pods, while no organotin at all was detected in second leaves. However, the BCF factor is similar to those commented previously.

Table 5.6 : Speciation in French beans cultivated in the Pierroton sludged soil.

Sludge / soil ratio 1%

	Concentrations ($\mu\text{g}(\text{Sn})/\text{kg DW}$) (<i>BCF*</i>)					
	MBT	DBT	TBT	MPhT	DPhT	TPhT
1 st leaves (n= 4)	<LOD	<LOD	4 ± 1 (0.9±0.2)	<LOD	<LOD	<LOD
2 nd leaves (n= 4)	61 ± 6 (24±1)	9 ± 1 (1.5±0.2)	56 ± 2 (11.9±0.2)	154 ± 20 (70±4)	<LOD	<LOD

OTC not detected in the other parts analysed (1st stems, 2nd stems and pods)

*BCF: Bio Concentration Factor (definition given in text)

Concerning the organotin transfer from soil to plant according to the OTC nature, a recent study has showed that DBT, TBT and TPhT are strongly sorbed on sludge, while monosubstituted species are less retained [7]. These results agree with the present observations: if degradations are supposed not relevant phenomenon, MBT and MPhT would be the most transferred species from sludge to plant, comparatively to DBT and TBT. The BCF values evaluated for each organotin and presented in Table 5.6 confirm these results.

Owing to the different masses measured after each harvest, it is possible to assess a quantitative evaluation of the OTC transfer between the spiked soil and the French beans shoots.

Table 5.7: Quantitative evaluation of the organotin transfer from the soil to French bean tissues

Shoots :	Distribution (%) of total tin in bean parts cultivated in the soil spiked with :	
	TBT-chloride solution	TPhT-chloride solution
1 st leaves	0.08	0.02
1 st stems	0.01	nc
2 nd leaves	nc	nc
2 nd stems	0.01	0.008
Pods	0.03	0.02

nc : not calculated because OTC were not detected

The results obtained and expressed in total tin are presented in Table 5.7. The transfer into young plants is confirmed to be the most important for TBT only. Except for this first growth stage, the transfer is quantitatively similar when French beans are cultivated in either TBT- or TPhT-spiked soils. After two months of growth, about 0.02-0.03% of the pollutants initially present in soil are present in fruit. Even though these percentages are weak, they undervalue the actual percentages because the calculations made did not account for the real amount of organotins in the rhizospheric soil solution..

OTC accumulation in potato tubers is more important than in the shoots of French beans. The BCF evaluated for TBT in potato tubers is 25, while it is only 0.7 in French bean pods.

3.2.2 Speciation, degradation and bioconversion

OTC distribution in plant parts depends on the organotin nature, the OTC source, and plant species.

For French beans cultivated on the sludged soil (Tables 5.3 and 5.6), the same organotin species are found in the sludge and the 2nd leaves after a 30-day period of growth. It is difficult to evaluate degradations, because speciation in plants depends on several factors. However, considering the respective distributions of butyltins in sludge and French beans, it is not obvious that important debutylations occur during the transport into the plant or in plant tissues.

In the TBT-spiked soil, degradation products were not detected in French beans, probably due to the low concentrations in plant parts. In this case, the analytical performance is one limiting factor for determining organotin speciation. The OTC transfer into potato tubers being more important, potential degradation products can be detected. These were found at least for the TBT- and TPhT- spiked soils. In case of TBT spiking and after three months of growth, the distribution of butyltins in potato tubers is 82 and 18 % of MBT and TBT respectively. DBT was detected but it was not possible to quantify it. In potato tubers from the TPhT-spiked soil, the distribution of phenyltins is 37, 12 and 52% of MPhT, DPhT and TPhT respectively. These data show a significant uptake of TBT and TPhT by potatoes and demonstrate that their lifetimes in the soil are sufficient for a soil-plant transfer. This is confirmed by the half-life of TPhT reported in the literature. It has been found to ranged between 47 and 140 days in soil [35].

Very important debutylation and significant dephenylation occur in soil- plant system. Successive desalkyl- or desarylations are usually mentioned in literature, occurring at once in the soil, at the soil-plant interface or in the plant [16, 18, 20, 35, 36]. They are confirmed by these results. Bacteria or organisms living in soil can produce such degradations. Plant metabolization or associated bacteria activity lead to similar detoxication processes [35, 36]. For French beans grown on the TPhT-spiked soil (Table 5.5), surprisingly, only TBT was found in the shoots of the vegetable, while phenyltins were expected. A previous study performed on French beans *cv. Talisman* cultivated in hydroponic solution reported similar results [11]. A contamination of the plant by volatilisation from the nutrient solution was speculated . Such process was not expected in this study, but contamination of soil during the French bean growth cannot be ruled out.

4. Conclusion

The organotin speciation performed in plants cultivated on OTC-contaminated soils shows a transfer of these pollutants from soil to plants. A first quantitative assessment has been performed. Shoots plant can accumulate organotins since some ten $\mu\text{g}(\text{Sn})/\text{kg}$ are found in leaves, stems and pods of French beans harvested after 15 to 60 days of culture. Phytoaccumulation is roughly ten times more important in potato tubers. The products of TBT and TPhT degradation were clearly detected in potato tubers. After three months of culture, the mono- and disubstituted species amounted to half of the trisubstituted OTC quantity originally added into the soil.

This preliminary work established that OTC root uptake from soil exists. Consequently, human beings and animals may be exposed too. Our results enhance the understanding on accumulation, degradation, and even conversion of organotins into both plants. Speciation analysis is an essential tool of investigation. Moreover, analytical development is important to monitor the actual trace level of water, sewage sludge, and soil contamination by organotins [7, 9]. Owing to these performing speciation methods, we are planning other experiments to know the OTC behaviour in sewage sludge and soil and their phytoaccumulation.

5. Acknowledgments

The authors thank the Regional Council of Aquitaine and the French Agency of Energy and Environment (ADEME) for their financial support.

6. References

- (1) K. Fent. *Critical Reviews in Toxicology* **26**, 1 (1996).
- (2) Y. Chau, F. Yang, M. Brown, R.J. Maguire. *Water Qual Res J Canada* **32**, 453 (1997).
- (3) R.J. Maguire. *Water Pollution Research Journal Canada* **26**, 243 (1991).
- (4) O.F.X. Donard, P. Quevauviller, A. Bruchet. *Wat Res* **27**, 1085 (1993).
- (5) G. Lespes, M. Potin-Gautier. *L'Eau, l'Industrie, les Nuisances* **239**, 24 (2001).
- (6) O.F.X. Donard, G. Lespes, D. Amouroux, R. Morabito. in *Trace element speciation for environment, food and health* (Royal Society of Chemistry, ed.), pp 142-175 (2001).
- (7) C. Bancon-Montigny. Thesis of the University of Pau, pp 19-53 (2001).
- (8) G. Lespes, C. Montigny. Report of Rhin- Meuse Water Agency, côte 22304RM, 31 pp (1997).
- (9) C. Bancon-Montigny, G. Lespes, M. Potin-Gautier. Report of Adour- Garonne Water Agency, 82 pp (2002).
- (10) M.E. Waite, K.E. Evans, J.E. Thain, M.J. Waldock. *Applied Organomet Chem.* **3**, 383 (1989).
- (11) S. Simon, M. Bueno, G. Lespes, M. Mench, M. Potin-Gautier. *Talanta* **57**, 31 (2002).
- (12) W.A.C. Anderson, S.A. Thorpe, L.M. Owen, S.E. Anderson, H.M. Crews, S.L. Reynolds. *Food additives and contaminants* **15**, 288 (1998).
- (13) G.H. Biégo, M. Joyeux, P. Hartemann. *Arch. Environ. Contamin. Toxicol.* **36**, 227 (1999).
- (14) H.H. Van Der Broeck, G.B.M. Hermes, C.E. Goewie. *Analyst* **113**, 1237 (1988).
- (15) K. Kannan, R.F. Lee. *Environ. Toxicol. Chem.* **15**, 1492 (1996).
- (16) T.J.S. Keijzer, J.P.G. Loch. *Water, Air Soil Pollution* **84**, 287 (1995).
- (17) J.A. Stab, W.P. Cofino, B. Van Hattum, T.U.A. Brinkman. *Anal. Chim. Acta* **286**, 335 (1994).
- (18) N.S. Karam, K.I. Ereifej, R.A. Shibli, H. Abukudais, A. Alkofahi, Y. Malkawi. *J. Plant Nutrition* **21**, 725 (1998).
- (19) D.R.J. Moore, D.G. Noble, S.L. Walker, D.M. Trotter, M.P. Wong, R.C. Pierce. *Recommandations pour la qualité de l'eau au Canada- Direction Générale des Sciences et de l'évaluation des écosystèmes- Direction de la Santé des écosystèmes, Ottawa (Ontario-Canada), Etude n°191, Série Scientifique* (1992)
- (20) T. Crommentuijn, J.A. Stab, A. Doornekamp, O. Espoppey, C.A.M. Van Gestel. *British Ecotoxicological Society, Functional Ecology* **9**, 734 (1995)
- (21) X. Dauchy. Thesis of University of Pau, 260 p. (1993).
- (22) P.M. Sarradin. Thesis of University of Pau, 148 p. (1994).
- (23) R.D. Barnes, A.T. Bull, R.C. Poller. *Pestic Sci.* **4**, 305 (1973).
- (24) M. Bueno, A. Astruc, M. Astruc, P. Behra. *Environ. Sci. Technol.* **32**, 3919 (1998).
- (25) K.A. Barnes, R.J. Fussell, J.R. Startin, H.J. Mobbs, R. James, S.L. Reynolds. *Rapid Comm. Mass. Spectrom.* **11**, 159 (1997).
- (26) J.H. Weber, J.S. Han, R. François. *Heavy Metal. Hydrol. Cycle* **394** (1988).
- (27) C. Carlier-Pinasseau, G. Lespes, M. Astruc. *Appl. Organomet. Chem.* **10**, 505 (1996).
- (28) Ch. Bancon-Montigny, G. Lespes, M. Potin-Gautier. *J. Chromatogr. A* **896**, 149 (2000).
- (29) D. Plenet, G. Lemaire. *Plant and Soil* **216 (1-2)**, 65 (1999).

- (30) Ch. Bancon-Montigny, G. Lespes, M. Potin-Gautier. *Analyst* **124**, 1265 (1999).
- (31) J. Darrouzes. Report of Master Environment and Material- University of Pau, 30 pp (2002).
- (32) M. Le Gac, G. Lespes, M. Potin-Gautier. *J. Chromatogr. A* **999**, 123 (2003).
- (33) C. Montigny, G. Lespes, M. Potin-Gautier. *J. Chromatogr. A* **819**, 221 (1998).
- (34) L.A. Currie. *Chemometrics and Intelligent Lab. Systems*. **37**, 151 (1997).
- (35) H. Inoue, O. Takimura, H. Fuse, K. Murakami, K. Kamimura, Y. Yamaoka. *Appl. Environ. Microbiology* **66**, 3492 (2000).
- (36) L. Zhang, G. Huang, Y. Yu. *Art. cells, blood subs, and Immob. Biotech.* **26**, 399 (1998).

Cultures de végétaux sur un sol amendé par une boue de station d'épuration dopée en TBT et TPhT

1. Introduction

Les résultats de la partie précédente (chapitre 5, partie 1) ont permis de mettre en évidence la présence de composés organostanniques dans les végétaux qui ont été cultivés sur un sol contaminé en organoétains. Cependant, si le transfert sol- plante est établi, les paramètres pouvant avoir une influence sur le prélèvement des organoétains par les végétaux et les mécanismes de prélèvement restent mal connus, voire inconnus. Nous avons donc cherché, dans cette partie à :

- évaluer l'incidence de certains paramètres physico-chimiques du sol sur le prélèvement, la bioconcentration et le développement végétal,
- établir s'il y a dégradation des organoétains au sein du végétal,
- comprendre comment la plante prélève les différents organoétains,
- établir s'il y a stockage des organoétains et dans quelle partie du végétal.

2. Approche méthodologique

Pour obtenir ces informations, des laitues et des haricots verts ont été cultivés sur un sol amendé par une boue de station d'épuration dopée en TBT et TPhT. Quatre séries de cultures ont ainsi été mises en place, selon la méthodologie des plans de Doehlert et la démarche décrite dans le chapitre 2 de ce mémoire. La quantité de boue d'épuration, le pH et les concentrations en organoétains dans le sol ont été les paramètres (ou facteurs) initialement considérés lors de la réalisation des cultures. La durée de l'expérimentation, la température, la lumière et la nature du végétal ont également été pris en compte. Chaque partie constitutive de la plante (racine, feuille, tige) a été récoltée et analysée séparément. La concentration totale d'OTC dans la plante a été évaluée à partir des concentrations dans les différentes parties constitutives.

Afin de pouvoir exploiter mathématiquement et statistiquement les résultats obtenus, il est tout d'abord nécessaire d'évaluer les variations (ou variabilité) des grandeurs observées

(c'est-à-dire des concentrations ou des quantités (masses) d'organoétains) dues à des facteurs non contrôlés.

Dans ce cas, deux types de variabilité peuvent être considérés :

- la variabilité « expérimentale », dues aux erreurs lors de la mise en place des expériences (dopage des boues par les organoétains, mélange de la boue avec le sol, mise en pot) ainsi qu'aux erreurs analytiques ;
- la variabilité « naturelle » du système boue/ sol/ plante, c'est-à-dire les différences qui peuvent apparaître entre deux cultures faites dans des conditions réputées identiques (mêmes humidité, température, exposition à la lumière, durée...). Ces différences peuvent être dues :
 - aux mélanges boue/ sol qui peuvent ne pas évoluer de façon similaire, en fonction, notamment, des paramètres biotiques (activité microbienne...),
 - aux plantes elles-mêmes, organismes vivants qui réagissent de manière propre (croissance en particulier).

Ces différents types de variabilité peuvent être étudiés grâce aux expériences réalisées en parallèle dans des conditions identiques : les expériences au centre du domaine, ou « 0 ». Quatre répliques ont ainsi été prévues pour chaque plan d'expériences (une expérience correspondant à un pot de culture). La variabilité est évaluée par l'écart-type relatif (ou RSD, exprimé en %).

En ce qui concerne le sol : plusieurs échantillons du même pot et des échantillons des 4 pots ont été analysés 4 fois chacun. Les répliques d'analyse (sur le même échantillon) permettent d'évaluer la variabilité analytique (ou répétabilité); le RSD inter-pot donne une estimation globale de la variabilité naturelle et de celle due aux erreurs lors de la mise en place des expériences ; le RSD intra-pot permettrait d'évaluer la variabilité naturelle, en supposant que le mélange sol/ boue soit homogène dans tout le pot.

Pour les végétaux : chaque échantillon (c'est-à-dire chaque plante) a été analysé quatre fois, quatre plantes différentes étant analysées. Les répliques d'analyse permettent d'évaluer la variabilité analytique ; le RSD inter-individu permet d'estimer globalement la variabilité naturelle et celle due aux erreurs lors de la mise en place des expériences.

Les figures 5.1 et 5.2 suivantes présentent l'ensemble des variabilités relatives aux concentrations en organoétains pouvant être calculées à la fois pour le sol et le végétal :

variabilité analytique et variabilité globale (naturelle et due aux erreurs lors de la mise en place des expériences ; la variabilité globale est encore appelée « variabilité d'échantillon »).

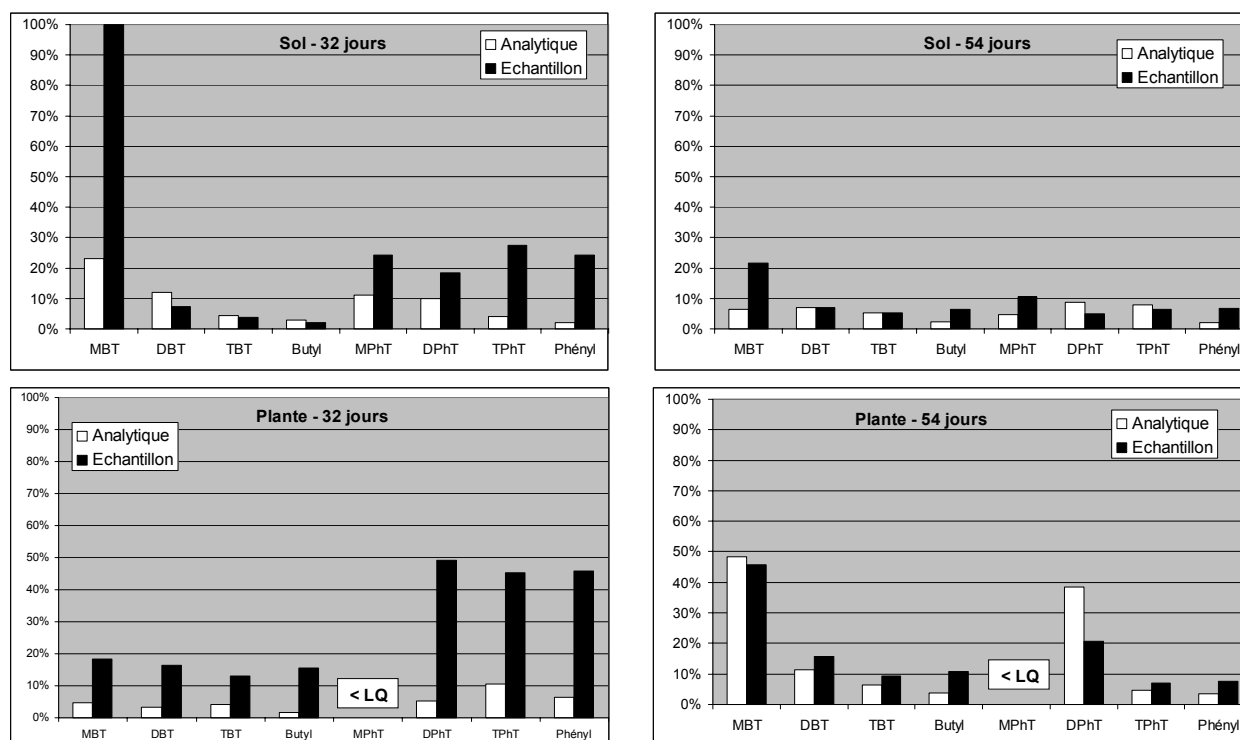


Figure 5.1 : Variabilité analytique et variabilité globale du système (Echantillon) pour les expériences menées pendant 32 et 54 jours (culture de laitues).

