

N° d'ORDRE :

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET
DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE DES SCIENCES ET DE LA TECHNOLOGIE
"HOUARI BOUMEDIENE"
FACULTE DE CHIMIE



MEMOIRE

Présenté pour l'obtention du diplôme de **MAGISTER**

EN : **CHIMIE**

Spécialité : **METHODES INSTRUMENTALES DE CARACTERISATION**

Par : **ABBAS Ferroudja**

**ETUDE ET CARACTERISATION DES HYDROCARBURES
POLYCYCLIQUES AROMATIQUES (HPA) DANS L'EAU PAR LES
METHODES CHROMATOGRAPHIQUES.**

Soutenue le 31 Décembre 2008, devant le Jury composé de:

Mr. TOUABET Abdelkrim	(Professeur FC - USTHB)	Président
Mr. SEBIH Said	(Professeur FC - USTHB)	Directeur de thèse
Mr. GUERMOUCHE M.Hassan	(Professeur FC - USTHB)	Examineur
Mr. BOUDAH Soulimane	(Professeur FC - USTHB)	Examineur
Mr. AKRETCHÉ Djamel Eddine	(Professeur FC - USTHB)	Examineur
Mr. FERRAGH Ali	(S/Directeur de la Police Scientifique)	Invité

DEDICACES

Je dédie ce mémoire à:

- Mon mari ;
- - ma fille Ania, mon fils Samy ;
- - mon père, ma mère ;
- - mes beaux parents ;
- - mes frères, et à tous mes amis.

REMERCIEMENTS

Mes sinceres remerciements vont tout d'abord à monsieur le colonel **A.TOUNSI**, Directeur Général de la Sûreté Nationale.

Je tiens à adresser mes sincères remerciements à Monsieur **A. FERRAGH**, Sous Directeur de la Police Scientifique et Technique, ainsi qu'à Monsieur **M. ZEKRI**, Chef de Service Central du Laboratoire de Police Scientifique et Technique pour m'avoir permis d'effectuer mon stage au sein du Laboratoire de Police Scientifique d'Alger.

Je remercie vivement Monsieur **BEN ALI BEN ZAGHOU**, Recteur de l'Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene (USTHB), pour avoir rendu possible cette formation spécialisée, grâce à la convention conclue entre l'USTHB et la Direction Générale de la Sûreté Nationale.

Je remercie plus particulièrement Monsieur **M. S. SEBIH**, Professeur à l'USTHB et responsable de mon stage, pour son accueil chaleureux, son aide précieuse, sa patience et le temps permanent qu'il m'a accordé.

Je remercie très sincèrement Messieurs **H. GUERMOUCHE** et **S. BOUDAH** Professeurs à l'USTHB, pour leur appui et leurs conseils avisés.

Je ne saurais oublier de remercier Mrs **D.E. AKRETCHE** et **A. TOUABET**, Professeurs à l'USTHB.

Je voudrais remercier enfin, l'ensemble du personnel du Laboratoire Central de Police Scientifique d'Alger, pour la gentillesse et la bonne humeur dont ils ont fait preuve tout au long de mon stage en particulier le département des explosifs.

- **Mme. Z. DJEBBAR**
- **Mme. H. MELAAB**
- **Mr. H. BENAÏSSA**
- **Mr. D. MEFTALI**

LISTE DES ABBREVIATIONS

CPG: Chromatographie en phase gazeuse
CLHP: Chromatographie en phase liquide à haute performance
GC/MS : Couplage Chromatographie gazeuse-Spectrométrie de masse
LC/MS : Couplage Chromatographie liquide-Spectrométrie de masse
FID : Détecteur à ionisation de flamme
PCI : Ionisation chimique positive
NCI : Ionisation chimique négative
EI : Impact électronique
UV/Vis : Ultra violet / Visible
DBD : Détecteur à barette de diodes(Diode array detector)
ACN : Acetonitrile
SIM : Selected ion monitoring
SIFI : Mode mixte SIM et full scan
PM: Poids moléculaire
ISO : International Standardisation Organisation
C°: degré Celsius
d.i : diamètre interne
LDD : limite de détection
LDQ : limite de quantification
L : litre
mg : milligramme
µg : microgramme
ng : nanogramme
ml : millilitre
µl : micro litre
mm : millimètre
M : mole
min : minute
m.A.U : milli absorbance unité
nm : nanomètre
R² : coefficient de corrélation
UV : ultra violet
V : volume

Résumé :

.
Le but de ce travail est l'analyse par chromatographie en phase liquide à haute performance (CLHP) et couplage chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse CG/MS.

de quelques hydrocarbures poly aromatiques (HAP) dissous dans l'eau.

Les extractions en phase liquide et en phase solide ont été utilisées pour préparer les échantillons, qui ont été analysés par CLHP/DBD et par CG/MS.

Abstract :

The aim of this work is the analysis of polyaromatic hydrocarbons (PAH) in water.

Liquid-liquid (LLE) and solid phase (SPE) extractions have been used for preparing samples in order to be analysed by HPLC/DAD and GC/MS.

.

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE	1
<u>CHAPITRE I: ETUDE DES HPA.</u>	
I-1/Caractéristiques.	3
I-2/Effets sur la santé.	4
I-3/Comportement dans l'environnement	5
I-4/Propriétés physico-chimique.	6
I-5/La pollution dans l'eau	8
I-5-1/ les différentes sources de pollution.	8
<u>CHAPITRE II: TRAVAUX ANTERIEURS</u>	
Introduction	10
II-1/Bref historique	10
II-2/Principales méthodes utilisées dans l'analyse des HPA	11
II-2-1/C.L.H.P	11
II-2-2/G.C/M.S	11
II-3/Présentation des méthodes	12
II-4/Conclusion	14
<u>CHAPITRE III: ANALYSES DES HPA PAR CHROMATOGRAPHIE.</u>	
Introduction	15
III-1/Analyse des standards par chromatographie des HPA	15
III-1-1/ Réactifs utilisés	15
III-1-2/ Standard utilisés	15
III-1-3/Appareillage	16
III-1-4/ Résultats	17
III-2/ Analyse d'un mélange des HPA par C.L.H.P	23
III-2-1/Conditions opératoires	23
III-2-2/Calcul de la résolution et de la sélectivité	25
III-2-3/Etude quantitative	26
III-2-4/Limites de détection et de quantification	32
III-2-4-1/ Limites de détection	32
III-2-4-2/ Limites de quantification	33
III-3/Analyse par G.C/M.S des HPA	34
III-3-1/ Spectromètre de masse	34
III-3-2/Appareil et méthodes	34
III-3-3/Résultats	35
A-1/Etude qualitative	35
A-2/Analyse d'un mélange des HPA par GC/MS	35
III-4/Etude quantitative	36
III-5/Limites de détection et de quantification	40
III-5-1/ Limites de détection	40
III-5-2/ Limites de quantification	40