LD : Limite de détection ; LQ : Limite de quantification

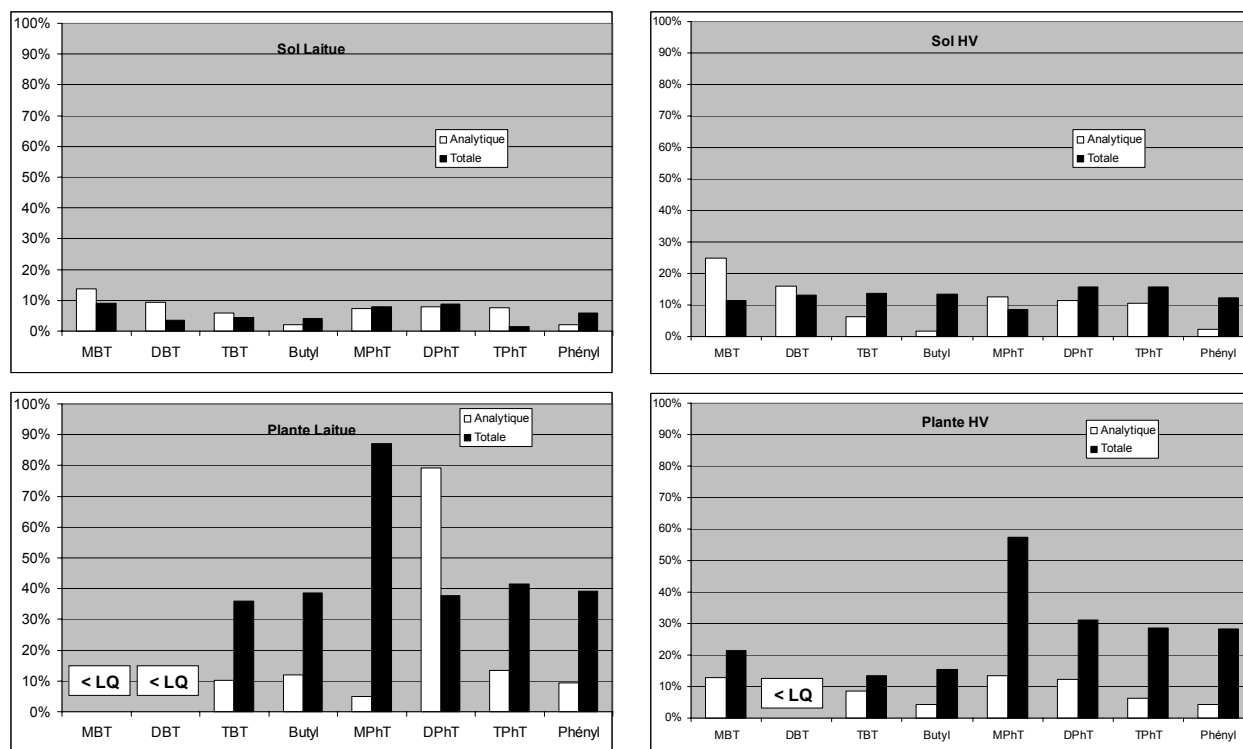


Figure 5.2 : Variabilité analytique et variabilité globale du système (Echantillon) pour les expériences menées pendant 69 jours dans la laitue et les haricots verts (HV).

La variabilité globale apparaît généralement significativement supérieure à la variabilité analytique. Les quelques exceptions constatées (MBT et DPhT notamment) sont induites par les très faibles concentrations retrouvées dans les échantillons de certaines séries d'expériences. Ces concentrations sont proches des limites de quantification de la méthode d'analyse et l'incertitude analytique est donc grande.

La variabilité globale des concentrations dans les sols est dans son ensemble toujours plus faible que celle relative aux plantes. Ainsi, si l'on considère le TBT dans le système sol/ laitue par exemple, on obtient des RSD inférieurs à 12 % dans les sols, alors que dans les laitues, ils sont compris entre 10 et 35 %. Pour le TBT et le TPhT, la variabilité globale des concentrations dans le sol ou dans le végétal apparaît propre à la série (au plan) d'expériences considérée : il n'y a pas d'influence observable de la durée (32, 54 ou 69 jours), de la température associée à la durée, de la gamme de concentrations (20-50 ou 50-150 $\mu\text{g}(\text{Sn}).\text{kg}^{-1}$ dans le sol initialement) ou de la nature du végétal.

L'ensemble de ces résultats montre que :

- les erreurs expérimentales lors de la mise en place des expériences restent peu importantes (sauf cas du TPhT dans le sol à 32 jours) compte tenu de la variabilité globale dans le sol,
- la variabilité du système au niveau du végétal est par contre plus forte, particulièrement dans le cas de l'expérimentation à 69 jours.

Ceci a une conséquence directe sur l'exploitation des résultats des plans d'expériences : seules les données associées à une variabilité suffisamment faible pourront être utilisées. On peut en effet s'attendre à ce que les modèles issus des plans d'expériences présentant une forte variabilité soient globalement peu ou non significatifs (F_{obs} faible) et que leur précision s'avère insuffisante (R^2 faible). On ne pourra donc les valider statistiquement.

Si la « non-signification » des facteurs peut être attribuée à la grande variabilité naturelle des végétaux, il est aussi possible que ces facteurs soient réellement non- influents ou peu influents, dans nos conditions expérimentales. Dans le cas où la variabilité est faible, les modèles obtenus par les plans d'expériences devraient globalement être significatifs, précis et sans biais. Ils pourront alors être statistiquement validés, les facteurs non-significatifs étant reconnus comme non-influents.

L'ensemble des résultats issus des calculs des plans d'expériences a donc été considéré en fonction des variabilités globales du système sol/ plante, et seuls les modèles statistiquement validés sont présentés ci-après. Préalablement à l'exploitation des données du plan d'expériences, chaque point expérimental a été contrôlé (par comparaison des répliqués d'expérience) et les valeurs aberrantes éliminées.

D'autres paramètres peuvent également avoir une influence sur le prélèvement des organoétains par les plantes, ainsi que sur la répartition de ces composés dans les différentes parties constitutives des végétaux. Afin de les identifier, une série d'analyses en composantes principales (ACP) a été réalisée. A chaque analyse, et afin de prendre en compte la variabilité globale dans la recherche des corrélations, les résultats concernant l'ensemble des individus végétaux analysés a été considéré. Dans un premier temps, une matrice impliquant des facteurs tels que les concentrations ou quantités (masses) des espèces butylées et phénylées dans le sol et les différentes parties constitutives des plantes, ainsi que les masses végétales a été utilisée. Par la suite, deux différentes séries d'analyses ont été réalisées, afin de focaliser

l'exploitation des résultats sur le transfert sol- plante, puis sur la répartition des organoétains au sein du végétal.

3. Résultats et discussion

3.1. Transfert vers la plante

Compte tenu des conditions opératoires des différents plans d'expériences réalisés, nous avons choisi d'exploiter indépendamment les résultats de chacun de ces plans, c'est-à-dire :

- les cultures réalisées avec des concentrations en organoétains initialement introduits dans le sol comprises dans la gamme 20-50 $\mu\text{g}(\text{Sn}).\text{kg}^{-1}$, pour des durées de 32 ou 54 jours.
- les cultures réalisées avec des concentrations en organoétains initialement introduits dans le sol comprises dans la gamme 50-150 $\mu\text{g}(\text{Sn}).\text{kg}^{-1}$, pour une durée de 69 jours.

Nous nous sommes fixés comme objectif dans cette partie d'estimer l'importance du prélèvement des organoétains par la plante et les capacités de bioaccumulation. Pour cela, nous avons choisi de traiter le transfert sol/ plante en considérant les concentrations et les masses d'organoétains dans l'ensemble du végétal, en calculant les facteurs de transfert (FT) et de prélèvement (FP) définis comme suit :

$$\text{FT} = \frac{\text{Concentration finale en X dans la plante}}{\text{Concentration finale en X dans le sol}}$$

et

$$\text{FP} = \frac{\text{Masse de X dans la plante}}{\text{Masse finale de X dans le sol}}$$

Avec X : TBT ou TPhT

Le facteur de transfert est généralement considéré comme un indicateur de biodisponibilité (Adriano, 2001). Il permet également d'évaluer le potentiel d'accumulation. Il présente surtout l'avantage d'accéder de façon simple à des informations relatives à la biodisponibilité et la bioaccumulation. Le facteur de prélèvement donne donc une information quant à la quantité relative prélevée et à l'exposition potentielle via la chaîne alimentaire.

D'autre part, la croissance du végétal étant liée à la fois à la durée et à la température, nous avons utilisé la notion de la somme de degrés jour de croissance (Σ DJC), évaluée selon :

$$\Sigma\text{DJC} = \sum_{i=1}^{\text{durée}} \left[\frac{(t_{i\text{max}} + t_{i\text{min}})}{2} - 5 \right] \quad (\text{www.meteomedia.com})$$

On obtient ainsi des valeurs de Σ DJC répertoriées dans le tableau 5.1 ci-après.

Dans ce tableau sont également résumés les conditions et caractéristiques des cultures, ainsi que les principaux résultats concernant chaque plan d'expériences.

Tableau 5.1 : Conditions, caractéristiques principales des cultures et résultats obtenus.

	Plan d'expériences			
	32	54	69	
Durée de l'expérimentation (jour)				
Type de végétal	Laitue	Laitue	Laitue	Haricot vert
Degré de jour de Croissance (°C. jour)	448	740	421	
Température moyenne (°C)	19	18.7	12.5	
Durée d'exposition à la lumière (h)	12	11	8,3	
Gamme de concentrations en organoétain apportés initialement au sol ($\mu\text{g}(\text{Sn}).\text{kg}^{-1}$)	20-50	20-50	50-150	
Apport initial en boue (%)	1-9	1-9	5	
pH initial du sol	5.5	5.5	3.5 – 7.5	
pH final du sol	5.5	5.5	4.9-6.8	
Masses végétales récoltées :	6	50	9	15
Moyenne [minimum- maximum] (g)	[3-13]	[33-64]	[2-19]	[5-23]
Quantité de TBT prélevée par le végétal	40±6	190±30	10±1	41±7
Moyenne [minimum- maximum] (ng(Sn))	[20-80]	[80-320]	[5-18]	[9-66]
Quantité de TPhT prélevée par le végétal	110±20	100±10	13±3	141±35
Moyenne [minimum- maximum] (ng(Sn))	[20-170]	[30-180]	[3-27]	[78-254]

* moyenne ± écart-type inter-individu, évalués à partir des réplicats au centre du domaine

De ces premiers résultats on peut tout d'abord observer que le végétal n'apparaît pas prélever le TBT et le TPhT de la même façon. Ainsi, les quantités de TPhT dans la laitue sont toujours comprises entre 10 et 200 ng(Sn), pour tous les plans d'expériences sauf celui à 69 jours. Au contraire, le prélèvement du TBT est dans des gammes de valeurs différentes selon la série d'expérimentation : à concentrations initiales dans le sol et conditions physico-chimiques identiques, le TBT a été plus prélevé à 54 jours qu'à 32, les quantités retrouvées dans la plante étant environ 6 fois plus grandes à 54 jours. D'autre part, les masses végétales, surtout au niveau des feuilles ont été beaucoup plus importantes à 54 jours qu'à 32, les degrés jour de croissance étant plus grands dans le premier cas. Le prélèvement du TBT par la laitue à 69 jours est un peu plus faible que celui à 32 jours. Il en est de même pour le TPhT. Pour ce plan aussi, les masses végétales récoltées sont faibles. Le Σ DJC est du même ordre de grandeur que pour le plan à 32 jours, alors que les quantités d'organoétains apportées sont plus importantes.

A conditions de culture identiques, le prélèvement par les haricots verts est significativement plus important que celui de la laitue, le TPhT étant plus quantitativement prélevé que le TBT.

La quantité d'organoétain prélevée par la plante apparaît dépendre de la nature du composé. Le prélèvement du TBT par la plante semble être également fonction de la croissance du végétal, et donc du Σ DJC. Ceci n'est pas le cas pour le TPhT. La quantité prélevée est également fonction du type de végétal.

3.1.1 Influence des paramètres physico-chimiques initiaux du sol

Au sein d'un même plan d'expériences, les conditions de culture étaient propres à chaque expérience et la quantité de boue ou le pH étaient variables. On peut donc envisager que ces deux paramètres aient joué un certain rôle dans la dispersion observée.

L'exploitation par plan d'expériences peut permettre de vérifier cette hypothèse. Pour ce faire, les concentrations finales en TBT et TPhT dans la plante ont été considérées comme les réponses susceptibles d'être fonction des conditions initiales de culture : concentrations en triorganoétains dans le sol, quantité de boue ajoutée au sol et pH initial du sol.

Compte tenu des remarques faites précédemment, l'influence des facteurs initialement étudiés et celle de leurs interactions ont été calculées, en considérant la variabilité globale. Les expériences à 32 jours n'ont cependant pas pu être modélisées car 4 des 16 plantes sont

mortes en cours de culture. Les résultats obtenus après 54 jours de culture sont présentés dans le tableau 5.2.

Tableau 5.2 : Effets des facteurs et interactions, calculés par plan d'expériences, sur les concentrations en TBT et TPhT dans les laitues après 54 jours de culture

Facteurs et interactions	(1) [boue]	(2) [TBT] _{sol}	(3) [TPhT] _{sol}	(12)	(13)	(23)	(1) ²	(2) ²	(3) ²	Moyenne
Effet sur [TBT] _{racine} (ng(Sn).kg ⁻¹)	- 1 ± 6	+14 ± 5	-5 ± 5	2 ± 10	+0 ± 11	-5 ± 11	-10 ± 11	+0 ± 9	-7 ± 11	+31 ± 9
Validation	s(réponse) = 3*		Biais : 0,2		Signification (F _{obs}) : 3331			Précision (R ²) : 0,9846		
Effet sur [TPhT] _{racine} (ng(Sn).kg ⁻¹)	-1 ± 3	1 ± 3	+7 ± 3	+3 ± 7	-3 ± 7	-1 ± 7	-4 ± 7	-3 ± 7	-1 ± 7	+18 ± 6
Validation	s(réponse) = 2*		Biais : 0,1		Signification (F _{obs}) : 301			Précision (R ²) : 0,9512		

* écart-type sur les concentrations en TBT ou TPhT mesurées dans la plante

Les valeurs significatives sont en caractères gras

Ces résultats montrent tout d'abord que la quantité de boue d'épuration initialement ajoutée au sol n'a pas d'influence sur la concentration en TBT ou en TPhT dans la laitue.

L'apport initial en TBT (ou TPhT) dans le sol s'avère bien avoir un effet sur la concentration de TBT (ou TPhT) dans la laitue : plus la concentration initiale dans le sol est forte, plus la concentration finale dans la plante est également importante. Ce résultat, mis en évidence à 54 jours, est confirmé à 32 jours (en ne considérant que les expériences à même quantité de boue). Il n'est cependant pas retrouvé à 69 jours. En effet, la modélisation par plan d'expériences, validée statistiquement, montre que les concentrations finales en TBT dans la laitue ne dépendent alors plus de l'apport initial dans le sol. Il est possible que la durée de l'expérimentation et les dégradations plus importantes dans le sol soient directement en cause dans ce résultat.

Quand la relation $[TOT]_{\text{laitue}} = f([TOT]_{\text{sol}})$ est établie, elle est linéaire (effet positif).

Les résultats obtenus après 69 jours de culture ne permettent pas de mettre en évidence une influence du pH initial (3.5-7.5) dans le sol sur les concentrations en triorganoétains dans les végétaux. Ceci est dû aux fortes variabilités dans le cas des cultures de laitues et pour le TPhT dans les haricots verts. Le pH du sol apparaît cependant réellement non-significatif sur le transfert du TBT dans le cas de l'expérimentation sur les haricots verts. D'autre part, le pH

final du sol a été mesuré (cf Tableau 5.1). Il s'avère que la gamme de pH est plus étroite que celle initialement imposée, ce qui pourrait expliquer que dans ce domaine de variations plus réduit, le pH ne soit pas influent.

Une démarche similaire a été réalisée pour l'étude du prélèvement, en terme de quantité d'organoétains présents dans le végétal. L'exploitation des plans d'expériences a été faite pour les données à 54 et 69 jours. Ces résultats ne permettent pas de mettre en évidence l'influence de la quantité de boue sur le prélèvement du TBT ou du TPhT.

L'exploitation des plans à 69 jours ne permet pas de montrer une incidence du pH sur le prélèvement des triorganoétains. Dans le cas du TBT où le modèle obtenu est significatif ($R^2 = 0,6264$), le pH apparaît réellement n'avoir aucune influence sur le prélèvement de ce composé par les haricots verts, et donc sur sa biodisponibilité, ce qui est en accord avec les remarques faites précédemment.

Lorsque les modèles établis par plans d'expériences s'avèrent significatifs (54 et 69 jours), ils font clairement apparaître que plus la quantité de triorganoétains présentes initialement dans le sol est grande, plus la quantité de triorganoétains prélevée par le végétal est forte. Les relations sont similaires à celles précédemment validées pour les concentrations.

Il existe donc, à conditions de culture identiques, pour un organoétain donné –TBT ou TPhT- une relation entre sa concentration dans le végétal et sa concentration initiale dans le sol. Le pH n'apparaît, dans le domaine expérimental étudié, avoir d'influence ni sur la quantité d'organoétain prélevée, ni sur la bioconcentration.

D'un point de vue méthodologique, le recours aux plans d'expériences a permis de mettre en évidence l'incidence des concentrations initiales en organoétains dans le sol.

3.1.2 Première approche des mécanismes de prélèvement

Compte tenu des résultats précédents, nous avons tenté de comparer les quantités de butyl- et phénylétains prélevées et la bioconcentration entre les différents plans d'expériences, en prenant en compte la spéciation. L'objectif est la compréhension du comportement du végétal vis à vis du prélèvement (sélectif ou pas) et du devenir (dégradation en particulier) des différents organoétains en son sein.

Pour cela, nous avons estimé les valeurs de FT et FP, pour les séries d'expérimentation pour lesquelles la relation entre concentrations ou quantités dans le sol et dans la plante a pu être établie. Les calculs ont été réalisés à la fois à partir des concentrations ou des masses directement mesurées (régression linéaire sur données « brutes ») mais également à partir des modélisations faites par plans d'expériences. Les résultats sont donnés dans le tableau 5.3.