CHAPITRE IV: ANALYSE D'UNE EAU SYNTHETIQUE CHARGEE EN HPA

Introduction	41
IV-1/Analyse après extraction liquide –liquide	41
IV-1-1/Préparation du blanc	42
IV-1-2/Extraction des HAP dissous dans une eau chargée	42
IV-1-3/Résultat par H.P.L.C	42
IV-1-4/Résultat par GC/MS	44
IV-1-5/Etude quantitative	45
IV-2/Analyse par extraction SPE	49
IV-2-1/Matériels	49
IV-2-2/Procédure de la technique	49
IV-2-2-1/Condition de la cartouche	49
IV-2-2-2/Préparation des solutions	49
IV-2-2-3/ Adsorption	50
IV-2-2-4/ Résultats	50
IV-3/ Extraction SPE en présence d'un solvant organique	55
IV-4/ Calculs des rendements	57

CHAPITRE V: ANALYSE DES HPA DISSOUS DANS DES EAUX USEES

V/Analyse des HPA dans les eaux usées	58
V-1/ Analyse G.C/M.S des différents prélèvements des eaux usées	58
V-1-1/Matériels	58
V-1-2/Procédure de la technique	58
V-1-2-1/Préparation des échantillons	58
V-1-2-2/Condition de la cartouche	58
V-1-2-3/Adsorption	58
V-1-2-4/Résultats	59

CONCLUSION GENERALE	63
----------------------------	-----------

ANNEXE

BIBLIOGRAPHIE

INTRODUCTION GENERALE

Au cours des dernières décennies, la pollution chimique de l'environnement n'a cessé d'augmenter avec l'industrialisation et l'urbanisation croissantes.

Parmi les polluants organiques majeurs de notre environnement on trouve les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) et les polychlorobiphényles(PCB). Ces derniers font partie des Polluants Organiques Persistants (POPs).

Les composés aromatiques sont ubiquistes. Ils sont considérés comme des contaminants prioritaires des écosystèmes du fait de leur activité cancérogène et mutagène vis-à-vis de la faune et de la flore [1].

Ils ont été inscrits en 1976 dans la liste des polluants prioritaires établie par l'Agence pour la Protection de l'Environnement des Etats-Unis (Environmental Protection Agency, EPA) [2].

Ils font également partie des listes de l'OMS (organisation mondiale de la santé) et de la communauté européenne.

Depuis de nombreuses années, les HAP sont très étudiés en raison de leur forte présence dans pratiquement tous les milieux environnementaux et de leur forte toxicité. Leurs sources d'émission sont multiples [3].

Il est établi que les HAP sont essentiellement d'origine pyrolytique. Néanmoins à côté de cette source majoritaire, les HAP sont également introduits dans l'environnement par contamination à partir de produits pétroliers (origine pétrogénique).

Ils peuvent également dériver de la transformation de précurseurs naturels comme les triterpènes, pigments, stéroïdes (origine diagénétique ou biogénique), composés présents dans les organismes vivants.

Les principales sources de rejet dans l'environnement sont les centrales thermiques, les alumineries, l'utilisation du bois comme combustible, les feux de forêt, l'incinération des déchets, les moteurs à combustion interne et l'industrie pétrochimique. Il existe peu de doute, dans la documentation pertinente, en ce qui concerne le pouvoir cancérogène de certains HAP chez l'humain. [4].

- 1 -

L'objectif de ce travail est l'analyse chromatographique des principaux hydrocarbures aromatiques polycycliques classés comme polluants organiques à rechercher en priorités dans l'environnement.

Ce travail a été entrepris dans le but d'évaluer le niveau de contamination des HAP retrouvés dans les échantillons d'eaux naturelles et des eaux de rejets urbaines et de complexes de raffineries.

Nous nous sommes intéressés aux mises au point analytiques de l'analyse des HAP par les techniques chromatographiques et principalement la chromatographie en phase liquide haute performance couplée à un détecteur à barrette de diodes (HPLC/DAD) et la chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur de masse (GC/MS).

Ce mémoire, en plus de l'introduction générale se compose de cinq chapitres :

Chapitre I : est consacré à la présentation des HAP et en particulier la pollution de l'eau, objet de notre étude.

Chapitre II : Ce chapitre traite des travaux antérieurs concernant les méthodes d'analyse des HAP

Chapitre III : Nous présenterons dans ce chapitre les résultats obtenus et leurs interprétations des méthodes HPLC et GC-MS.

Chapitre IV : Analyse d'une eau synthétique chargée en HAP, par HPLC et GC-MS Réserve aux travaux personnels, renferme la partie expérimentale, les résultats obtenus, et leurs interprétations.

Chapitre V : Analyse des HAP dissous dans des échantillons d'eaux usées par HPLC et GC-MS Réserve aux travaux personnels, renferme la partie expérimentale, les résultats obtenus, et leurs interprétations.

Nous terminerons enfin par une conclusion générale.

CHAPITRE I

ETUDE DES HPA

Nous présentons dans ce qui suit quelques propriétés physico-chimiques des hydrocarbures polycycliques aromatiques.

I-1/ Caractéristiques :

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques, communément appelés HAP, sont une famille de composés chimiques constitués d'atomes de carbone et d'hydrogène dont la structure des molécules comprend au moins deux cycles aromatiques condensés.

Ce sont des composés hydrophobes qui s'adsorbent très fortement sur les particules. Ils sont également bio accumulés tout au long de la chaîne trophique.

Ils sont présents le plus souvent à l'état de traces (ppb) sous la forme de mélanges complexes renfermant plusieurs dizaines voire centaines décomposées congénères.

La population est donc généralement exposée à un mélange de HAP et ceci, quelle que soit la voie d'exposition (orale, Pulmonaire et cutanée). [4]

En général, les HAP se divisent en deux groupes : les HAP à faible poids moléculaire (2 et 3 noyaux benzéniques) et les HAP à poids moléculaire élevé (plus de 3 noyaux benzéniques).

Ils se présentent sous forme de cristaux colorés avec des points de fusion et d'ébullition élevés. Cependant, quelques membres de la famille des HAP ont la propriété de se volatiliser ou de sublimer à la température ambiante et se retrouvent ainsi dans l'air, bien que leur point d'ébullition soit élevé. [5]

I-2/ Effets sur la santé :

Le devenir et l'impact des HPA dans la nature posent un gros problème environnemental à cause de leurs propriétés toxiques, mutagènes et cancérigènes (6).

Ils peuvent pénétrer dans notre organisme par inhalation, ingestion ou contact direct avec le derme et, comme la plupart des molécules toxiques, sont remaniés par divers systèmes enzymatiques en vue d'être éliminés.

Le but de l'organisme est la transformation de ces molécules hydrophobes en molécules plus polaires et plus faciles à excréter. Durant ces étapes, les HPA subissent des modifications structurales qui peuvent les rendre plus toxiques: ils sont activés. C'est par cette voie qu'ils deviennent cancérigènes. Cette activation, due à l'action de systèmes enzymatiques forme des molécules comme les époxydes, très électrophiles pouvant se lier à l'ADN et provoquant des erreurs de réplication cellulaire (7).

Chez l'homme, la principale source d'exposition est la nourriture, la contribution de l'eau de boisson étant très faible en raison de la faible solubilité.

Le naphthalène est peu toxique car, en général, l'ingestion d'une dose supérieure à une boule d'antimite (4g) n'entraîne qu'une irritation des muqueuses et éventuellement quelques troubles neurobiologiques réversibles.

Lors de son dernier cycle de révision de ses recommandations, l'OMS a estimé ne disposer de données suffisantes que pour le benzo (a) pyrène.

Ce dernier est cancérigène pour la souris lorsqu'il est administré par voie orale. Il semble s'agir d'un cancérigène local puisque les tumeurs se forment au point d'administration, à savoir l'estomac antérieur lors d'administration avec des aliments.

Ce composé a été classé par le IARC (Association Internationale de Recherche sur le Cancer) dans le groupe 1 (cancérigène chez l'homme). Ce même organisme a classé le goudron de houille et le brai de houille, très riches en HPA et autres composés aromatiques, dans le groupe 1 (cancérigène chez l'homme). L'OMS recommande de contrôler la concentration totale des HPA en utilisant un certain nombre d'indicateurs spécifiques.

I-3/ Comportement dans l'environnement:

Les propriétés physico-chimiques les plus importantes pour le devenir des HPA dans L'environnement est la solubilité (en mg.l^{-1})

Le naphthalène reste le plus soluble dans l'eau, le plus volatil et le mieux dégradable de ces composés. Les autres HAP ne sont pratiquement pas solubles dans l'eau, ont une grande affinité pour les matières organiques des boues et des sols et sont peu biodégradables [5].

Ces caractéristiques de corps lipophiles peu dégradables prennent de l'ampleur avec l'augmentation du poids moléculaire. Ainsi les HAP des eaux usées, s'ils ne sont pas éliminés avec les graisses par une étape préliminaire de dégraissage, se concentrent au niveau des boues d'épuration et pourront s'accumuler progressivement au niveau du sol [8,9].

Les HAP sont transportés dans l'air et se déposent ensuite dans l'eau et les sols.

- Dans l'eau, ils s'adsorbent sur des particules en suspension ou colloïdes et se déposent ensuite par sédimentation.
- Dans les sols, ils peuvent être incorporés aux processus d'humification et se lient aux substances humiques du sol par des liaisons hydrophobes.

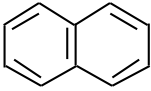
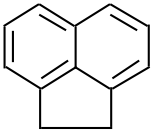
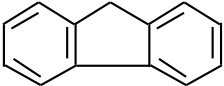
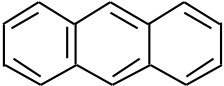
Ce processus de liaison se déroule en deux étapes :

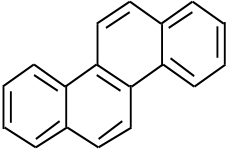
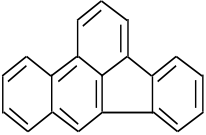
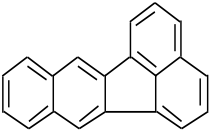
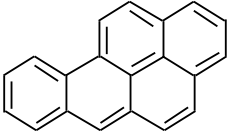
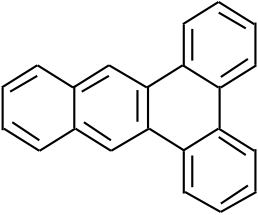
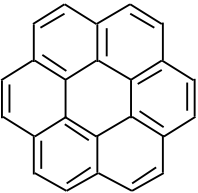
- adsorption rapide des polluants sur des zones hydrophobes de la surface du sol.
- migration lente de ces contaminants vers des sites moins accessibles du sol[10,11].

I-4/ Propriétés physico-chimiques :

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques, communément appelés HAP, sont au nombre de seize (16), dans notre étude on s'est intéressé à dix (10) d'entre eux dont les propriétés sont représentées dans le tableau ci-dessous.