Tableau 5.3 : Facteurs de transfert (FT)^{*} et de prélèvement (FP)^{*} calculés pour l'expérience au centre du domaine

¹à partir des données brutes, ² via les plans d'expériences

		TBT		TPhT	
		FT	FP. 10 ³	FT	FP. 10 ³
LAITUES	32 jours	¹ 0,20 ± 0,05	¹ 0,7 ± 0,2	¹ 1,0 ± 0,1	¹ 1,3 ± 0,5
	54 jours	¹ 0,14 ± 0,04	¹ 4,0 ± 0,9	¹ 0,23 ± 0,02	¹ 1,2 ± 0,4
	69 jours	² 0,15 ± 0,02	² 3 ± 1	² 0,21 ± 0,03	² 1,2 ± 0,7
HARICOTS VERTS	69 jours	¹ 0,24 ± 0,07	¹ 0,06 ± 0,01	nd	nd
	69 jours	¹ 0,021 ± 0,009	¹ 0,18 ± 0,03	nd	nd
		² 0,03 ± 0,01	² 0,2 ± 0,1	nd	nd

* Les écarts- types associés aux valeurs moyennes au centre sont des écarts- types inter- individus

Conditions initiales d'expérimentation : Boue : 1-9% ; pH = 3.5-7.5 ; Concentrations initiales dans le sol : [TBT] et [TPhT] = 20-150 µg(Sn).kg⁻¹

Les valeurs de FT et FP calculés par le biais des données brutes et des modèles issus des plans d'expériences sont en accord, ce qui montre la validité de la modélisation.

La figure 5.3 ci-après présente les concentrations et les quantités de triorganoétains dans le végétal de façon plus détaillée et conjointement pour les trois plans d'expériences.

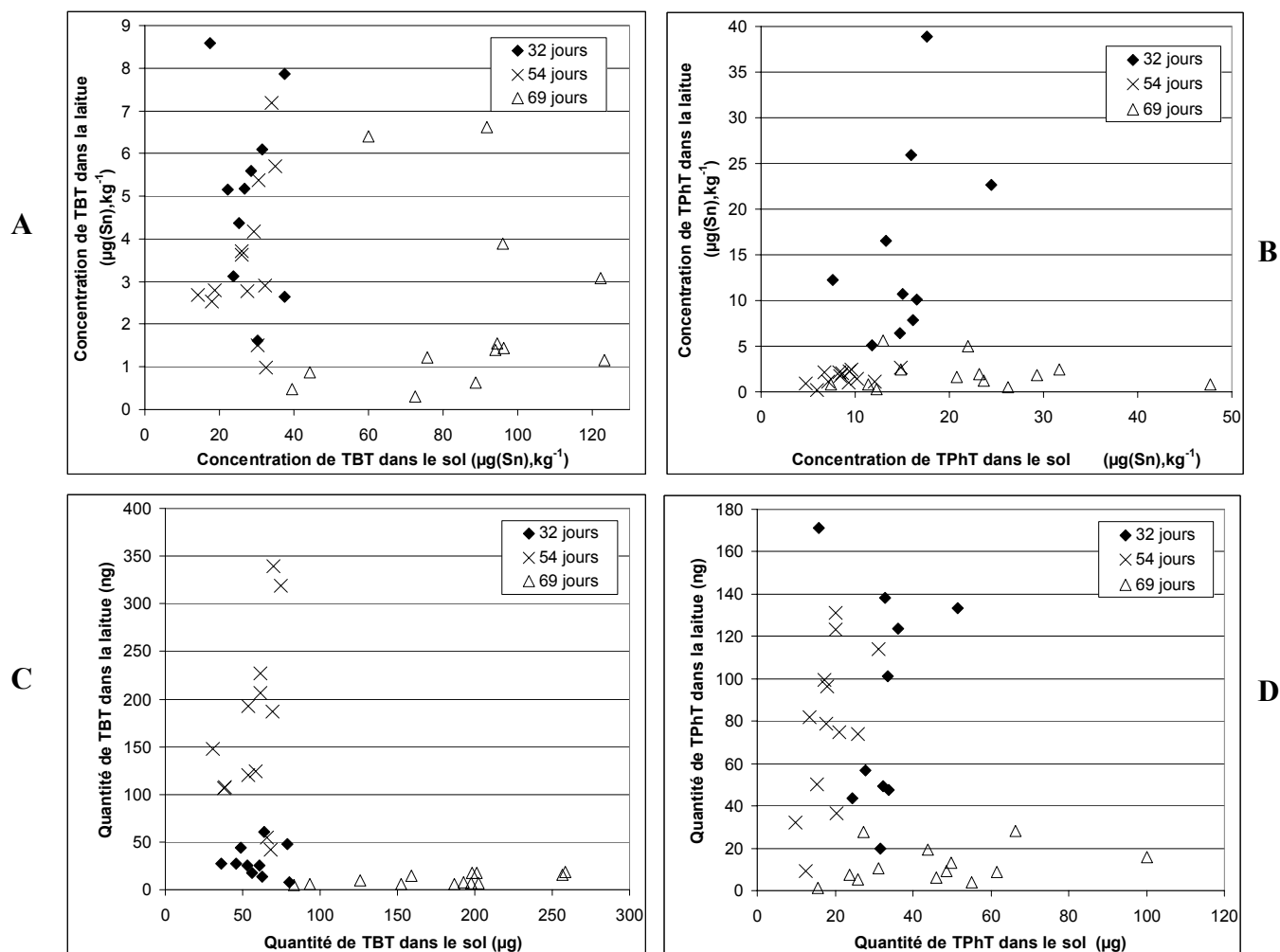


Figure 5.3 : Correspondance entre les concentrations ou les quantités finales en triorganoétains dans le sol et dans la plante (laitue) pour les trois séries d’expérimentations.

Les valeurs de FP confirment logiquement les premières observations faites à partir des résultats du tableau 5.1 : la quantité de TPhT prélevée apparaît être constante d’une série d’expériences à l’autre, sauf pour le plan à 69 jours où elle est plus faible, alors que celle en TBT est d’autant plus importante que les Σ DJC sont grands. Les haricots verts absorbent également plus d’organoétains que les laitues.

Le phénomène de bioconcentration par contre apparaît assez constant pour le TBT, tandis que pour le TPhT, il dépend de la durée de l’expérimentation. La bioaccumulation est ainsi plus importante à 32 jours, alors qu’à 54 ou 69 jours, elle est plus faible. La même constatation avait précédemment été faite pour le TBT dans les haricots verts, lorsque le sol avait été contaminé via une solution contenant cet organoétain (Lespes *et al.*, 2003).

Afin d'affiner les observations, et notamment de tenir compte de la spéciation, les figures 5.4 et 5.5 suivantes présentent les concentrations finales en organoétains dans les plantes, en fonction des concentrations finales dans le sol.

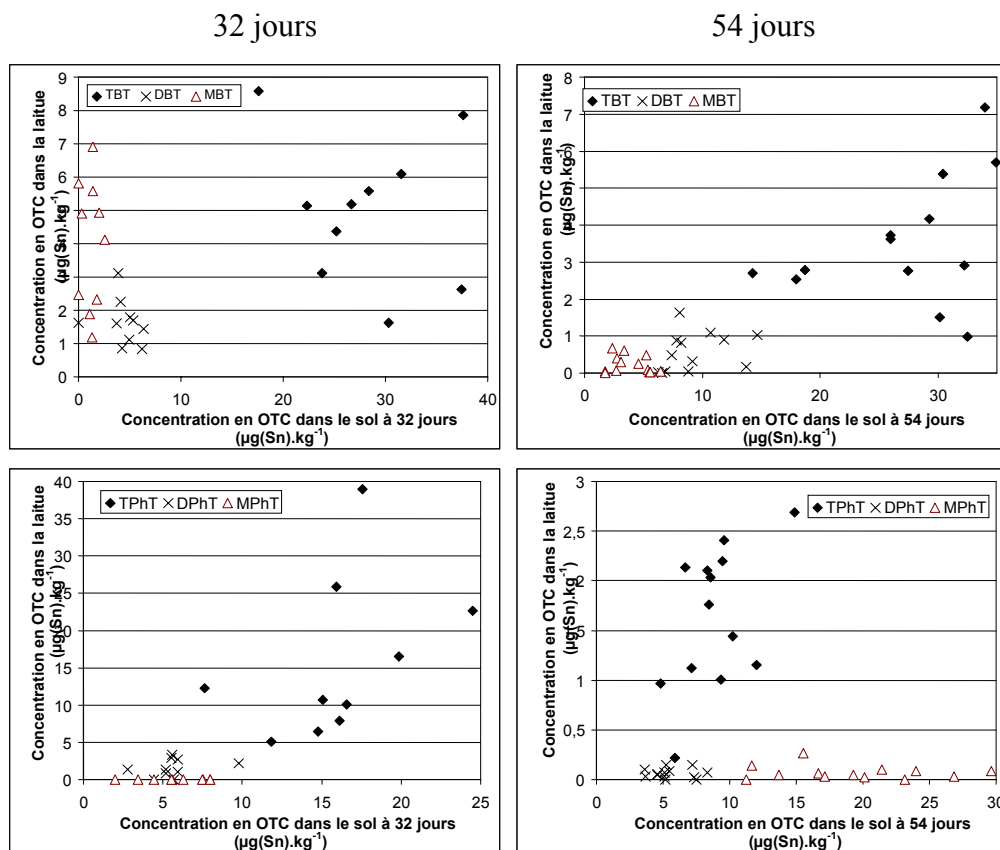


Figure 5.4 : Correspondance entre les concentrations en organoétains dans la plante (laitue) et les concentrations finales dans le sol - Apport initial dans le sol : 20- 50 µg(Sn) .kg⁻¹

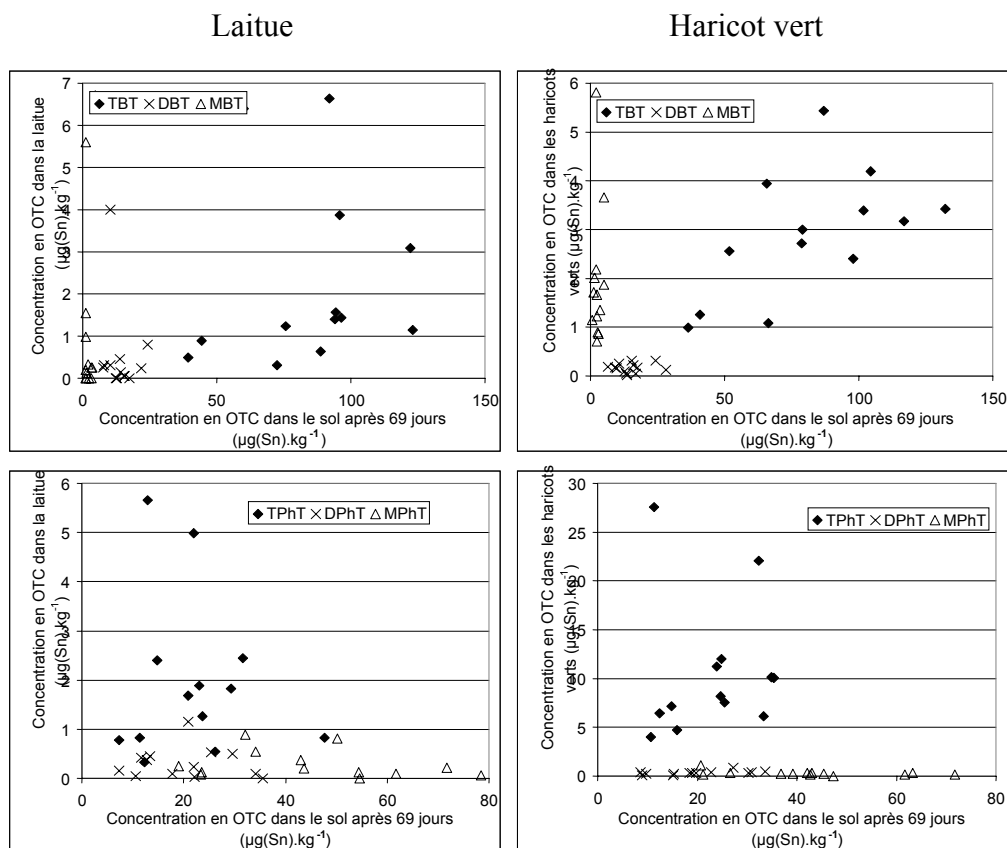


Figure 5.5 : Correspondance entre les concentrations en organoétains dans la plante (laitue et haricots verts) et les concentrations finales dans le sol - Apport initial dans le sol : 50- 150 $\mu\text{g}(\text{Sn}) \cdot \text{kg}^{-1}$

Ces figures permettent de constater que le DBT, produit de dégradation du TBT, est en concentration aussi importante que le TBT pour le plan d'expériences à 32 jours. Le MBT est présent également, mais en plus faible concentration. Par la suite, des concentrations assez faibles en MBT et DBT sont trouvées dans la laitue. Ceci n'est pas le cas dans les haricots verts où le MBT a des concentrations plus fortes.

Ces figures mettent également en évidence le fait que le DPhT et le MPhT sont généralement très peu présents, voire non détectés, aussi bien dans les laitues que les haricots verts.

Plusieurs hypothèses peuvent être avancées pour expliquer l'ensemble des observations précédentes, en raisonnant séparément sur les butyl- ou sur les phénylétains :

- 1- soit les composés trisubstitués, ainsi que les mono-, diorganoétains présents dans le sol par dégradation du triorganoétain sont transférés dans le végétal. Il y a peu ou pas de dégradation au sein du végétal ;

2- soit les composés trisubstitués, ainsi que les mono-, diorganoétains présents dans le sol par dégradation du triorganoétain sont transférés dans le végétal. Il y a dégradations au sein du végétal ;

3- soit seul le composé trisubstitué initialement introduit dans le sol est prélevé par la plante. Il n'y a pas prélèvement des espèces mono- et disubstituées présentes dans le sol. Le triorganoétain n'est pas ou peu dégradé dans la plante ;

4- soit seul le composé trisubstitué initialement introduit dans le sol est prélevé par la plante. Il n'y a pas prélèvement des espèces mono- et disubstituées présentes dans le sol. Le triorganoétain est dégradé dans la plante.

En ce qui concerne les butylétains, on a pu observer que les quantités en TBT dans le végétal augmentent avec la croissance de celui-ci, alors que sa concentration reste constante, du fait du développement végétal. Dans ce cas, l'hypothèse 1 semble la plus probable : le TBT serait prélevé de façon continue durant la culture, avec une dégradation peu quantitative dans le végétal. Cependant, les figures 5.4 et 5.5 mettent en évidence que le TBT n'est pas toujours l'espèce butylée majoritaire dans la plante, bien qu'il existe une corrélation significative ($r > 0,79$ dans tous les cas) entre la concentration en TBT et celle en butylétain dans le végétal. Ainsi, le MBT et le DBT représentent 30 à 70% des formes butylées dans le végétal à 32 jours. Par contre, ils ne représentent plus que 3 à 35 % des butylétains à 54 jours. Ces observations montrent que l'hypothèse privilégiée est l'existence d'une absorption significative par le végétal du MBT et DBT présents dans le sol. Ce prélèvement dépend naturellement des concentrations en ces composés disponibles dans le sol. De ce fait, il est plus important lorsque le TBT a commencé à se dégrader dans le sol et que la plante a encore peu prélevé ces espèces, c'est à dire probablement après quelque semaines de culture. On retrouve également du MBT et DBT dans la plante à 69 jours (ils représentent 4 à 60% des formes butylées dans la laitue et 30 à 65% dans les haricots verts, comme l'illustre la figure 5.5). Un phénomène de débutylation pourrait donc également intervenir au sein du végétal, mais il serait assez lent et resterait peu important par rapport au prélèvement direct des espèces mono- et disubstituées du sol.

Pour les phénylétains, on constate que la quantité de TPhT prélevée est constante à 32 et 54 jours. De plus, il existe une très forte corrélation ($r > 0,98$ pour les trois plans d'expériences) entre les concentrations en TPhT et en phénylétains dans la plante. Les figures 5.4 et 5.5 confirment que le TPhT est l'espèce largement majoritaire, à plus de 85% dans la plupart des expériences. L'hypothèse 3 apparaît alors la plus vraisemblable : malgré les dégradations très

significatives de ce composé dans le sol, le TPhT est le seul phénylétain prélevé par les végétaux (laitue ou haricot vert) et le phénomène de déphénylation dans l'ensemble du végétal est très peu quantitatif. L'absorption du TPhT par la plante interviendrait essentiellement dès les premières semaines de culture, la quantité prélevée étant indépendante de la durée de culture. Le MPhT et le DPhT ne seraient pas biodisponibles pour la plante. Compte tenu des conditions finales des cultures (les racines de laitue occupaient la totalité de l'espace dans les pots) et des données de la littérature sur la persistance des MPhT et DPhT et le fait que la biodégradation intervienne dans la solution du sol, l'hypothèse la plus probable semble être une forte sorption de ces composés sur les phases solides du sol (voir chap 1 et Simon, 2000). Des expériences complémentaires sont cependant nécessaires pour la confirmer.

Afin d'affiner nos connaissances et de préciser en particulier s'il existe d'éventuelles compétitions lors du prélèvement des organoétains, nous avons réalisé une série d'analyses en composantes principales. Pour cela, nous avons pris en compte les données obtenues dans les laitues uniquement et traité ces données tout d'abord dans leur globalité, puis par série d'expériences (c'est-à-dire 32, 54 et 69 jours séparément).

L'analyse en composantes principales globale montre qu'il existe très peu de corrélations entre les concentrations ou quantités d'organoétains dans le sol et la plante, lorsqu'on traite les 3 séries ensemble. Aucune corrélation significative dans un intervalle de confiance de 95% n'est ainsi établie pour le TBT et le TPhT. Par contre, les trois séries d'expériences sont statistiquement différentes, ce qui confirme que les systèmes sol / plante de ces trois séries se sont comportés différemment sous l'influence de paramètres non contrôlés, tels que la température ou l'exposition à la lumière.

Compte tenu de ces résultats, nous avons donc par la suite traité et présenté les données des 3 séries d'expérimentation indépendamment, puis comparé les résultats obtenus. Les résultats obtenus à partir des concentrations ou des quantités étant peu différents, nous avons choisi de présenter, dans les tableaux 5.4, 5.5 suivants, les principaux coefficients de corrélation calculés en considérant les concentrations en organoétains. Les coefficients statistiquement significatifs, dans un intervalle de confiance de 95%, y sont présentés en caractères gras. La mention « nd » signifie que l'analyse statistique n'a pas été réalisée pour le composé concerné, sa concentration étant nulle pour l'ensemble des expériences d'un plan.