Tableau représentant les caractéristiques principales de quelques (HAPs) étudiés et leur degré de cancérogénicité établi par l'EPA (Agence de Protection Environnementales). [12]

Structure chimique et nom des molécules HAP	Formule chimique	Masse molaire g/mol	Point d'ébullition (t°c)	Pourcentage de carbone % C	Cancérogénicité
Naphthalène 	C ₁₀ H ₈	128,17	218	93,75	non cancérigène
Acénaphthène 	C ₁₂ H ₁₀	154,21	279	93,05	non cancérigène
Fluorène 	C ₁₃ H ₁₀	166,22	295	93,59	non cancérigène
Anthracène 	C ₁₄ H ₁₀	178,23	339	94,05	non cancérigène

<p>Chrysène</p> 	C ₁₈ H ₁₂	228,29	448	94,45	non cancérigène
<p>Benzo(b)fluoranthène</p> 	C ₂₀ H ₁₂	252,32	481	95,2	très cancérigène
<p>Benzo(k)fluoranthène</p> 	C ₂₀ H ₁₂	252,32	480	95,2	très cancérigène
<p>Benzo(a)pyrène</p> 	C ₂₀ H ₁₂	252,32	495	95,2	très cancérigène
<p>Dibenzo(a,c)anthracène</p> 	C ₂₂ H ₁₄	278,35	524	94,7	très cancérigène
<p>coronène</p> 	C ₂₄ H ₁₂	300	525	96	Cancerigene

I-5/ La pollution de l'eau

La pollution de l'eau est une altération qui rend son utilisation dangereuse et (ou) perturbe l'écosystème aquatique. Elle peut concerner les eaux superficielles (rivières, plans d'eau) et/ou les eaux souterraines.

Elle se manifeste principalement, dans les eaux de surface par une pollution chimique ou par des virus et des bactéries pathogènes.

La pollution chimique peut être chronique, accidentelle ou diffuse. Elle a des origines diverses dues à :

- l'insuffisance de certaines stations d'épuration
- l'absence de réseaux d'assainissement dans certaines zones
- le lessivage des sols, mais aussi des chaussées et des toits par les pluies
- le rejet d'effluents par les industries.

I-5-1/ Les différentes sources de pollution sont :

A/ Les virus et bactéries pathogènes

Les rejets provenant de l'intestin des animaux et de l'homme sont évacués dans le sol ou déversés dans les cours d'eau. Ils y subissent une épuration naturelle. Mais s'ils parviennent trop rapidement à une ressource en eau, ils peuvent provoquer une pollution microbiologique.

La désinfection systématique des eaux dans les pays industrialisés a pratiquement éliminé les incidences de la pollution microbiologique sur la santé. De nouvelles recherches sont en cours pour diminuer encore ces risques. C'est aussi le rôle des traitements appliqués à l'eau. Un état de vigilance de tous les instants.

B/ Les pollutions par négligence

Les décharges sauvages (huile de vidange, batteries...) et tout ce que l'on jette dans la nature sans vraiment y prêter attention, représentent une source de pollution sournoise qui fait parfois beaucoup de dégâts à l'environnement.

C/ Les pollutions accidentelles

Les origines sont multiples :

- déversement de produits polluants lors d'accidents de la circulation ;
- dispersion dans la nature de gaz ou liquides toxiques par les usines ;
- panne dans le fonctionnement de stations d'épuration des eaux usées ;
- mauvais entreposage de produits chimiques solubles ;
- incendies...

D/ La pollution agricole

- La concentration des élevages donne un excédent de déjections animales ; celles-ci s'évacuent dans les cours d'eau et les nappes souterraines ; elles constituent une source de pollution bactériologique.
- Les engrais chimiques (nitrates et phosphates) altèrent la qualité des nappes souterraines qu'ils atteignent par infiltration des eaux.
- Les herbicides, insecticides et autres produits phytosanitaires s'accumulent dans les sols et les nappes phréatiques.

E/ La pollution domestique

- A la maison, l'eau des toilettes comme l'eau des lavages est une source de pollution soit organique (graisses) soit chimique (poudres à laver, détergents...)
- L'eau de mer ou de rivière, riche en espèces animales et végétales, transforme et élimine naturellement (en totalité ou en partie) les pollutions auxquelles elle sert d'exutoire : c'est ce qu'on appelle l'autoépuration. Grâce aux phénomènes de filtration et d'oxydation, combinés à l'action des organismes (bactéries, insectes, plantes...) vivant dans le milieu aquatique et sur les berges, l'eau assure le maintien de la qualité de son eau et préserve l'équilibre de son écosystème.

Si le niveau de pollution n'atteint pas un seuil critique, l'eau est capable de s'auto-épurer, c'est-à-dire d'éliminer progressivement les agents polluants. Ce phénomène explique qu'une rivière peut être polluée par des rejets à un endroit et être poissonneuse en aval de ce point. Bien sûr l'autoépuration de l'eau a ses limites. Par exemple, le sel ou les plastiques ne sont pas dégradables et perturbent ce phénomène naturel.

CHAPITRE II

TRAVAUX ANTERIEURS

INTRODUCTION

Plusieurs études ont été faites pour analyser les hydrocarbures polycycliques aromatiques Mc Elroya et Teal, peuvent être considérés par rapport à l'ensemble de leurs publications comme des auteurs centraux dans l'analyse des HAP [12]

Tous les échantillons de HAP provenant des différentes sources de pollution sont extraits et cela grâce à un processus d'extraction liquide-liquide ou par extraction en phase solide (SPE), à l'aide de solvants organiques [13,14].

II-1/ BREF HISTORIQUE :

Au début des années 70, l'identification des hydrocarbures polycycliques aromatiques est basée sur la liste prioritaire des 16 composés établis par l'agence environnementale américaine EPA

L'analyse des HAP a été réalisée selon une méthode 610 de l'EPA pour les eaux usées. Les HAP sont extraits avec du THF et sont analysés par chromatographie liquide à haute performance avec détection fluorescence ou ultra-violet, sauf pour l'acénaphthylène qui n'est pas détecté par cette méthode [15,16]. En 1977 une étude a été faite pour établir une valeur toxicologique pour des effets cancérigènes (OMSIPCS, 1988) (17).

Chu et Chen en 1984 et Clement en 1988, ont fait des recherches sur les HAP et ont trouvé que sept HAPs (benz[a]anthracène, benzo[a]pyrène, benzo[b]fluoranthène, benzo[k]fluoranthène, chrysène, dibenzo[a,h]anthracène, indéno[1,2,3-cd]pyrène) sont les plus toxiques [18]. Clement a établi une liste de 10 HAPs. En plus des HAPs cités par Chu et Chen, la liste proposée par Clement et al, comprend : l'anthracène, le benzo[g,h,i]perylène, et le pyrène.[19].

Cette liste a été établie à partir des données obtenues par 5 études expérimentales considérées comme les plus appropriées (Wynder et Hoffmann 1959 ; Habs et al., 1980 ; Bingham et Falk, 1969 ; Deutsch-Wenzel et al., 1983 ; Wislocki et al., 1986).[20]

Selon la technique d'analyse utilisée par la suite et selon le degré de pollution de l'échantillon étudié, les HAP contenus dans l'eau sont généralement extraits par extraction liquide-liquide

(LLE) [21-23] une des techniques les plus anciennes utilisée, qui demande beaucoup de solvants alors que l'extraction sur phase solide (SPE), technique plus facile, en consomme beaucoup moins [24-27].

II-2/_PRINCIPALES METHODES UTILISEES DANS L'ANALYSE DES HAP :

II-2-1/Chromatographie liquide de haute performance (CLHP):

La C.L.H.P est la technique la plus utilisée dans l'analyse des HAP dissous dans l'eau. Cette technique offre des avantages par rapport à la G.C particulièrement dans le niveau de détection très bas obtenu par les détecteurs fluorimétriques.[21-26].

La caractérisation des HAP a été effectuée à l'aide d'une phase inverse avec une détection U.V sans effectuer aucun pré-traitement [27].

II-2-2Chromatographie en phase gazeuse couplée a la spectrométrie de masse (GC/MS)

La G.C sur colonne capillaire avec un détecteur F.I.D [28, 29,30] possède une assez bonne sensibilité pour la détermination des différents HAP. Pour des concentrations plus faibles, le couplage G.C/M.S [31-34] est une des méthode très utilisée pour l'analyse qualitative et quantitative [35-37].

II-3/ Présentation des méthodes

L'analyse et le dosage des HAP sont effectués :

- Soit par chromatographie en phase liquide (sur phase inverse, colonne greffée C18, phase mobile méthanol ou acétonitrile/eau en isocratique ou en gradient) couplée a une détection par spectrophotométrie Ultra-Violet et/ou par fluorimétrie (CLHP/UV et/ou fluorimétrie), avec un dosage par étalonnage externe.

- Soit par chromatographie en phase gazeuse (colonne capillaire, phase stationnaire faiblement polaire) couplée à un spectromètre de masse (CPG/SM), avec un dosage par étalonnage interne. [38].

-- US EPA method 8100 (septembre 1986) – Polynuclear aromatic hydrocarbons. La méthode décrit la séparation et l'analyse des HAP par CPG/FID. Cette analyse requiert la mise en oeuvre préalable d'une étape d'extraction appropriée (US EPA méthode 3540 ou 3550 pour les sols). [39].

- US EPA method 8310 (septembre 1986) - Polynuclear aromatic hydrocarbons
La méthode décrit la séparation et l'analyse des HAP par CLHP/UV et Fluorimétrie.]. [40].

- US EPA method 4035 (décembre 1996) – Soil screening for polynuclear aromatic Hydrocarbons by immunoassay. Cette norme s'applique à la détermination des 16 HAP de la liste EPA, dans des échantillons de sols et d'eau [41].

- NF ISO 13877 (Avril 1999) – Qualité de l'eau : Dosage des hydrocarbures aromatiques polycycliques. L'analyse et le dosage sont réalisés par CLHP/UV ou fluorimétrie. Le dosage est réalisé par étalonnage externe. [42].

- US EPA method 8275A (décembre 1996) – Semi volatile organic compounds (PAHs and PCBs) in soils/sludges and solid wastes using thermal extraction/gas chromatography/mass spectrometry (TE/GC/MS). [43].

- NF ISO 14507 (septembre 2003) : Qualité de l'eau – Pré-traitement des échantillons pour la détermination des contaminants organiques. [44].

- FD X 31-610 (novembre 1997) – Qualité de l'eau : Méthode de détermination Semi quantitative des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP). Cette norme s'applique à la détermination des 16 HAP de la liste US EPA, dans des échantillons d'eau.] [45].

- US EPA method 4035 (Decembers 1996) – Soil screening for polynuclear aromatic hydrocarbons by immunoassay. Cette norme s'applique à la détermination des 16 HAP de la liste US EPA [46].

- NF ISO 13877 (avril 1999) – Qualité de l'eau : Dosage des hydrocarbures aromatiques Polycycliques – Méthode par chromatographie liquide haute performance. Cette norme décrit deux méthodes de détermination quantitative des HAP contenus dans l'eau selon que l'échantillon est faiblement ou fortement pollué. [47].

- ISO 14507 (mars 2003) : Qualité de l'eau – Pré-traitement des échantillons pour la détermination des contaminants organiques]. [48].

D'outre travaux de recherche ont donne les résultats suivants :
Pour l'identification des HAP Beltran et al [49], Suggèrent une extraction (ESA) (extraction par solvant accéléré).

La méthode consiste à utiliser l'HPLC en mode isocratique, avec un détecteur fluorimétrique et programmation des longueurs d'ondes

Cette extraction est longue et utilise de grandes quantités de solvants organiques. Mais par contre, la (micro extraction par solvants accéléré) (MASE) est une méthode intéressante, elle utilise très peu de solvant [50-55]

Et pour analyse qualitative et quantitative en GC/MS et LC/MS qui donne aussi une bonne séparation et détection [55-60]

IV/ CONCLUSION

La C.L.H.P équipée d'un détecteur D.B.D ou d'un FLUORIMETRE est la méthode de choix pour l'analyse qualitative ou quantitative des HAP.

La GC/MS est aussi une technique très utilisée offrant une bonne sensibilité pour l'identification et la quantification des tous les HAP.

La méthode consiste à utiliser HPLC en mode isocratique, avec un détecteur fluorimétrique et programmation des longueurs d'ondes.

CHAPITRE III

ANALYSE DES HPA

PAR CHROMATOGRAPHIE

INTRODUCTION :

Parmi les seize hydrocarbures polycycliques aromatiques classés comme très toxiques, nous avons retenu dix en raison de leur disponibilité.

Nous présenterons dans ce chapitre, les résultats d'analyses par HPLC et par couplage GC-MS de HPA standard individuellement et en mélange.

III-1/ ANALYSE DES STANDRADS PAR C.L.H.P :

Nous avons recherché les meilleures conditions opératoires pour séparer avec des résolutions acceptables les 10 HPA retenus.