Tableau 5.4 : Coefficients de corrélation entre les concentrations finales des différents organoétains dans la plante. (Calcul par ACP - Laitue).

32 jours		Concentrations finales dans la plante					
		TBT	DBT	MBT	TPhT	DPhT	MPhT
Concentrations finales dans la plante	TBT	1,000					
	DBT	0,6464	1,000				
	MBT	0,1486	0,6392	1,000			
	TPhT	0,5356	0,8663	0,6442	1,0000		
	DPhT	0,6090	0,7604	0,5813	0,8940	1,0000	
	MPhT	nd	nd	nd	nd	nd	nd

54 jours		Concentrations finales dans la plante					
		TBT	DBT	MBT	TPhT	DPhT	MPhT
Concentrations finales dans la plante	TBT	1,0000					
	DBT	0,6167	1,0000				
	MBT	0,0092	0,6040	1,0000			
	TPhT	0,5819	0,2766	0,0753	1,0000		
	DPhT	0,4169	0,2532	0,0597	0,1221	1,0000	
	MPhT	0,0102	-0,0402	-0,1082	-0,1237	-0,1386	1,0000

69 jours		Concentrations finales dans la plante					
		TBT	DBT	MBT	TPhT	DPhT	MPhT
Concentrations finales dans la plante	TBT	1,000					
	DBT	0,2123	1,000				
	MBT	0,4879	-0,1431	1,000			
	TPhT	0,5212	-0,2969	0,6322	1,0000		
	DPhT	0,4993	0,0486	0,1083	0,6615	1,000	
	MPhT	0,3201	-0,3640	0,8964	0,7403	0,2199	1,000

(seuil statistique de signification à 95% : 32 jours : $|r| \geq 0,5495$; 54 et 69 jours : $|r| \geq 0,4762$) ; nd : non déterminé

Tableau 5.5 : Coefficients de corrélation entre les concentrations finales d'un organoétain dans le sol et dans la plante. (Calculs par ACP - Laitue).

			TBT	DBT	MBT	TPhT	DPhT	MPhT
			Concentrations finales dans le sol					
Concentrations finales dans la plante	plante		-0,2186	-0,2444	-0,0986	0,4356	0,3027	nd
	racine	32 jours	-0,0891	-0,1336	0,0179	0,4840	0,3501	nd
	feuille		-0,1596	0,5176	-0,2397	-0,0386	0,0122	nd
	plante		0,3224	0,2062	-0,2822	0,3653	-0,2144	-0,1111
	racine	54 jours	0,3221	0,116	-0,2300	0,5052	-0,0614	nd
	feuille		0,0472	0,7847	-0,1583	-0,0533	-0,2268	-0,1095
	plante		0,5483	0,0111	-0,3094	-0,1253	0,3143	-0,4420
	racine	69 jours	0,3466	0,4785	0,6083	-0,1321	-0,1076	-0,3236
	feuille		-0,0334	-0,2442	-0,2823	-0,3263	-0,0821	-0,2147

(seuil statistique de signification à 95% : 32 jours : $|r| \geq 0,5495$; 54 et 69 jours : $|r| \geq 0,4762$) ; nd : non déterminé

D'après les données du tableau 5.5, on constate tout d'abord qu'aucune corrélation statistiquement significative n'existe entre la concentration finale d'un organoétain dans le sol et sa concentration dans la laitue (partie grisée). La seule exception concerne le TBT dans le plan à 69 jours. Le constat est assez similaire si l'on considère les quantités d'organoétains prélevées par la plante.

Les modèles précédemment établis par plans d'expériences montrent toutefois qu'il existe bien, pour les composés trisubstitués, une relation entre les concentrations initiales dans le sol et les concentrations ou masses dans le végétal. De plus, pour le TBT, les concentrations finales et initiales dans le sol restent du même ordre de grandeur, la dégradation du TBT y étant limitée. Cette relation dépend cependant aussi de la quantité de boue. Or, cette quantité est variable à 32 et 54 jours, alors qu'elle est constante à 69 jours. L'absence de corrélation à 32 et 54 jours est donc logique. D'autre part, la concentration finale en TBT dans le sol étant relativement constante sur la durée de l'expérimentation, la corrélation établie à 69 jours semble bien confirmer l'hypothèse d'un prélèvement continu de ce composé.

Dans le cas du TPhT, les fortes dégradations mises en évidence dans le sol (60% de déphénylation après 32 jours, 80% après 69 jours) peuvent en partie expliquer le manque de corrélation. Ceci pourrait aussi être, dans le cas de l'accumulation au sein de la plante, une conséquence de la répartition racine/ feuille des organoétains qui conduit à des concentrations

d'organoétain très différentes, selon la partie végétale considérée, comme nous le verrons plus en détails plus tard. Si l'on considère alors non pas la plante dans son ensemble mais les différentes parties du végétal (racine ou feuille, parties non grisées du tableau 5.5) et notamment la partie où s'accumule le plus l'organoétain étudié, les résultats diffèrent. Ainsi, dans le cas du TPhT, une corrélation positive entre concentration finale dans le sol et concentration dans les racines est établie à 54 jours ($r = 0,5052$), qui correspond aussi à la série d'expériences où l'on trouve le moins de produits de dégradation du TPhT dans la plante (moins de 10%). Compte tenu des dégradations importantes du TPhT dans le sol, il est finalement logique de ne pas trouver de corrélation entre concentrations dans le sol et la plante.

On trouve également une corrélation positive entre les concentrations en DBT et MBT dans le sol et dans les feuilles ou racines, à 54 et/ou 69 jours. Ceci confirme que ces composés ont été majoritairement prélevés du sol et ne sont donc pas les produits de la dégradation du TBT dans la plante.

L'absence de corrélation concernant les MPhT et DPhT est due au fait que ces composés sont très peu présents dans la plante (concentrations très faibles).

D'autre part, le tableau 5.4 montre qu'il existe des corrélations toutes positives entre les concentrations des différents organoétains dans la plante. Ainsi, la plante prélèverait toujours plus qu'elle ne dégraderait. De plus, aucune corrélation négative significative n'a été établie entre les concentrations en TBT dans le sol et celles en DBT ou MBT dans le végétal, ou les concentrations en TBT dans la plante et celles en DBT et MBT dans le sol. Il en est de même pour le TPhT avec les DPhT et MPhT. On retrouve le même résultat pour le MBT avec les DBT et TBT, et le DBT avec le MBT et TBT. L'ensemble de ces informations semblerait indiquer qu'il n'y a pas de compétition entre organoétains lors du prélèvement par le végétal. Ces résultats sont également en accord avec l'hypothèse de « non- biodisponibilité » du MPhT et du DPhT.

Le végétal apparaît avoir des comportements différents vis à vis du prélèvement des divers organoétains. Ainsi, Le TBT est absorbé de façon continue par la plante et ce d'autant plus que celle-ci se développe. Il y a peu de dégradations dans le végétal. Le MBT et le DBT sont aussi prélevés. Mais compte tenu de leurs faibles concentrations dans le sol, cette absorption reste moins quantitative que celle du TBT. Le TPhT est

essentiellement absorbé par la plante en début de culture, puis stocké avec peu de dégradations. Le MPhT et le DPhT n'apparaissent pas ou très peu prélevés par les plantes, car probablement non-biodisponibles. Il semble n'y avoir aucune compétition lors de l'absorption des organoétains. Ceci peut indiquer que les voies de prélèvement des divers organoétains sont différentes et indépendantes ou au contraire qu'il existe une seule voie de prélèvement, peu sélective. Dans ce dernier cas, le transfert aurait lieu via la voie hydrique.

Les informations obtenues sont résumées dans la figure 5.6 suivante.

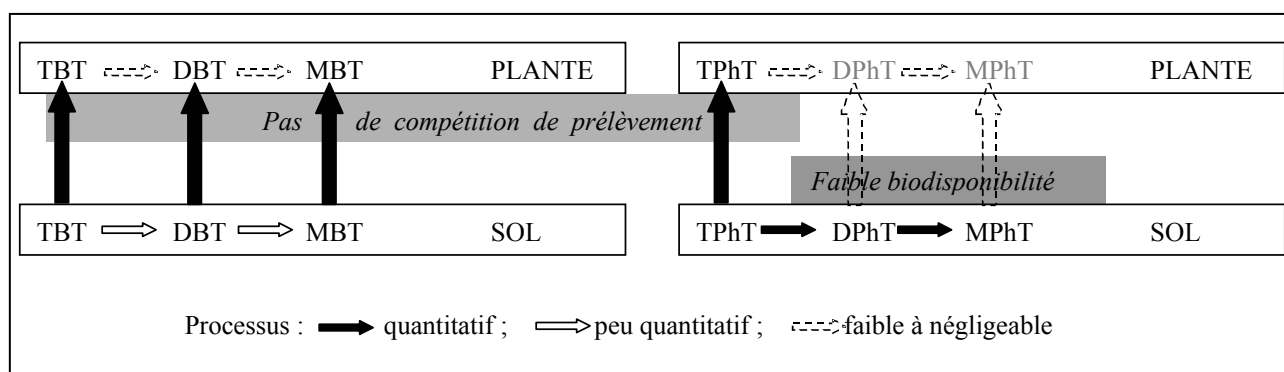


Figure 5.6 : Mécanismes de prélèvement et de transformation des organoétains dans la laitue.

Enfin, il apparaît que les quantités d'organoétains absorbées par la plante et les phénomènes de dégradation dépendent de la nature du végétal : les haricots verts semblent ainsi capables de prélever plus de butylétains et de TPhT que les laitues. Ils semblent également capables soit de prélever plus de DBT que de TBT, soit de dégrader plus le TBT en DBT que la laitue. Par contre, le prélèvement des DPhT et MPhT et/ ou la dégradation du TPhT apparaissent quasi-inexistants dans les haricots verts.

3.2. Répartition et spéciation des organoétains au sein des végétaux

Cette partie a pour objectif premier d'établir s'il y a stockage des organoétains et dans quelle partie du végétal. Pour atteindre ce but, nous avons raisonné en utilisant les quantités d'organoétains. Nous avons également tenté de cerner les mécanismes de transport au sein de la plante.

3.2.1 Répartition dans les différentes parties constitutives des végétaux

Un examen préliminaire des données nous a permis de constater qu'au sein de chaque plan d'expériences, la répartition relative racine / partie aérienne d'un organoétain donné variait très peu d'une plante à l'autre (moins de 10% d'écart). Nous avons donc décidé, à des fins de simplification, de ne présenter que les résultats moyens obtenus pour chacun des plans.

Ces résultats sont présentés dans le tableau 5.6 et les figures 5.7 et 5.8 ci-après.

Tableau 5.6 : Répartition des organoétains entre racines et parties aériennes

		Plan d'expériences			
Durée de l'expérimentation (jour)		32	54	69	69
Type de végétal		Laitue	Laitue	Laitue	Haricots verts
Masses végétales	Parties aériennes (matière sèche)	2	42	7	10
	Moyenne [maximum- minimum] (g)	[1-3]	[29-53]	[1-14]	[2-16]
	Racines	4	8	2	5
	Moyenne [maximum- minimum] (g)	[1-11]	[4-13]	[0.2-4.5]	[2-7]
	Répartition relative racines / feuilles (% / %)	62 / 38	16 / 84	18 / 82	36 / 64
TBT	PARTIES AERIENNES				
	Quantité moyenne* [minimum-maximum] (ng(Sn))	4±1 [1- 6]	18±2 [7-34]	7±1 [1- 14]	4±2 [2-23]
	RACINES				
	Quantité moyenne [minimum-maximum] (ng(Sn))	36 ± 3 [17- 60]	178±45 [90- 320]	3,0±0,6 [0.5 – 8]	37±4 [15-64]
	Répartition relative racines / feuilles (% / %)	90 / 10	90 / 10	30 / 70	87 / 13
TPhT	PARTIES AERIENNES				
	Quantité moyenne [minimum-maximum] (ng(Sn))	0,5±0,1 [<LD-1,7]	2,0±0,5 [1-4]	2±1 [<LD- 5]	0,2±0,1 [<LD-1,6]
	RACINES				
	Quantité moyenne [minimum-maximum] (ng(Sn))	110±20 [20-127]	101±3 [30-110]	11±4 [1- 14]	140±30 [80-250]
	Répartition relative racines / feuilles (% / %)	99,5 / 0,5	98 / 2	86 / 14	99,9 / 0,1

* moyenne ± écart-type inter-individu, évalués à partir des réplicats au centre du domaine

Les données présentées confirment que le développement végétal a été très différent selon le plan d'expériences considéré. La différence est particulièrement importante au niveau des masses de feuilles de laitue récoltées. Durant le plan à 54 jours, le développement végétal a été le plus important. Pour le plan à 32 jours, les végétaux ont eu peu de temps pour développer leurs parties aériennes. Durant le plan à 69 jours, où les conditions de culture étaient les plus drastiques (température basse, éclairage limité), l'ensemble du végétal s'est peu développé.

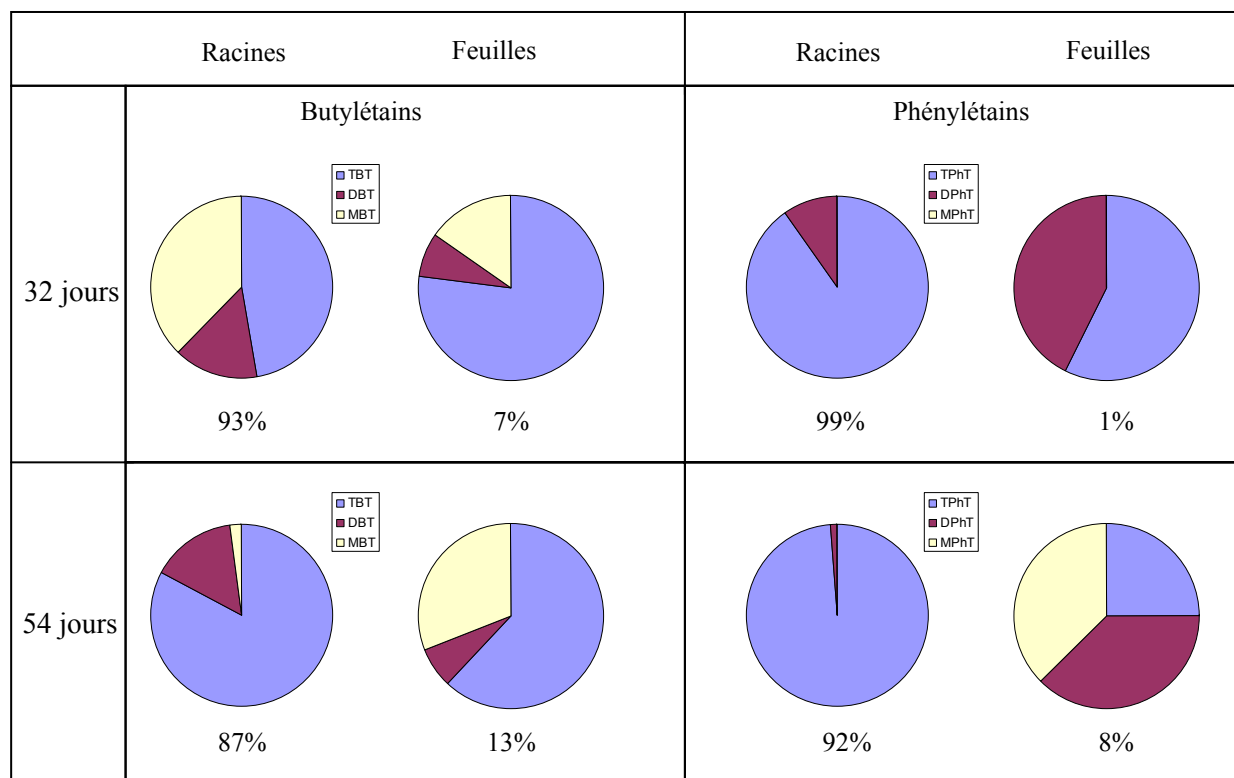


Figure 5.7 : Répartition relative des différentes espèces butylées et phénylées dans les racines et les feuilles de laitue au centre du domaine.

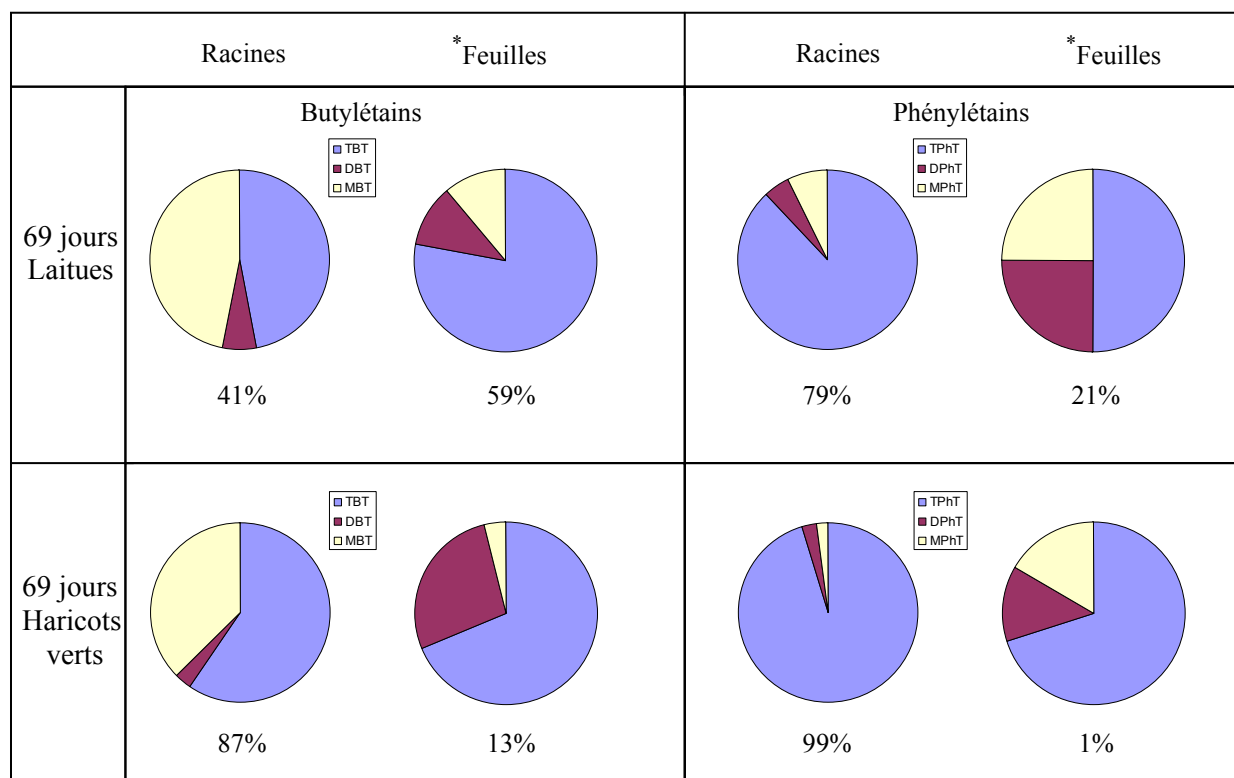


Figure 5.8 : Répartition relative des différentes espèces butylées et phénylées dans les racines et les feuilles (* ou parties aériennes) de laitue et des haricots verts au centre du domaine.

Concernant la répartition des organoétains dans le végétal, les résultats laissent clairement apparaître que les butylétains se trouvent en grande partie dans les racines, sauf pour les laitues cultivées durant 69 jours. Dans ce cas particulier, le transfert sol/ plante a été relativement faible et seule une dizaine de ng(Sn) de butylétains a été détectée dans les feuilles de laitue. C'est aussi pour ce plan d'expériences que le développement racinaire a été le plus limité. Le TBT est généralement l'espèce butylée prépondérante, à la fois dans les racines et les feuilles. Dans les racines, le MBT est trois fois sur quatre en quantité proche de celle du TBT, sauf pour le plan à 54 jours. Pour cette série d'expériences, le prélèvement a été le plus important : 225 ng(Sn) de butylétains, contre seulement 63 et 17 ng(Sn) pour les séries à 32 et 69 jours.

Les phénylétains se trouvent largement (à 80% ou plus) dans les racines et très peu dans les parties aériennes des plantes, quel que soit le plan d'expériences considéré. Le TPhT est également l'espèce prépondérante dans les racines : il y représente plus de 90% des espèces phénylées. Dans les feuilles par contre, DPhT et TPhT sont retrouvées en quantités quasiment égales. On décèle également du MPhT. Les quantités de phénylétains dans les parties aériennes sont cependant toujours inférieures à quelques ng(Sn).

D'autre part, les quantités de MBT, DBT, MPhT et DPhT trouvées dans les tiges de haricots verts sont généralement toujours du même ordre de grandeur que celles mesurées dans les feuilles. Pour les composés trisubstitués en revanche, le TBT est en plus grande quantité dans les feuilles, alors que c'est l'inverse pour le TPhT. Les quantités trouvées sont cependant très faibles (< 3 ng(Sn), quel que soit le composé considéré). Ces différences ne sont donc pas très significatives.

Les organoétains sont généralement toujours en quantités largement plus grandes dans les racines que dans les feuilles de laitue quel que soit le plan d'expériences considéré. Un résultat similaire est obtenu pour les haricots verts, dont les parties aériennes (feuilles ou tiges) s'avèrent être peu contaminées en organoétains. Il y a une exception notable : le plan à 69 jours, où le TBT apparaît en quantité plus importante dans les feuilles que dans les racines.

3.2.2 Première approche des phénomènes de transport et stockage au sein du végétal

Compte tenu des résultats précédents (Lespes et *al.*, 2003), il est incontestable qu'il y a un passage des organoétains du sol dans les tissus internes de la plante. Le transfert vers les parties aériennes apparaît toutefois limité. Plusieurs hypothèses peuvent donc être proposées quant à la pénétration des organoétains dans le végétal :

- 1) il y a un transport actif. Les organoétains « empruntent » les voies de prélèvement d'un ou plusieurs éléments essentiels à la plante ;
- 2) il y a une sorption importante sur les parois cellulaires de l'épiderme racinaire ;
- 3) il y a un transport passif (via le flux convectif).

La première voie de transport au sein du végétal apparaît la moins plausible. En effet, en supposant que les organoétains présents dans la solution de sol au contact des racines soient sous forme cationique, leur taille est largement supérieure à celle des cations indispensables à la plante (Ca^{2+} , K^+ ...). Ils pourront donc difficilement être impliqués dans les mécanismes de prélèvement actifs relatifs à ces cations. De plus, aucune compétition n'a été mise en évidence lors du prélèvement des différents organoétains, ce qui nous laisse supposer qu'il n'existe pas de voie sélective de prélèvement.

Comme nous l'avons vu, les organoétains sont, sauf exception, essentiellement présents dans les racines. Leur sorption quantitative sur les parois des cellules racinaires doit donc être envisagée. Ce phénomène est d'autant plus probable que les organoétains sont peu solubles dans les solutions aqueuses et qu'ils possèdent une grande aptitude à se fixer sur des solides riches en matière organique. Les mécanismes liés à leur sorption peuvent être divers (complexation de surface, interaction hydrophobe...). Cependant, ces mécanismes doivent nécessairement donner lieu à une sorption « forte », capable de résister aux lavages successifs que nous avons effectués sur les végétaux après leur récolte.

Le transport passif est à relier au flux convectif et à l'évapotranspiration. Celle-ci a été très importante durant le plan à 54 jours, les températures étant supérieures à 30°C durant certaines après-midis (culture en serre). Par contre, elle a été plus réduite durant les plans à 32 et surtout 69 jours (température moyenne de 12,5°C). Ceci a une conséquence directe sur les quantités d'organoétains prélevées : ces quantités sont d'autant plus faibles que l'évapotranspiration est réduite. Ceci montre donc que la voie de transport liée au flux convectif est très certainement la voie principale de pénétration des organoétains dans le végétal. L'absorption des composés organostanniques par la plante implique alors le

franchissement des membranes lipidiques des cellules. Le caractère hydrophobe des organoétains pourrait permettre ce franchissement par simple phénomène de diffusion. Ce mécanisme est généralement lent (Laberche, 2004). La progression de ces composés jusqu'au tissu racinaire interne, puis jusqu'aux parties aériennes apparaît néanmoins limitée. De même que la possible sorption à la surface racinaire, la diffusion au sein du tissu végétal, si elle est cinétiquement limitée, peut également conduire à l'accumulation des organoétains dans les racines. Le flux convectif n'entraînerait alors qu'une faible quantité d'organoétains dans les différentes parties du végétal (tissu interne racinaire, puis parties aériennes). Ces différentes hypothèses – sorption ou diffusion lente et accumulation dans les tissus externes racinaires - permettent d'expliquer que la répartition relative racine / partie aérienne est toujours similaire dans une série de cultures faite à conditions identiques. En effet, ces mécanismes sont tous dépendants des flux en organoétains arrivant au contact de la plante.

D'autre part, dans les parties aériennes, les butylétains sont toujours présents en quantités plus grandes que les phénylétains. Cette observation pourrait être liée à l'encombrement stérique des phénylétains, beaucoup plus important que celui des butylétains. La différence de liposolubilité entre ces composés pourrait également avoir une importance. De ce fait, le transport du TPhT au sein du végétal serait moins important que celui du TBT.

Le cas du TBT (dans la série d'expériences à 69 jours) dans les laitues est également intéressant. On constate ainsi que la quantité de TBT dans les racines est environ 12 fois plus petite que celle trouvée dans les racines de laitues à 32 jours, alors que le développement racinaire a été 2 fois moins important à 69 jours. Par contre, la quantité de TBT dans les feuilles est 2 fois plus importante que celle retrouvée à 32 jours, ces quantités étant toujours inférieures à 10 ng(Sn).

On peut encore observer que le TPhT est également en quantité beaucoup plus faible dans les racines. Ceci tendrait à confirmer que les organoétains ont été moins prélevés parce que la masse racinaire était plus faible et le flux convectif restreint. Ce flux existant aussi dans la solution de sol, il favorise le contact des organoétains avec les racines, et finalement leur sorption et / ou leur accumulation dans les tissus externes des racines. Durant les expériences à 69 jours, il a été probablement moins important et la surface de contact entre le sol et les racines était également réduite. Ceci aurait eu pour conséquence de défavoriser les phénomènes de sorption et donc, de diminuer l'accumulation des organoétains. Dans cette

hypothèse, les phénomènes de sorption seraient principalement responsables de l'accumulation des organoétains dans les racines.

D'autre part, la spéciation des organoétains dans les différentes parties constitutives du végétal (figures 5.7 et 5.8) montre que les MBT et DBT pourraient également répondre aux mêmes mécanismes de transfert vers et dans la plante que ceux évoqués pour le TBT et le TPhT. Ils sont ainsi retrouvés en quantités généralement beaucoup plus grandes dans les racines que dans les feuilles. Il y aurait peu de dégradations dans les racines et les parties aériennes. Les dégradations du TPhT en DPhT puis MPhT apparaissent très limitées (de l'ordre de quelques %). Elles interviendraient dans les racines et au niveau des parties aériennes où le MPhT y est essentiellement retrouvé durant les expériences à 54 et 69 jours.

Les résultats obtenus pour les haricots verts sont assez semblables à ceux concernant les laitues. La présence en quantité importante des organoétains dans les racines pourrait également indiquer qu'il y a sorption et / ou absorption et accumulation au niveau des tissus externes de la racines. Ces phénomènes pourraient être plus quantitatifs que ceux observés pour les laitues. Dans les tiges et les feuilles, les quantités d'organoétains sont similaires. Ceci pourrait être la conséquence d'un transfert continu des racines vers les feuilles, via les tiges.

Afin de compléter nos connaissances, nous avons recherché les possibles corrélations entre les quantités d'organoétains dans les différentes parties constitutives des plantes. Les principaux coefficients de corrélation calculés sont présentés dans le tableau 5.7 suivant. Les coefficients statistiquement significatifs, dans un intervalle de confiance de 95%, y sont présentés en caractères gras. Seuls les résultats relatifs aux laitues sont présentés.

Tableau 5.7 : Coefficients de corrélation, calculés par ACP, entre les masses d'organoétains dans les racines et les masses dans les feuilles de laitue

32 jours		Masses dans les racines					
		TBT	DBT	MBT	TPhT	DPhT	MPhT*
Masses dans les feuilles	TBT	0,5209	0,5843	0,7442	0,4309	0,3510	nd
	DBT	0,7055	0,6394	0,3966	0,5706	0,5798	nd
	MBT	0,5500	0,6047	0,5444	0,5602	0,4967	nd
	TPhT	0,2633	0,5438	0,4108	0,2436	0,1433	nd
	DPhT	0,0833	0,3539	0,5455	0,2998	0,2251	nd
	MPhT*	nd	nd	nd	nd	nd	nd

54 jours		Masses dans les racines					
		TBT	DBT	MBT	TPhT	DPhT	MPhT*
Masses dans les feuilles	TBT	-0,0663	-0,2190	-0,1100	-0,0940	-0,1485	nd
	DBT	0,1471	-0,0135	0,0007	-0,0931	0,1854	nd
	MBT	-0,0697	0,0610	-0,0128	0,1511	0,0743	nd
	TPhT	0,1799	0,0536	0,3490	0,4082	0,5702	nd
	DPhT	0,4527	0,2176	0,1149	0,2206	0,3761	nd
	MPhT	0,2937	0,0611	-0,2009	0,1581	-0,0811	nd

69 jours		Masses dans les racines					
		TBT	DBT	MBT	TPhT	DPhT	MPhT
Masses dans les feuilles	TBT	0,1079	0,2531	0,0745	0,2036	-0,1544	-0,1044
	DBT	-0,4873	-0,0361	-0,0729	-0,2129	-0,3270	-0,4672
	MBT	-0,5020	-0,1703	-0,1933	-0,5018	-0,4417	-0,4068
	TPhT	0,5456	0,7195	0,6978	0,5433	0,0196	0,6099
	DPhT	-0,1893	0,0627	0,1999	-0,2904	0,0814	0,2025
	MPhT	0,0593	0,0168	-0,0497	0,1835	-0,0125	-0,1776

(seuil statistique de signification à 95% : $|r| \geq 0,5495$ (32 jours) ou 0,4762 (54 et 69 jours))

* Aucun calcul n'a été réalisé pour ce composé dont les masses dans les parties végétales concernées < à la limite de détection

L'étude en composantes principales fait ressortir, qu'exception faite du DBT à 32 jours et du TPhT à 69 jours, il existe peu de corrélations entre la quantité d'un organoétain dans les racines et dans les feuilles de laitue, pour les trois plans d'expériences. Ce résultat n'est pas

étonnant pour les MPhT, DPhT présents en très faibles quantités au sein des différentes parties du végétal.

Les butylétains dans les racines et les feuilles corrént positivement à 32 jours. Ces corrélations ne sont plus observées pour les autres plans, alors que des corrélations négatives apparaissent à 69 jours. Ceci pourrait provenir du fait que le transfert des butylétains prélevés dans le sol vers les parties aériennes intervient en début de culture.

Le transfert des organoétains des racines vers les parties aériennes implique généralement moins de 10% des espèces considérées. Il y a peu de corrélations entre les quantités d'un organoétain dans les racines et dans les parties aériennes, ce qui montre qu'il n'existe pas, malgré les faibles dégradations au sein du végétal un transfert actif du type : $OTC_{sol} \rightarrow OTC_{racines} \rightarrow OTC_{parties\ aériennes}$. Ces observations pourraient être la conséquence d'un processus multiple, impliquant sorption et absorption/ accumulation dans les tissus externes des racines puis transfert vers l'ensemble du végétal, par un mécanisme de diffusion passive liée au flux convectif.

La figure 5.9 suivante présente les mécanismes proposés lors du transfert sol / racine / partie aérienne des plantes.

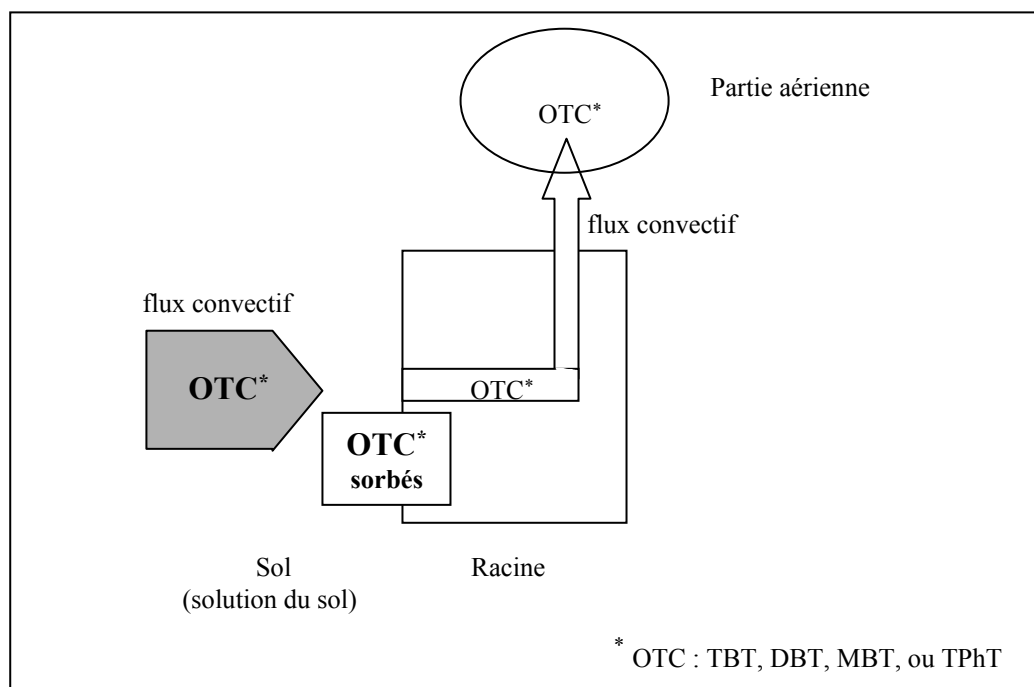


Figure 5.9 : Les différents mécanismes envisagés lors du prélèvement et du transport des organoétains dans les laitues et les haricots verts.

3.3. Influence de l'exposition aux organoétains sur les masses végétales

Dans cette partie, nous avons recherché la possible incidence des organoétains présents dans le sol ou prélevés par la plante sur les végétaux.

Pour cela, nous avons tout d'abord réalisé une analyse en composantes principales, pour chacun des plans d'expériences, en considérant les masses d'organoétains et les masses végétales (racines ou feuilles seulement). A des fins de comparaison, nous n'avons considéré que les laitues.

Le tableau 5.8 suivant présente les résultats concernant les quantités finales d'organoétains dans le sol, pour chacun des trois plans.

Tableau 5.8 : Coefficients de corrélation, calculés par ACP, entre les masses végétales de laitue et les masses finales d'organoétains dans le sol.

Quantités		Masses (32 jours)		Masses (54 jours)		Masses (69 jours)	
		Racines	Feuilles	Racines	Feuilles	Racines	Feuilles
Dans le sol	TBT	-0,0306	0,1328	-0,4747	-0,4679	-0,0215	0,3760
	DBT	0,3311	0,2401	-0,5599	-0,5674	-0,1951	-0,2470
	MBT	0,0587	-0,1356	-0,2161	-0,0405	-0,1534	-0,0400
	TPhT	0,0204	0,1503	0,1817	0,3508	0,5965	0,4791
	DPhT	-0,0587	0,1511	0,0913	0,1858	0,3903	0,3065
	MPhT*	nd	nd	0,0405	-0,0816	0,1578	0,0970

(seuil statistique de signification à 95% : $|r| \geq 0.5495$ (32 jours) ou 0.4762 (54 et 69 jours))

* Aucun calcul n'a été réalisé pour ce composé dont les masses dans les parties végétales concernées < à la limite de détection

De façon générale, peu de corrélations sont mises en évidence. Seuls le DBT et le TBT paraissent avoir une influence négative sur le développement végétal, pour le plan à 54 jours, c'est-à-dire le plan où le prélèvement d'organoétains a été le plus important.

Les quantités de TBT, DBT et TPhT présents dans le sol ne corrélaient pas avec les masses de végétaux récoltés à 32 jours. Ceci pourrait être dû au faible prélèvement et / ou à la forte sorption du TBT et du TPhT sur la boue, effet qui s'estompe avec le temps, comme nous l'avons précédemment montré (Chap. 4).