III-1-1/ Réactifs utilisés

- Acétonitrile (MERCK) de qualité HPLC.
- Eau désionisée Ultra Pure produite a l'aide d'Elga Lab Water
- Dichloromethane (merck, Saint Quentin Fallavier, France)

Tous les solvants ont été filtrés sur millipore 0.22 µm

- Tubes d'extraction en verre
- Pipettes automatiques avec embouts jetables (Ependorf)
- Agitateur rotatif (BIOBLOCK),

III-1-2 Standards utilisés

- Les standards des différents HAP utilisés pour cette étude sont:
- Naphtalène (Naph)
- Acenaphténe (Acen).
- Fluoréne (Flu).
- Anthracène (Anth).
- Chrysène (Chry).
- Benzo (b) fluoranthène [B(b)F]
- Benzo (k) fluoranthène [B(k)F]
- Benzo (a)pyrène [B(a)P].
- Dibenzo(a, c)anthracène [D(a,c)A].
- Coronène (Cor)

Chaque standard a été préparé, dans un vial de 4mL, à une concentration de 60ug /ml dans du dichlorométhane. Certains HPA ont nécessité un léger chauffage (40-45°C) pour leur dissolution.

III-1-3 Appareillage et conditions opératoires

Appareil Agilent HPLC modèle 1100

Détecteur: barette diodes DAD Les longueurs d'onde retenues sont 210, 220, 230, 254 et 280 nm.

Température contrôlée: 27°C

Phase mobile : Acétonitrile /eau désionisée

Vinj : 10 µl

Colonne: Phosphore PAH 300Å (150mm x 4.2 mm) ; diamètre des particules 5µm

Temps d'analyse : 45 min

Temps (mn)	%ACN	%EAU	Debit(ml/mn)
0	50	50	0,6
20	60	40	0.6
30	70	30	0.6
35	80	20	0.6
40	90	10	0.6
45	100	00	0.6

Tableau 1: Gradient d'élution de la phase mobile Acétonitrile/eau utilisé pour la séparation individuelle des HPA.

III-1-4 Résultats :

Nous avons représenté sur les figures 1-10 les chromatogrammes des standards de HPA obtenus selon les conditions opératoires décrites ci-dessus.

Les temps de rétention des HPA sont réunis dans le tableau 1.

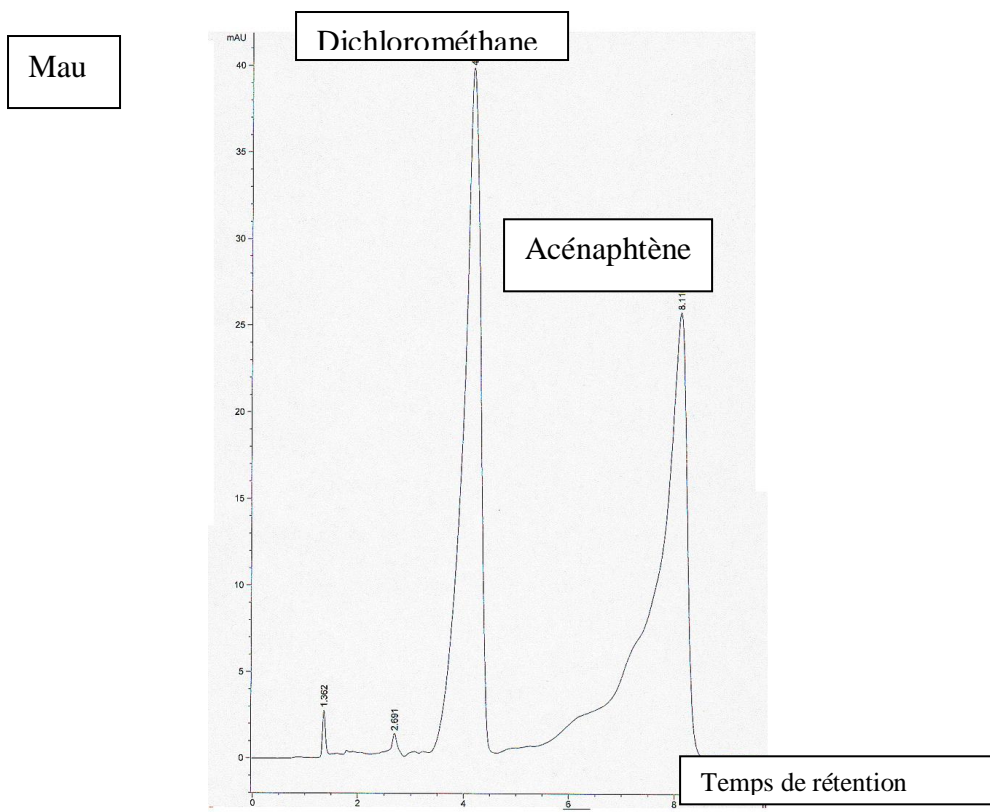


Figure 1 : Chromatogramme de l'Acénaphthène

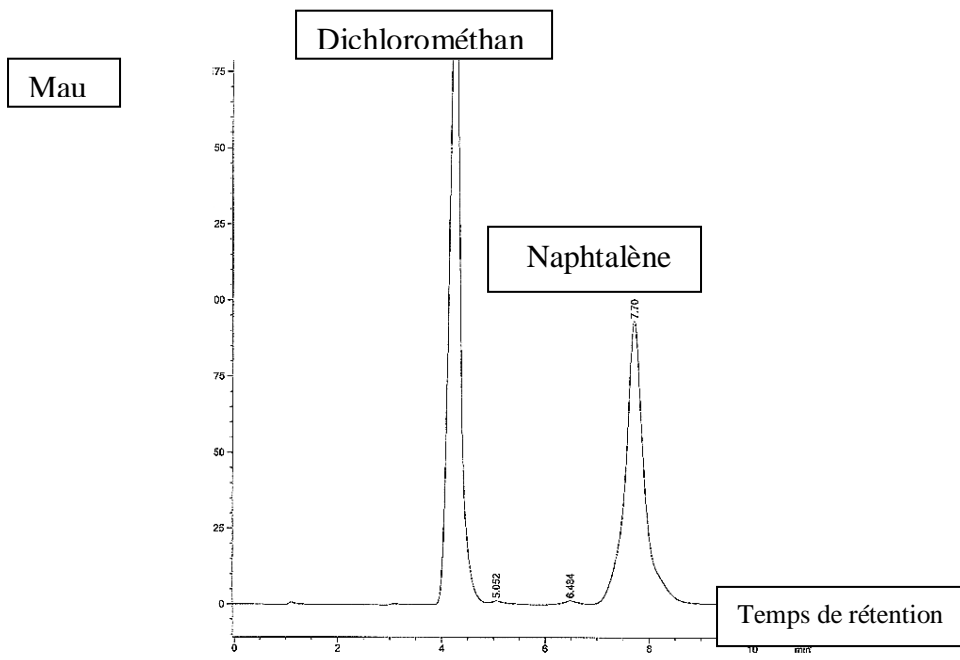


Figure 2 : Chromatogramme du Naphtalène

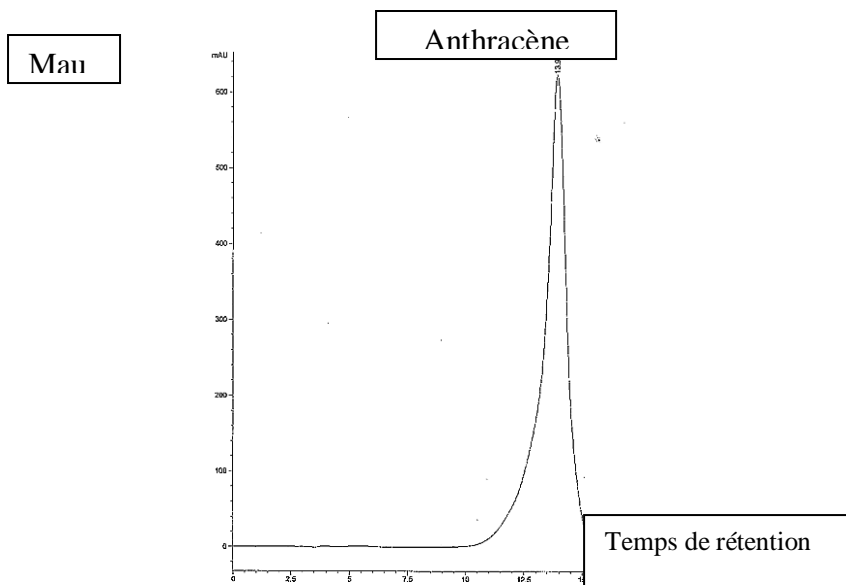


Figure 3 : Chromatogramme de l'Anthracène

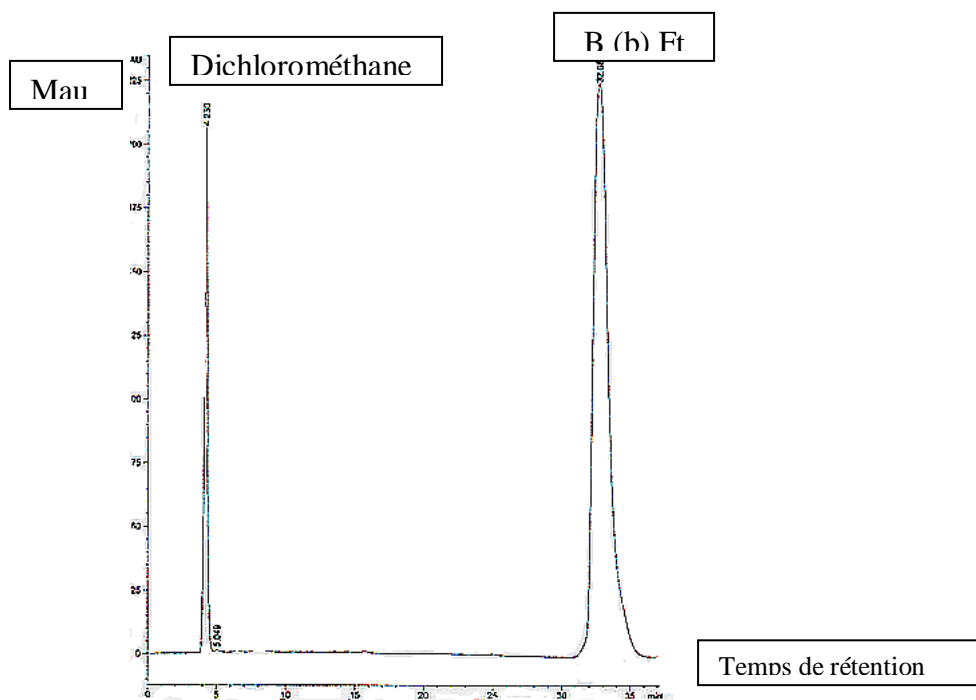