Les phénylétains n'ont quant à eux aucun effet. Seul le TPhT à 69 jours corréla positivement avec les masses végétales pour le plan à 69 jours. Pour les MPhT et DPhT présents dans le

sol, le manque de corrélation est simplement lié au fait que ces composés ne sont pas ou très peu prélevés les plantes.

On peut également prendre en considération les corrélations avec les masses d'organoétains dans les racines ou les feuilles (tableau 5.9 suivant).

Tableau 5.9 : Coefficients de corrélation, calculés par ACP, entre les masses végétales de laitue et les masses d'organoétains dans les racines ou les feuilles de laitue

Quantités		Masses (32 jours)		Masses (54 jours)		Masses (69 jours)	
		Racines	Feuilles	Racines	Feuilles	Racines	Feuilles
Dans les racines	TBT	0,7624	0,2156	-0,1428	-0,2202	-0,1549	-0,3977
	DBT	0,7472	0,1881	-0,3894	-0,4881	-0,3970	-0,3562
	MBT	0,5030	0,4300	-0,3683	-0,3772	-0,2884	-0,2603
	TPhT	0,7293	0,3427	0,1155	0,0722	-0,0852	-0,0055
	DPhT	0,7212	0,2684	-0,3324	-0,4646	-0,6037	-0,4093
	MPhT*	nd	nd	nd	nd	0,2215	0,0371

Quantités		Masses (32 jours)		Masses (54 jours)		Masses (69 jours)	
		Racines	Feuilles	Racines	Feuilles	Racines	Feuilles
Dans les feuilles	TBT	0,3952	0,3190	0,0613	0,0653	-0,2819	-0,4945
	DBT	0,9157	0,5140	-0,4720	-0,3543	-0,2403	-0,0922
	MBT	0,9095	0,7940	0,1495	0,0902	-0,2130	-0,2065
	TPhT	0,2442	-0,2380	-0,1934	-0,2655	-0,0655	-0,0741
	DPhT	0,0136	-0,3390	-0,2385	-0,0236	-0,2985	-0,1598
	MPhT*	nd	nd	-0,2291	-0,1726	-0,2987	-0,2696

(seuil statistique de signification à 95% : $|r| \geq 0.5495$ (32 jours) ou 0.4762 (54 et 69 jours))

* Aucun calcul n'a été réalisé pour ce composé dont les masses dans les parties végétales concernées < à la limite de détection

Les corrélations significatives trouvées sont toutes positives, et sont plus nombreuses à 32 jours qu'à 54. D'autres travaux ont pu relier l'importance du prélèvement à l'âge du végétal, une plante plus jeune prélevant comparativement plus qu'une plante plus âgée (Lespes *et al.*, 2003). Pour le plan à 69 jours, aucune corrélation n'a pu être établie, probablement à cause du prélèvement limité des organoétains par la plante. Ce prélèvement est donc directement relié à la croissance du végétal : une plante plus développée serait capable d'un prélèvement hydrique plus important si les conditions du milieu le nécessite.

Enfin, aucune nécrose ou déformation n'a été constatée sur aucune des plantes récoltées, bien que celles-ci soient restées généralement petites, sauf pour le plan à 54 jours. Une étude précédente avait déterminée le seuil de toxicité à $100 \mu\text{g}(\text{Sn}).\text{L}^{-1}$ en TBT ou TPhT, pour des haricots verts cultivés en hydroponie (Simon *et al.*, 2002). Des cultures avaient alors été réalisées avec des solutions à $50 \mu\text{g}(\text{Sn}).\text{L}^{-1}$. Quelques nécroses avaient été toutefois remarquées au niveau des racines et des feuilles. Les concentrations retrouvées dans les premières feuilles étaient de 840 ± 40 et $115 \pm 8 \mu\text{g}(\text{Sn}).\text{kg}^{-1}$, respectivement en TBT et TPhT. Ces concentrations sont cinquante fois plus élevées que celles retrouvées dans la présente étude. Elles montrent que les capacités d'accumulation des organoétains au sein des végétaux cultivés, y compris les parties aériennes, sont très grandes.

Nos conditions de culture, qui se voulaient représentatives de celles « au champ », ont permis d'obtenir des végétaux paraissant sains. Les laitues obtenues après 54 jours de culture en serre le démontrent. Les quantités d'organoétains apportées au sol via une boue de station d'épuration ou celles prélevées ne semblent donc pas avoir eu d'incidence notable sur le développement végétal, dans la gamme d'apport étudiée.

4. Bilan et conclusion

Cette étude a permis d'obtenir les premières informations sur le prélèvement des organoétains par le végétal. Ainsi, à conditions de culture identiques, les quantités d'espèces organostanniques prélevées dépendent des quantités d'organoétains initialement introduites dans le sol. La quantité de boue mélangée au sol intervient directement sur la bioaccumulation du TBT, probablement en immobilisant ce composé par des phénomènes de sorption. Dans le domaine expérimental étudié, le pH n'a d'influence, ni sur le prélèvement, ni sur la bioconcentration des organoétains.

Les valeurs de FT calculées apparaissent beaucoup plus faibles que celles évaluées dans une étude précédente, après 60 jours de culture de haricots verts (Lespes *et al.*, 2003). Dans ce travail, le sol a été amendé par une boue « naturellement contaminée » et une valeur forte du FT ($11,9 \pm 0,2$) a été trouvée pour le TBT. L'apport de TBT a également été réalisé via une solution. Le facteur de bioconcentration correspondant ($0,50 \pm 0,08$) est encore près de 20 fois supérieur à celui obtenu dans la présente étude. Une bioconcentration encore plus forte a été mise en évidence dans une étude réalisée en hydroponie (Simon *et al.*, 2002).

Ces différents résultats permettent de mettre en évidence l'influence des conditions d'apport des organoétains dans le système sol / plante sur le prélèvement de ces composés par le végétal et sa grande capacité de bioaccumulation. La biodisponibilité des organoétains a été probablement assez faible dans le sol amendé par une boue de station d'épuration soumis à nos conditions expérimentales de culture. Les quantités d'organoétains apportées au sol ne sont donc pas les facteurs prépondérants dans le transfert sol / plante. Ceci est particulièrement mis en évidence dans la présente étude.

Différents mécanismes de transfert entre le sol et la plante ont également été proposés, selon la nature de l'organoétain considéré. Les butylétains seraient (ab)sorbés de façon lente et continue. Le TPhT apparaît transféré essentiellement en début de culture. Il y a relativement peu de dégradations au sein du végétal. Le transfert des différentes espèces organostanniques ne semble pas soumis à des phénomènes de compétition. La voie de pénétration dans le végétal apparaît donc être peu sélective.

Le prélèvement semble également relié au phénomène d'évapotranspiration. Le passage dans la plante se ferait par transport passif, via le flux convectif. L'accumulation importante des organoétains dans les racines pourraient résulter de deux phénomènes : une diffusion très lente ou limitée dans les tissus racinaires externes et / ou des phénomènes de sorption à la surface de ces racines. Le deuxième processus semble plus probable, ou prépondérant. Ces hypothèses sont cependant à confirmer. Ainsi, le transport passif via le flux convectif pourrait être évalué par l'estimation et la comparaison du flux d'évapotranspiration et du flux de solution de sol arrivant à la plante. Les mécanismes intervenant dans les parties externes des racines pourraient également être plus intimement étudiés via, par exemple, des expériences de sorption, une analyse fine des surfaces racinaires ou une identification des macromolécules susceptibles de complexer les organoétains.

Quels que soit le processus prépondérant, la biodisponibilité vis à vis de l'ensemble du végétal (parties aériennes en particulier) a été faible dans nos conditions expérimentales. Au final, la culture en milieu contaminé par les organoétains ne semble pas avoir eu de conséquences néfastes sur le développement des végétaux. Ceci n'est cependant pas toujours le cas (Simon *et al.*, 2002 ; Lespes *et al.*, 2003). Les futurs travaux visant à confirmer les hypothèses proposées dans ce chapitre représentent donc un enjeu important pour la compréhension des mécanismes déterminant la biodisponibilité des organoétains vis à vis des plantes.

Les plantes apparaissent aussi pouvoir jouer un rôle prépondérant dans le stockage des organoétains. En effet, les quantités significatives détectées dans les racines (jusqu'à une cinquantaine de $\mu\text{g}(\text{Sn}) \text{ kg}^{-1}$ de TBT ou de TPhT) sont loin d'être négligeables si on les rapportent à l'échelle d'une parcelle cultivée. De plus, ces composés se sont très peu dégradés après leur contact avec les plantes. Cette dégradation apparaît même négligeable au regard de celle observée dans le sol (Lespes *et al.*, 2003). Il serait tout de même intéressant de s'intéresser au rôle de la lumière dans la dégradation des organoétains dans les feuilles des plantes. Même si les végétaux ne subissent pas directement les effets biocides des organoétains, ils peuvent contribuer à leur rémanence, remettant en cause la qualité des sols (microfaune et microflore). La libération de ces espèces après la récolte ou en fin de vie des végétaux et leur diffusion vers des milieux où se trouvent des organismes vivants très sensibles (typiquement les milieux aquatiques) doivent également être envisagées.

5. Références

- 1 Adriano, D.C. **2001**. Trace elements in terrestrial environments – Biogeochemistry, bioavailability and risks of metal. Second Edition. Springer-Verlag, New York. 867 pp.
- 2 Laberche, J.C. **2004**. Biologie végétale. 2^{ème} édition. Dunod, Paris, France. 270 pp.
- 3 Lespes, G., Marcic, C., Le Hecho, I., Mench, M., Potin-Gautier, M. **2003**. Speciation of organotins in French beans and potatoes cultivated on soils spiked with solutions or amended with sewage sludge. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry* 2, (3), ISSN: 1579-4377.
- 4 Simon, S., Bueno, M., Lespes, G., Mench, M. and Potin-Gautier, M. **2002**. Extraction procedure for organotin analysis in plant matrices: optimisation and application. *Talanta* 57, (1), 31-43.
- 5 Simon, S. **2000**. Analyse du transfert des organoétains des eaux vers les plantes. Rapport de DEA de l'Université de Pau et des Pays de l'Adour. 31 pp.
- 6 Site Web : www.meteomedia.com consulté le 12 septembre 2005

SYNTHÈSE GÉNÉRALE

ET PERSPECTIVES

Synthèse générale et perspectives

Il faut manger pour vivre, mais l'homme doit survivre à son repas. Il s'agit alors de faire face aux dangers que pourraient présenter une alimentation malsaine (empoisonnement brutal ou différé, prise répétitive de substances toxiques). Il est donc très important de garantir aux usagés la sécurité alimentaire des denrées consommées en instaurant une traçabilité des produits « du champ à l'assiette ».

De nombreux sols et boues de station d'épuration présentent, en raison de certaines activités industrielles, agricoles et domestiques des teneurs importantes en organoétains. Or ces composés, particulièrement le TBT et le TPhT, ont des caractéristiques de persistance et d'ubiquité dans l'environnement. Ils peuvent donc être considérés à juste titre comme des substances dangereuses pour l'homme dans la mesure où, selon les conditions physico-chimiques du sol, ils peuvent migrer vers les cultures ou vers les nappes phréatiques.

L'objectif de ce travail de thèse était d'étudier la réactivité et la dynamique des organoétains dans le système boue – sol – plante en suivant les triorganoétains dans la boue, le sol et les différentes parties de plantes cultivées.

Pour ce faire il a été nécessaire de mettre au point une méthode analytique simple capable de détecter de faibles concentrations en organoétains rencontrées dans l'environnement et de restituer la réalité de la contamination (conservation de la spéciation et rendement d'extraction maximum). Deux techniques d'extraction ont ainsi été mises au point (Extraction par Solvant Pressurisé, PSE et Extraction Solide / Liquide, SLE) afin de permettre l'analyse de 10 organoétains dans plusieurs matrices (sol, boue et végétaux). L'optimisation de l'extraction a été conduite sur des échantillons préparés selon des protocoles soigneusement définis (conditionnement, dopage). La validation des deux méthodes d'extraction a été effectuée par l'analyse de végétaux naturellement contaminés pour lesquels nous avons obtenus des résultats concordants pour les deux techniques. Le système par PSE offre une très bonne répétabilité et une grande rapidité d'analyse. Par contre, les limites de détection atteintes par ce système automatisé restent supérieures aux limites de détection obtenues par extraction Solide/Liquide à froid, mais permettent tout de même la détection des espèces organostanniques aux niveaux de contamination pouvant être rencontrés dans les végétaux ($< \text{ng}(\text{Sn})\cdot\text{g}^{-1}$).

Afin d'optimiser l'acquisition d'informations expérimentales, nous avons eu largement recours aux plans d'expériences. L'avantage principal de cette méthodologie est basé sur l'acquisition d'informations discontinues (les résultats de chaque expérience) et leur transformation, via la modélisation en information continue. La détermination des effets des facteurs étudiés (quantité de boue, pH, concentrations) et de leurs interactions, a ainsi permis de mieux cerner le fonctionnement du système sol / plante.

En ce qui concerne les expériences menées dans les sols, la contamination par les organoétains est à présent avérée (Huang *et al.*, 2004). La rémanence de ces composés varie selon l'espèce étudiée. Ainsi, nous avons montré que le TBT est encore présent dans les sols à plus de 70 % après plusieurs mois. Le TPhT quant à lui, a une rémanence moins importante, ses produits de dégradation étant majoritaires après 7 semaines d'expérience. Or, selon la littérature, la dégradation des espèces chimiques se produit essentiellement par voie microbienne. Compte tenu des propriétés biocides des OTC, l'activité des micro-organismes du sol pourrait être modifiée en fonction des concentrations en ces composés. Nous avons aussi mis en évidence ce phénomène en remarquant que lorsque la concentration en TBT était dans une gamme de concentration de 100 à 150 $\mu\text{g (Sn).kg}^{-1}$, sa dégradation était moins importante. Nous avons supposé que cela était dû à une diminution significative de l'activité microbienne.

La biodisponibilité des OTC pour les micro-organismes comme pour la plante va directement conditionner le devenir de ces composés. Afin d'appréhender le comportement du TBT dans un mélange sol / boue représentant un amendement en agriculture, nous avons étudié la sorption du TBT sur une boue de station d'épuration. Cette étude révèle que le TBT est très fortement sorbé à la boue. Lors du mélange d'une boue contaminée en OTC avec un sol, les organoétains restent donc probablement fixés sur la boue. C'est ce que nous avons observé dans nos conditions expérimentales. Les expériences de sorption réalisées montrent d'ailleurs que la boue utilisée possède une quantité importante de sites de surface et une grande affinité avec le TBT. Des modélisations ont permis d'ajuster les points expérimentaux des isothermes de sorption par des modèles de Langmuir et Freundlich, ce qui indique un comportement de sorption complexe, probablement sur plusieurs types de sites de la surface de la boue. Des expériences de cinétique de sorption ont également permis de confirmer les travaux précédents à propos du temps d'équilibre de sorption du TBT (24h). Des modélisations adaptées aux équilibres hétérogènes (pseudo ordre 1 et 2) ont été réalisées et statistiquement

validées. Ce traitement des données a ainsi permis d'apprécier la signification des résultats obtenus. Ces travaux de sorption ont de plus été réalisés avec des concentrations du même ordre de grandeur que celles retrouvées dans l'environnement. Les informations recueillies sont donc représentatives des phénomènes mis en jeu aux interfaces boue / eau.

Il serait intéressant de poursuivre nos études par des expériences de désorption du TBT à partir de boue contaminée et d'étendre ces études de sorption / désorption aux autres OTC, comme par exemple le TPhT et les produits de dégradation, DBT, MBT, DPhT et MPhT. Nous pourrions également envisager l'introduction simultanée de plusieurs OTC, pour permettre d'évaluer les phénomènes de compétition qui pourraient avoir lieu aux interfaces solide / liquide.

Ce travail de thèse a également permis d'obtenir les premières informations sur le prélèvement des organoétains par le végétal. Ainsi, nous avons mis en évidence le transfert de ces espèces depuis des sols contaminés vers les plantes cultivées confirmant les quelques données de la littérature (Kannan & Lee, 1996). Même si les quantités transférées sont peu importantes dans certains végétaux comme les laitues ou les haricots verts, la présence d'espèces toxiques comme le TBT ou le TPhT est indéniable. On retrouve des organoétains dans les parties aériennes (feuilles, tiges) dans les racines et même dans les fruits (haricots verts), qui représentent la partie comestible du végétal. Nous avons également mis en évidence la présence des butyl- et phénylétains dans les tubercules de pomme de terre. Une étude japonaise démontre une absorption journalière de 6µg de TBT par la consommation de produits divers comme les légumes, les fruits, les céréales, le poisson, la viande... (Tsuda et al., 1995). Nos résultats permettent d'évaluer le risque lié à la consommation de pommes de terre contaminées : il en ressort que pour un homme de 70 kg, la dose journalière admissible (DJA = 0.25 µg(Sn) de TBT et 0.5 µg(Sn) de TPhT par kilogramme de poids corporel par jour) est largement dépassée pour le TBT et le TPhT dans le cas d'une consommation journalière de 200 grammes de pommes de terre contaminées (17.5 et 35 µg(Sn) respectivement pour le TBT et le TPhT). Même si la consommation des haricots verts et des laitues que nous avons cultivés n'engendre pas un dépassement de la DJA, il pose malgré tout la question du risque à long terme, en particulier pour de personnes plus exposées ou plus fragiles (personnes âgées, enfants). De plus, d'autres végétaux de consommation courante tels que les carottes, les navets, les radis...pourraient aussi accumuler quantitativement les organoétains. Dans ce cas, l'incidence des conditions de culture reste à déterminer.

Nous avons également montré que le prélèvement des OTC est différent selon l'âge de la plante : au début de la croissance, il est plus important. Les butylétains seraient prélevés de façon continue, tout au long de la culture. Cependant, nous ne pouvons pas conclure au niveau du prélèvement du TPhT, celui-ci étant dégradé dans le sol beaucoup plus rapidement que le TBT. Pour les produits de dégradation phényles (MPhT et DPhT), le prélèvement par la plante est très faible par rapport à celui des autres composés. On remarque aussi une différence de comportement selon la plante considérée : les pommes de terre cultivées sur des sols contaminés sont capables de prélever beaucoup plus d'organoétains que les haricots verts et les laitues. Le facteur majeur jouant sur le prélèvement a été, dans nos conditions de culture, la quantité de boue apportée au système. Celle-ci a immobilisé le TBT, le rendant inaccessible à la plante et aux micro-organismes. Le passage des organoétains dans la plante se ferait par transport passif, via le flux convectif. Au sein même du végétal, peu de dégradations des organoétains ont été observées. Les plantes apparaissent être un lieu de stockage des organoétains. Il serait donc utile de poursuivre les études sur la contamination en organoétains du système boue / sol / plante en utilisant d'autres techniques analytiques comme le traçage isotopique avec des molécules organostanniques marquées. Cela permettra de suivre plus précisément les composés organostanniques dans les différentes parties de ce système et de mieux cerner les mécanismes impliqués, notamment la dégradation. Les mécanismes biotiques semblent être les principales responsables des dégradations des OTC. Il serait alors intéressant de confirmer cette hypothèse par des expériences en sol stérile afin de démontrer l'influence des microorganismes et de les identifier.

D'autre part, les différentes études que nous avons réalisées ont clairement mis en évidence l'importance des phénomènes aux interfaces solide / solution et le rôle clé que pouvait y avoir la solution de sol. Celle-ci n'a pas été étudiée, malgré un échantillonnage réalisé par bougies poreuses. Les volumes prélevés (0 – 4 mL) étaient trop faibles pour réaliser la spéciation des organoétains. L'analyse par extraction Liquide / Liquide a de plus été perturbée par cette matrice complexe (nous avons notamment mis en évidence la présence d'une large gamme de colloïdes capables de sorber les OTC). Il serait intéressant d'utiliser d'autres techniques d'extraction sur cette matrice comme par exemple, la micro-extraction sur phase solide en espace de tête (HS-SPME). Elle permettrait ainsi de s'affranchir des effets de matrice rencontrés en extraction classique. De plus, il sera nécessaire de considérer les colloïdes et l'utilisation de nouvelles techniques analytiques comme le Field Flow Fractionation pourra

nous renseigner sur la répartition et la spéciation des OTC dans les différentes fractions colloïdales de la solution du sol. Le prélèvement et l'analyse de la solution de sol amènera indéniablement une information supplémentaire dans le système boue / sol / eau / plante. Les connaissances acquises permettront alors d'accéder pleinement à la compréhension du devenir des organoétains dans les sols et aux risques liés à leur rémanence, leur stockage ou leur transfert.

L'agriculture durable s'appuie sur les fondements du développement durable. Par définition, le caractère durable réfère à la viabilité d'un système à long terme. Cela signifie qu'elle doit répondre au besoin des générations présentes sans compromettre le développement des générations futures, en leur garantissant les mêmes chances de progrès. L'agriculture durable aspire donc, à cultiver des produits alimentaires d'une manière efficace et productive en préservant et en améliorant l'environnement et la vie des communautés locales (par exemple réduire l'utilisation des engrais et des pesticides). L'amendement des champs cultivés offre une revalorisation économique des boues de stations d'épuration. Il est pourtant important de connaître les impacts environnementaux et sanitaires de cette pratique. La présence des organoétains dans les boues et les sols représente un risque non négligeable. La richesse en matière organique de ces boues leur confère des capacités de stockage des OTC tout comme les exsudats racinaires, voire les racines même des végétaux. L'épandage des boues doit se faire dans des conditions qui respectent la qualité des récoltes car le consommateur achète des produits alimentaires qu'il souhaite être de qualité.

ANNEXES

ANNEXE A

LISTE DES ABREVIATIONS

Sn : Etain
MBT : Monobutylétain
DBT : Dibutylétain
TBT : Tributylétain
TeBT : Tetrabutylétain
TeEt : Tetraéthylétain
MPhT : Monophénylétain
DPhT : Diphénylétain
TPhT : Triphénylétain
MOcT : Monoocetylétain
DOcT : Dioctylétain
TOcT : Trioctylétain
TcHexT : Tricyclohexylétain
HAP : Hydrocarbures Poly Aromatiques
PCB : Poly Chloro Benzène
PVC : Poly Vinyle Chlorure
CaCO₃ : Carbonate de Calcium
CaHCO₃ : Hydrogénocarbonate de Calcium
H₂CO₃ : Acide carbonique

GC : Chromatographie Gazeuse
PFPD : Détecteur à Photométrie de Flamme Pulsée
SLE : Extraction Solide / Liquide
PSE : Extraction par Solvant Pressurisé

CEC : Capacité d'Echange Cationique
STEP : Station d'épuration
UV : Ultraviolets
Eh : potentiel d'oxydoréduction

ANNEXE B

Photos de la mise en place et de la récolte des cultures de laitue.



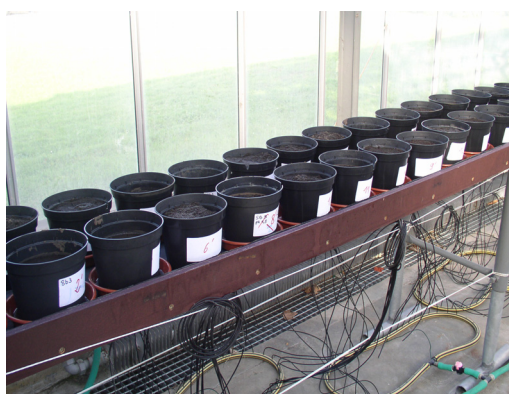
Le champ de Pierroton
Prélèvement du sol de Pierroton



Profil du sol sableux de Pierroton



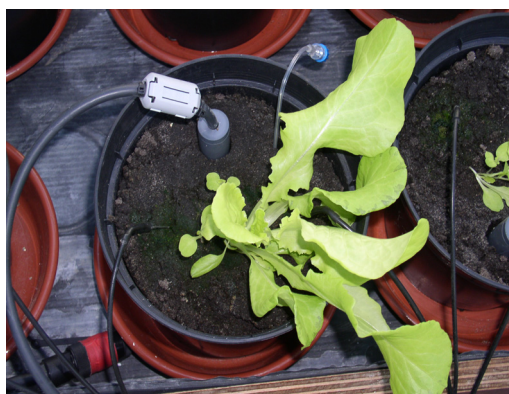
Mélange de la boue et du sol
Mise en pots



Les pots sont placés dans la serre
Installation du goutte à goutte



Ça pousse !



Sonde TDR – Bougies poreuses –
goutte à goutte



Les pots sont amenés au laboratoire pour la récolte



Une laitue



La laitue – les racines – le sol



Les feuilles de laitue sont rincées dans plusieurs bain d'eau



Les racines sont séparées du sol



Nettoyage des racines

ANNEXE C

CURRICULUM VITÆ

Christophe MARCIC

Né le 12 avril 1978 (27 ans) - Célibataire

Adresse : Laboratoire de Chimie Analytique
Avenue de l'Université BP 1155 - 64013 PAU Cedex

e-mail : christophe.marcic@univ-pau.fr

Tél. : 05.59.40.76.67. Mob. : 06.20.62.27.79



Docteur en Chimie de l'Environnement

I. FORMATION – DIPLÔMES

1. Scientifique	- BAC S option physique chimie au lycée Jean Monnet		1996	Strasbourg (67)
2. Chimie & Environnement	- Maîtrise de Chimie	B	2000	Strasbourg (67)
	à l'Université Louis Pasteur Strasbourg I			
	- DEA « Environnement et Matériaux »	AB	2001	Pau (64)
	à l'Université de Pau et des Pays de l'Adour			
	- Doctorat « Environnement et Matériaux » de l'Université de Pau au Laboratoire de Chimie Analytique BioInorganique et Environnement		2005	Pau (64)
	Mention « Très Honorable »			
	Financement ADEME / Conseil Régional d'Aquitaine			
4. Bureautique	- Utilisation courante de Microsoft Office, Photoshop			
	- Logiciel de chimie (Spartan, Macromodel, Base de Cambridge, ChemOffice)			
	- Navigation Internet			
5. Langues	- Anglais : courant (séjours aux USA et en UK) ; TOEIC : 940/990			
	- Serbo-croate : courant (Origine yougoslave)			
	- Allemand : scolaire (séjours en Allemagne)			
6. Communication	- Conférences internationales (Suède – Slovénie – Italie – France)			
	- Animation et Vulgarisation scientifique pour les écoles, les collèges - lycées			
	- Séminaires : dialogue pédagogique - gestion de groupes - voix et gestes			

II. ACQUIS PROFESSIONNELS

1. Chimie et Environnement

- **Recherche**
 - **Doctorat au LCABIE** - Evaluation du transfert des polluants organostanniques dans le système sol / plantes à partir de l'épandage des boues de station d'épuration Pau (64)
 - Spéciation chimique des organoétains par couplage Chromatographie en phase Gazeuse – Photométrie de Flamme Pulsée (GC-PFPD)
 - Optimisation de l'extraction des organoétains depuis les sols et les matrices végétales
 - Réalisation d'études de Sorption / Désorption en réacteurs fermés
 - Transfert Eau - Sol - Plante
 - Méthodologie des plans d'expériences
 - **DEA au LCABIE** - Mise au point d'un test de percolation pour simuler le transfert à la nappe des résidus hydrocarbonés des carburants Pau (64)
 - Mise en place de colonne de sol en conditions non saturées
 - Analyse par Chromatographie Ionique et COT-mètre
 - **Maîtrise au Laboratoire de Chimie Physique pour l'Environnement** - Etude de la réactivité de Cr(VI) vis à vis des sulfures de fer Nancy (54)
 - Spéciation opérationnelle du chrome par XPS (X-ray Photoelectron Spectroscopy)
- **Enseignement**
 - Moniteur au sein du département de Chimie de l'UFR Sciences et Techniques de l'Université de Pau et des Pays de l'Adour – 200 heures équivalent TD sur 3 ans
 - Organisation et animation du stand de Chimie Amusante dans le cadre de la Fête de la Science (2000-2005)

2. Responsabilités collectives

- Encadrement d'étudiants en LICENCE, MASTER et Bac Professionnel
- Représentant des étudiants du laboratoire LCABIE au conseil restreint de l'UMR 5034

III. ACTIVITES PERSONNELLES

- Sport et Culture**
 - Sportif de haut niveau en Water-polo et pratique du VTT, snowboard, volley-ball, randonnées
 - Cinéma – Musique – Histoire – Nature

ACTIVITES PEDAGOGIQUES

Moniteur au département Chimie de l'UFR Sciences et Techniques de l'Université de Pau et des Pays de l'Adour d'octobre 2001 à septembre 2004 (voir le contrat en Annexe IV).

Détail des enseignements

1^{ère} année de LICENCE

Travaux Pratiques de Volumétrie	<i>Dosages acido-basiques et rédox, évaluation de l'incertitude expérimentale</i>	1 ^{ère} année monitorat : 2x10 HETD 2 ^{ème} année monitorat : 2x10 HETD 3 ^{ème} année monitorat : 10 HETD
Travaux Dirigés de Chimie des solutions	<i>pH-métrie et oxydo-réduction</i>	3 ^{ème} année monitorat : 18 HETD Vacations 2004 / 05 : 6 HETD
Travaux Dirigés de Thermodynamique	<i>Soutien aux étudiants de l'intersession : 1^{er} et 2^{ème} principes de la thermodynamique</i>	1 ^{ère} année monitorat : 16 HETD

2^{ème} année de LICENCE

Travaux Dirigés de Chimie des solutions	<i>Soutien aux étudiants de l'intersession : Précipitation, complexation et diagrammes tension - pH</i>	2 ^{ème} année monitorat : 16 HETD Vacations 2004 / 05 : 5 HETD
--	---	--

3^{ème} année de LICENCE Sciences Physiques

Travaux Pratiques de Chimie Analytique	<i>Potentiométrie, conductimétrie, analyse d'eaux minérales, oxydo-réduction</i>	1 ^{ème} année monitorat : 14 HETD 2 ^{ème} année monitorat : 14 HETD 3 ^{ème} année monitorat : 14 HETD
---	--	--

1^{ère} année de MASTER Evaluation, Gestion et Traitement des Pollutions

Travaux Pratiques de Chimie des Polluants Organiques	<i>Dosage d'hydrocarbures et de l'azote dans une eau, d'un herbicide dans un produit commercial et identification de phénol par chromatographie gazeuse</i>	3 ^{ème} année monitorat : 2x12 HETD
---	---	--

ECOLE NATIONALE SUPERIEURE en GENIE des TECHNOLOGIES INDUSTRIELLES

Travaux Pratiques de Techniques de Séparation et d'Analyse	<i>Distillation, extraction, entraînement à la vapeur, chromatographie, spectroscopie IR et UV, recristallisation</i>	2 ^{ème} année monitorat : 12 HETD
---	---	--

CAPLP de l'IUFM D'AQUITAINE (Certificat d'Aptitude au Professorat de Lycée Professionnel)

Travaux Pratiques de Chimie	<i>Acide-base, complexation, précipitation, oxydo-réduction, chimie organique, chromatographie</i>	1 ^{ère} année monitorat : 20 HETD
------------------------------------	--	--

En étroite collaboration avec les autres enseignants, j'ai participé à la mise en place de nouvelles séries de travaux pratiques, à la correction des comptes-rendus et à leur notation, à l'évaluation du travail des étudiants et aux jurys de fin d'études.

J'ai participé à la préparation de sujets d'examens ainsi qu'à leur surveillance.

Contact :

Michel HOLEMAN, responsable enseignements Chimie - 05.59.40.74.54 - michel.holeman@univ-pau.fr

Encadrements d'étudiants

Formation d'étudiants aux techniques de préparation d'échantillon, d'extraction et d'analyse de spéciation.

2001 Participation à l'encadrement de deux étudiantes en DESS Protection et Valorisation du Végétal

(4 semaines)

Sujet : « Impact des composés organostanniques sur notre environnement »

2003 Participation à l'encadrement d'une étudiante en Bac Professionnel

(2 mois)

Sujet : « Spéciation et transfert des organoétains entre le sol et les laitues »

2004 Participation à l'encadrement d'un étudiant en DEA Environnement et Matériaux

(6 mois)

Sujet : « Devenir des organoétains dans un sol »

Autres Activités Pédagogiques

- 📄 **Organisation et animation des journées « CHIMIE AMUSANTE »** lors de la semaine de la Fête de la Science (de 2000 à 2005)

Expériences de chimie pour écoliers et collégiens

Contact :
Clovis DARRIGAN, Maître de Conférence Chimie - 05.59.40.78.59 – clovis.darrigan@univ-pau.fr

- 📄 **Interventions auprès des lycéens**

Informations générales sur les formations dispensées à l'Université de Pau et des Pays de l'Adour (UPPA) dans les lycées de l'agglomération de Pau (2003-2004)

Participation au stand de l'UPPA au Salon des Métiers STUDYRAMA à Bordeaux (2004)

Contact :
Michel HOLEMAN, responsable enseignements Chimie - 05.59.40.74.54 - michel.holeman@univ-pau.fr

- 📄 **Encadrement des sorties Ski - Snow-board au service des Sports (SUAPS) de l'Université de Pau et des Pays de l'Adour (2001 - 2005)**

Enseignement du Snowboard

Représentant étudiant au Conseil des Sports de l'Université de Pau et des Pays de l'Adour

Contact :
Hervé DUBERTRAND, enseignant SUAPS - 05.59.40.70.97 – suaps@univ-pau.fr

- 📄 **Formateur pour l'Agence de L'eau Adour-Garonne (2004 – 2006)**

Conférences dans les lycées et les collèges : « L'eau, un enjeu pour le 21^{ème} siècle »

Contact :
Christian LOPEZ, gérant de la société IDE - 05.62.16.72.72 – c.lopez@ide-environnement.com

- 📄 **Formateur de personnel technique à l'analyse des organoétains dans les eaux et les sédiments (2001-2005).**

Contact :
Gaëtane LESPES, Professeur – 05.59.40.76.71 – gaetane.lespes@univ-pau.fr

ACTIVITES DE RECHERCHES

DEA « Environnement et Matériaux » - Laboratoire de Chimie Analytique
BioInorganique et Environnement - UMR CNRS 5034 - Université de Pau et de Pays de
l'Adour, 64000 PAU

**Sujet : « Mise au point d'un test de percolation pour simuler le transfert à la nappe des
résidus hydrocarbonés des carburants »**

Chimie analytique :

- Maîtrise des techniques d'analyse par chromatographie ionique et COT-mètre

Environnement :

- Méthode d'étude et de modélisation des phénomènes de Sorption/Désorption en colonnes

Contact :

Alain BOURG, Professeur – 05.59.40.74.16 – alain.bourg@univ-pau.fr

Résumé des travaux :

Dans le cadre de la protection de l'environnement, l'étude du **transfert** des **hydrocarbures** de la surface du sol à la nappe suscite actuellement l'intérêt de nombreuses entreprises associées à la fabrication ou à l'utilisation de produits dérivés du pétrole. En effet, lors du déversement de produits toxiques sur le sol, ils sont susceptibles de s'infiltrer et de migrer dans le sous-sol, provoquant ainsi un risque important pour l'environnement. Des études ont été réalisées afin d'étudier la capacité naturelle du sol à atténuer ou à retarder ce transport et, si nécessaire, de mettre en place des opérations de dépollution les plus efficaces possibles, en fonction du degré de décontamination recherché pour chaque site. Pour cela, il est important de bien comprendre le mode de transport, la réactivité et les phénomènes de rétention de ces hydrocarbures dans les sols. L'objet spécifique de l'étude réalisée a porté sur l'ensemble des phénomènes de migration et des interactions abiotiques des hydrocarbures dans les **zones saturées (ZS)** et **non saturées (ZNS)** du sol.

Les percolations de toluène à travers des **colonnes** confirment le rôle de la matière organique présente dans ces sols. Le toluène s'adsorbe plus et plus longtemps quand le sol est riche en matière organique. Il est intéressant d'observer que le toluène s'adsorbe (même si la quantitativité reste faible) en l'absence de matière organique.

Mots-clés : transfert, hydrocarbures, colonne, zone saturée et non saturée, analyse

Doctorat « Environnement et Matériaux » - *Laboratoire de Chimie Analytique BioInorganique et Environnement - UMR CNRS 5034 - Université de Pau et de Pays de l'Adour, 64000 PAU*

Thèse présentée et soutenue à l'Université de Pau et des Pays de l'Adour le 28 octobre 2005.

Sujet : « **Evaluation du transfert des polluants organostanniques dans le système sol / plantes à partir de l'épandage de boue de station d'épuration** »

Direction : Professeur Gaëtane LESPES

Financement : Bourse ADEME cofinancée par le Conseil Régional d'Aquitaine

Tutorat ADEME : Antonio BISPO

Collaboration avec l'Institut National de la Recherche Agronomique à Bordeaux (INRA) : Michel MENCH et Laurence DENAIX

Commission d'examen :

Présidente : Mme POTIN-GAUTIER, Professeur, Université de Pau et des pays de l'Adour

Rapporteurs : Mme KELLER, Professeur, Université Paul Cézanne Aix-Marseille III
M. BERMOND, Professeur, Institut National Agronomique, Paris-Grignon

Examineurs : Mme DENAIX, Chargé de Recherche, INRA Bordeaux
Mme LE HÉCHO, Maître de Conférence, Université de Pau et des Pays de l'Adour
Mme LESPES, Professeur, Université de Pau et des Pays de l'Adour

Compétences :

Chimie analytique :

- *Maîtrise des techniques de préparation d'échantillons (extraction de matrices environnementales – sols et végétaux – et analyse de spéciation par couplages GC – détecteurs spécifiques (PFPD, MIP-AES, ICP-MS, ICP-AES...))*

Méthodologie :

- *Plans d'expériences*

Environnement :

- *Méthode d'étude et de modélisation des phénomènes de Sorption / Désorption en réacteurs fermés*
- *Transfert de contaminants dans le système Eau – Sol – Plante*
- *Spéciation*

Résumé des travaux :

Les organoétains (OTC) sont des composés synthétisés par l'homme et utilisés dans de nombreux produits industriels ou à usage agricole ou domestique. Leur présence dans tous les compartiments environnementaux est aujourd'hui largement mise en évidence. Les OTC représentent cependant un risque pour les éco- et les agrosystèmes, compte tenu de leur toxicité et de leur action biocide non spécifique.

Le but de cette thèse est d'acquérir les éléments de connaissance nécessaires à la compréhension du devenir des organoétains dans le système boue de station d'épuration/ sol/ plante et à l'évaluation du risque lié à l'épandage de boues de station d'épuration contaminées par ces composés. Ceci représente un enjeu majeur vis à vis de la qualité des sols, des eaux et des productions agricoles.

En préambule à ce travail, certains outils analytiques indispensables à l'acquisition des données ont été mis au point et validés. Ce développement analytique a concerné l'étape d'extraction des organoétains des végétaux, pour laquelle très peu de travaux avaient précédemment été publiés.

Afin d'évaluer le rôle de la boue d'épuration sur le devenir des organoétains, plusieurs démarches complémentaires ont été suivies.

La cinétique de sorption du TBT sur la boue a été étudiée et des tests de lixiviation réalisés sur cette même boue dopée en TBT et TPhT. Ce travail a permis de confirmer la forte affinité de ce type de matériau pour le TBT. Il a également montré la grande capacité de la boue à sorber les deux triorganoétains. Le TPhT semble cependant pouvoir être désorber plus quantitativement que le TBT.

La spéciation des organoétains dans le sol de systèmes boue/ sol/ plante soumis à différentes conditions physico-chimiques a ensuite été évaluée. L'influence du pH, de la concentration initiale en triorganoétains et de la quantité de boue d'épuration mélangée au sol ont été ainsi étudiés. Ce travail a permis de mettre en évidence l'influence positive de la boue sur la persistance du TBT, du fait de la sorption de ce composé sur celle-ci, même après que le mélange boue- sol ait été effectué. Ainsi, plus de 60% du TBT initial sont toujours présents dans le sol en fin d'expérimentation, quelles que soient les conditions du milieu. Le TBT pourrait aussi avoir un effet biocide à concentration suffisamment forte, puisqu'il se dégrade alors encore moins. Le TPhT, plus facilement échangeable à l'interface boue/ eau, apparaît moins rémanent, seuls 20% des quantités initialement introduites dans le sol étant retrouvés en fin d'expérience. Son principal produit de dégradation, le MPhT semble par contre très rémanent. Le pH initial du sol a une influence sur la disponibilité des OTC seulement lorsque ceux-ci sont en fortes concentrations dans le sol. Dans ces conditions, un pH fort favorise la rémanence des triorganoétains. Quand les organoétains sont en faibles concentrations, et quel que soit le pH, leur rémanence apparaît être plus forte.

Le transfert des organoétains du sol amendé vers la plante a été étudié via différentes cultures de végétaux. Le prélèvement par le végétal est ainsi clairement mis en évidence. Il est largement dépendant de la nature de la plante, de sa croissance, des conditions climatiques de la culture (température notamment) et de la nature de l'organoétain. Les tubercules de pommes de terre sont apparus largement plus contaminés que les feuilles ou les gousses de haricots verts. Le TBT apparaît être prélevé de façon continue durant toute la durée de la culture, alors que le transfert du TPhT intervient essentiellement au début. Ceci est directement lié à la rémanence et à biodisponibilité des triorganoétains, elles-mêmes fonction de leur sorption sur la boue et les phases solides du sol. Le prélèvement semble également

relié au phénomène d'évapotranspiration. Le passage des organoétains dans la plante se ferait par transport passif, via le flux hydrique. Les triorganoétains sont largement accumulés dans les racines, 10% étant transférés vers les parties aériennes de végétaux tels que les laitues ou les haricots verts. Cette accumulation pourrait être la conséquence d'un phénomène de sorption dans les tissus externes des racines. La dégradation du TBT et du TPhT au sein du végétal est très limitée.

Ces premières informations permettent de mettre en évidence le rôle de « réservoir » en organoétains que peut avoir une boue contaminée en ces composés, après son épandage sur un sol. La boue favorise la rémanence du TBT et engendre une diffusion plus ou moins lente des OTC dans le sol. Les plantes apparaissent aussi pouvoir jouer un rôle prépondérant dans le stockage de ces composés, certaines d'entre-elles accumulant ces composés dans des parties consommées. La présence des organoétains dans les boues revalorisées en agriculture et/ ou dans les sols représente donc un risque réel pour la qualité des sols et des cultures, ainsi que, plus généralement des systèmes eau/ sol/ plante.

Le travail effectué au cours de ces trois années de thèse m'a donc permis de développer mes compétences dans plusieurs domaines scientifiques, notamment en chimie analytique, en méthodologie expérimentale ainsi qu'en environnement.

Mots-clés : organoétains, spéciation, boue de station d'épuration, sol, rémanence, analyse, transfert Eau-Sol-Plante, sorption, extraction.

Contact :

Gaëtane LESPES, Professeur – 05.59.40.76.71 – gaetane.lespes@univ-pau.fr

Martine POTIN-GAUTIER, Professeur - Directrice du Laboratoire de Chimie Analytique - 05.59.40.76.69 - martine.potin@univ-pau.fr

Autres Activités de Recherche

- ▣ **Participation au Programme d'Action Intégrée PROTEUS (EGIDE) avec l'Institut Josef Stefan à Ljubljana (Slovénie) (3 séjour de trois semaines en Slovénie pendant 3 ans)**

Analyse des organoétains dans différentes matrices environnementales (boue, sol, eau, sédiments)

- Formation d'étudiants slovènes aux techniques d'analyse
- Prélèvement sur le terrain
- Analyse de spéciation des organoétains

Contact :

Gaëtane LESPES, Professeur – 05.59.40.76.71 – gaetane.lespes@univ-pau.fr

- ▣ **Participation à un exercice d'intercomparaison français coordonné par l'INERIS, le LCABIE et l'AFNOR selon le protocole NF T 90-250, en cours de validation**

- Exercice d'intercomparaison en vue de la validation d'une norme analytique pour la spéciation des composés organostanniques dans les sédiments par couplage chromatographie en phase gazeuse -PFPD et MIP-AED.

- ▣ **Représentant étudiant au sein du Conseil Restreint du Laboratoire de Chimie Analytique BioInorganique et Environnement (UMR-CNRS 5034) (2001 – 2004) et participation à l'Audit de cette UMR**

- ▣ **Gestion de l'accueil, du logement et des activités des étudiants ou personnels étrangers** qui ont intégré notre groupe au sein du laboratoire entre 2001 et 2005.

- ▣ participation dans le cadre du CIES à une étude sur le devenir professionnel des étudiants sortant de l'Université de Pau et des Pays de l'Adour.

PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS

Publications

- Speciation of organotins in French beans and potatoes cultivated on soils spiked with solutions or amended with a sewage sludge
G. LESPES, C. MARCIC, I. LE HECHO, M. MENCH, M. POTIN-GAUTIER
Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry. **2003**, 2 (3) ISSN: 1579-4377
- Pressurized Solvent Extraction for organotin speciation in vegetable matrices
C. MARCIC, G. LESPES, M. POTIN-GAUTIER
Analytical and Bioanalytical Chemistry. **2005**, 382 (7), 1574-1583

Publication en cours de soumission

- Organotins fate in a cultivated sludged soil contaminated by TBT and TPhT
C. MARCIC, L. DENAIX, G. LESPES, M. POTIN-GAUTIER
Soumission dans Chemosphere. **2005**.
- Kinetics of tributyltin (TBT) sorption at trace levels on a sewage sludge
C. MARCIC, I. LEHECHO, G. LESPES
Soumission dans Environmental Science and Technology. **2005**.

Communications Orales

NATO Advanced Study Institute – Phytoremediation of metal-contaminated soils – Trest Castle, République Tchèque, 18-30 août **2002**.

Organotin transfer in soil / plant system.

C. MARCIC, I. LE HECHO, M. MENCH, G. LESPES, M. POTIN-GAUTIER

7th International Conference on the Biogeochemistry of Trace Elements – Uppsala, Suède, 15 - 19 juin **2003**

Organotin speciation in plants: uptake, accumulation and biotransformation.

C. MARCIC, G. LESPES, M. MENCH, I. LE HECHO, M. POTIN-GAUTIER

13^{ème} Journée Grand Sud Ouest – Pau, France, 28 novembre **2003**

Transfert eau / sol / plante : cas des organoétains lors de la culture de végétaux sur un sol contaminé par des solutions ou par des boues de station d'épuration.

C. MARCIC, G. LESPES, M. MENCH, I. LE HECHO, M. POTIN-GAUTIER

9th FECS Conference on Chemistry and Environment – Bordeaux, France, 29 août – 1 septembre **2004**

The organotins in agricultural system: speciation, plant uptake and fate.

C. MARCIC, G. LESPES, L. DENAIX, I. LE HECHO, M. POTIN-GAUTIER

8^{ème} Journées Nationales d'Etude du Sol – Bordeaux, France, 26-28 octobre **2004**

Spéciation des composés organostanniques dans les sols et les végétaux cultivés.

S. DUBASCOUX, C. MARCIC, G. LESPES, L. DENAIX, M. POTIN-GAUTIER

8th International Conference on the Biogeochemistry of Trace Elements – Adelaide, Australie, 3 - 6 avril, **2005**

Influence of organotin speciation on sorption / desorption kinetics on sludges

I. LE HECHO, C. MARCIC, G. LESPEL

5th Mediterranean Basin Conference on Analytical Chemistry – Silvi Marina, Italie, 24-28 mai, **2005**.

Organotins speciation in soil and cultivated vegetables: persistence and plant uptake

S. DUBASCOUX, C. MARCIC, L. DENAIX, G. LESPEL, M. POTIN-GAUTIER

10th International Symposium on the Interactions between Sediments and Water – Bled, Slovénie, 28 août – 2 septembre **2005**.

Organotin compounds and Cd, Pb, Ni, Cr, Cu and Zn in the sediments of the Ljubljanica River

J. ŠCANČAR, T. MILIVOJEVIČ NEMANIČ, T. ZULIANI, R. MILAČIČ, C. MARČIĆ, G. LESPEL.

Communications Affichées

NATO Advanced Study Institute – Phytoremediation of metal-contaminated soils – Trest Castle, République Tchèque, 18-30 Aout **2002**.

Assessment of organotin pollutant transfer in soil / plant system from spreading and storage of sewage sludges.

C. MARCIC, I. LE HECHO, M. MENCH, G. LESPEL, M. POTIN-GAUTIER

4th Mediterranean Basin Conference on Analytical Chemistry – Portorož, Slovenie, 15-20 Septembre **2002**.

Organotins in vegetal: transfer, accumulation and biotransformation.

C. MARCIC, G. LESPEL, M. MENCH, M. POTIN-GAUTIER

Les Doctoriales des Universités d'Aquitaine – La Hume, 22 au 27 septembre 2002.

Description vulgarisée de mes travaux de thèse

SEP 03 : 5^{ème} Congrès francophone sur les techniques séparatives et les couplages – Lyon, 13 - 15 mai **2003**.

L'extraction sous fluide pressurisé (PSE) : évaluation des performances pour la spéciation des organoétains dans les matrices solides.

C. MARCIC, M. LE GAC, G. LESPEL, M. POTIN-GAUTIER

7th International Conference on the Biogeochemistry of Trace Elements – Uppsala, Suède, 15 - 19 Juin, **2003**

Analytical challenges and development for the speciation of organotin compounds in plant.

G. LESPEL, C. MARCIC, I. LE HECHO, M. MENCH, M. POTIN-GAUTIER

EXTECH 2004 – 6th International Symposium on Advances in Extraction Technologies – Leipzig, Allemagne, september 6 – 8, **2004**

Accelerated Solvent Extraction for Organotin Speciation in Food: Challenges and Interests in Cultivated Vegetables.

C. MARCIC, G. LESPEL, M. POTIN-GAUTIER

2nd International IUPAC Conference – Trace Elements in Food – Brussels, Belgique, 7 - 8 Octobre, **2003**

Speciation of organotin compounds in vegetables.

C. MARCIC, G. LESPE, L. DENAIX, M. POTIN-GAUTIER

8th International Conference on the Biogeochemistry of Trace Elements – Adelaide, Australie, 3 - 6 Avril, **2005**

The Organotin Species in Agricultural Systems: From the Soil to the Shoots

C. MARCIC, L. DENAIX, I. LE HECHO, G. LESPE, M. POTIN-GAUTIER

Rapports ADEME d'avancement des travaux de thèse

Evaluation du transfert des polluants organostanniques dans le système sol / plantes à partir de l'épandage de boue de station d'épuration.

Tuteur ADEME : Antonio BISPO

5 rapports : 15.02.2002 (5 pp) ; 15.09.2002 (5 pp) ; 14.02.2003 (30 pp) ; 19.12.2003 (34 pp) ; 19.03.2004 (17 pp)

ÉVALUATION DU TRANSFERT DES POLLUANTS ORGANOSTANNIQUES DANS LE SYSTÈME SOL – PLANTE À PARTIR DE L'ÉPANDAGE DE BOUE DE STATION D'ÉPURATION

Résumé

Les organoétains sont présents dans tous les compartiments environnementaux et représentent ainsi un risque pour les écosystèmes, compte tenu de leur toxicité et de leur action biocide non spécifique. Le but de la thèse était de comprendre leur réactivité et leur dynamique dans le système boue / sol / plante afin d'évaluer les risques liés à l'épandage de boue de station d'épuration contaminées par ces composés, pour les productions agricoles. Pour cela, une méthode analytique simple capable de détecter de faibles concentrations en organoétains rencontrées dans l'environnement et de conserver la spéciation a été mise au point. Une évaluation de l'influence de plusieurs paramètres comme le pH ou les concentrations en contaminants sur leur spéciation et leur dégradation a ainsi été réalisée. Plusieurs voies d'apport du contaminant, telles que de la boue dopée ou directement par des solutions d'organoétains ont été testées. Il apparaît que le TBT montre une persistance très grande dans le sol par rapport au TPhT. Une étude cinétique de sorption a permis de déterminer l'affinité de la boue pour le TBT, une quantité importante de sites de surface ainsi que la répartition solide – liquide du contaminant. Enfin le transfert des organoétains au végétal a pu être mis en évidence par l'identification de plusieurs facteurs influençant ce transport. La détermination de la répartition dans les parties constitutive de la plante a été réalisée et une approche des mécanismes de transfert décrite. L'ensemble de ces résultats met en évidence la dépendance entre les conditions de cultures, la rémanence des organoétains dans le sol et le niveau de contamination des légumes récoltés. La présence des organoétains dans les boues et les sols représente donc un risque non négligeable pour les cultures et donc pour la santé humaine.

Mots-clés : organoétains, boue de station d'épuration, spéciation, sorption, sol, végétaux cultivés, prélèvement, extraction, cinétique, dégradation.

TRANSFER OF ORGANOTIN COMPOUNDS FROM SPREADING OF SEWAGE SLUDGE IN THE SOIL – PLANT SYSTEM

Abstract

Organotin compounds (OTC) are of anthropogenic sources. They are employed in many industrial, agricultural or domestic products. Their presence in the entire environment is now largely highlighted. Due to their toxicity and their non specific biocide action, OTC represent a risk for eco- and agro-systems. The aim of this thesis was to acquire information to understand the OTC fate in the sewage sludge / soil / plant system and to evaluate the risk lined to the contaminated sludge amendment. This represents a major stake in the quality of soil, water and agricultural crops.

To begin with this work, analytical development of the OTC extraction step from vegetal was achieved. Afterwards, complementary steps were undertaken in order to evaluate the role of the sewage sludge in OTC fate.

TBT sorption kinetic onto the sludge was studied and leaching tests were performed on TBT and TPhT spiked sludge. It highlighted the high affinity of the sludge for the TBT and the sludge capacity to sorb these two triorganotins. Then, OTC speciation in sludge / soil / plant system was assessed. Influence of the pH, initial OTC concentration and sludge quantity mixed with soil were studied. Positive influence of the sludge was pointed out on TBT preservation. TPhT, more exchangeable at the sludge / water interface, appears less persistent. Soil initial pH has an influence on the OTC bioavailability on condition that their concentrations in soil are high. OTC transfer from amended soil to plant was demonstrated by different vegetal cultures. Thus, the plant uptake is emphasized. It is largely dependant on plant nature, its growth, climatic condition and OTC nature. Potato tubers are largely more contaminated than lettuce and French beans. OTC uptake could be explained by passive transport with convective flux. Their accumulation in roots could be the consequence of a sorption phenomenon on the extern root tissue in contact with the soil. These data highlight that sludge play a "well" role after its soil amendment. This practice represents then a real risk for soil and crop quality and, in general, for water / soil / plant system.

Keywords: organotins, speciation, sewage sludge, soil, persistence, sorption, vegetal, plant uptake.