Figure 4 : Chromatogramme du B (h) Ft

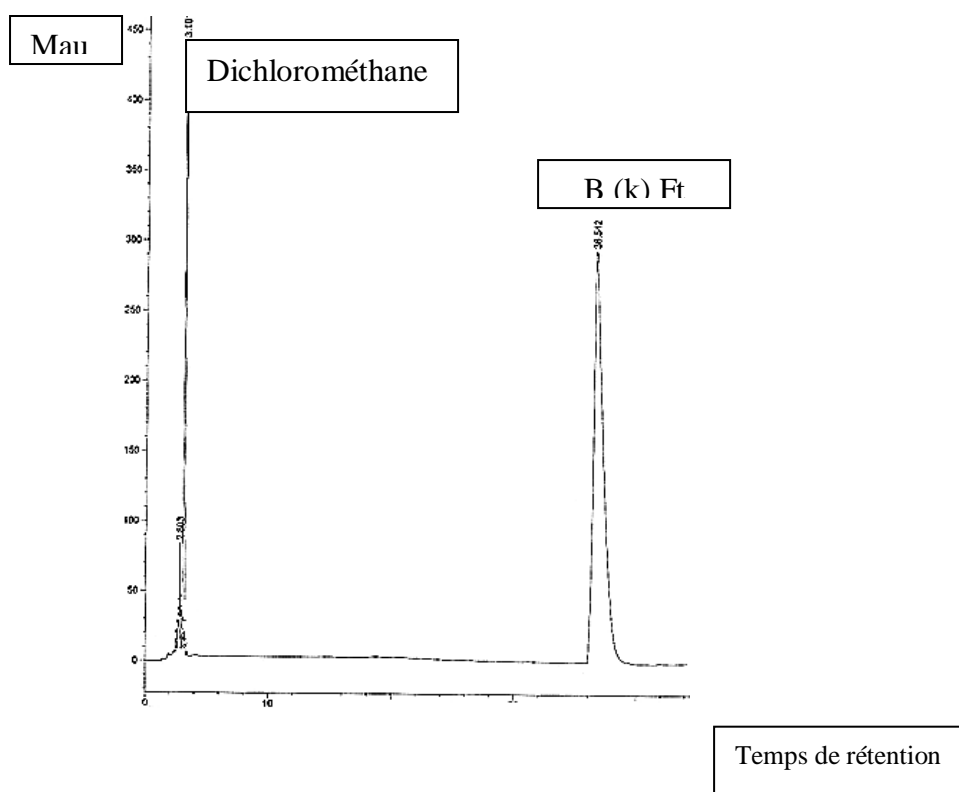


Figure 5 : Chromatogramme de B (k) Ft

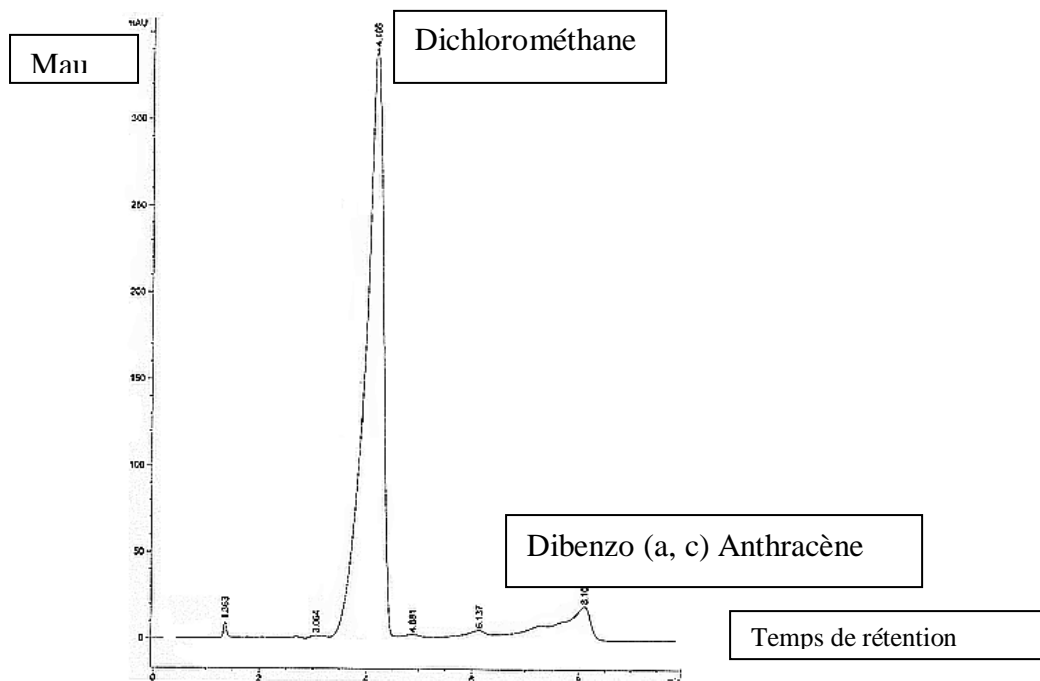


Figure 6 : Chromatogramme de dibenzo (a, c) Anthracène

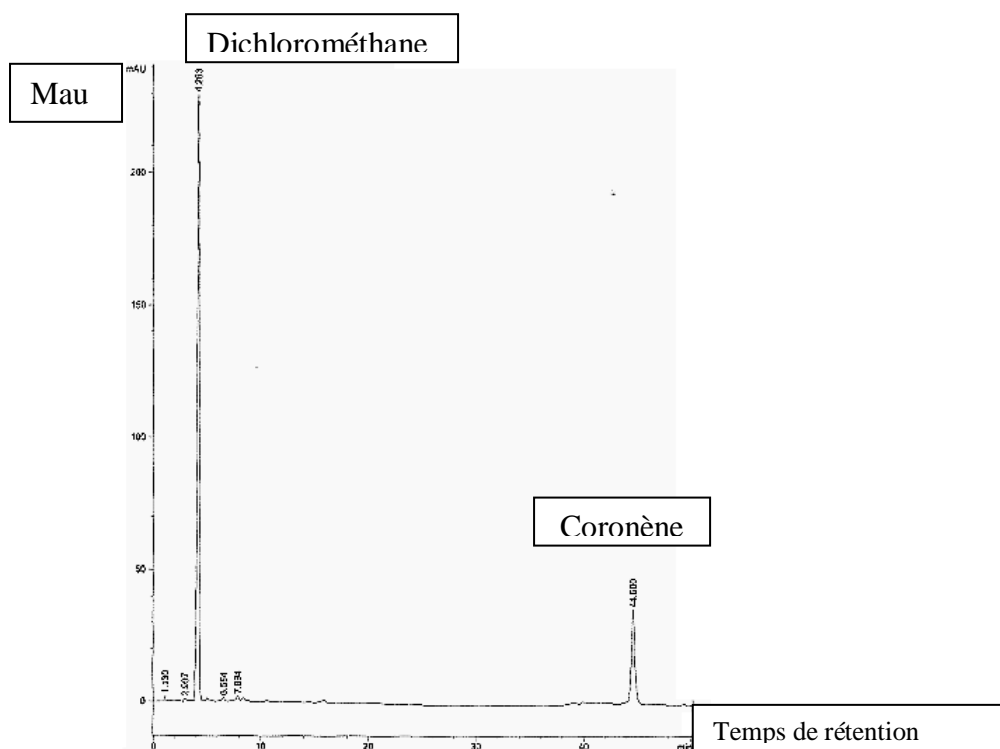


Figure 7: Chromatogramme du Coronène

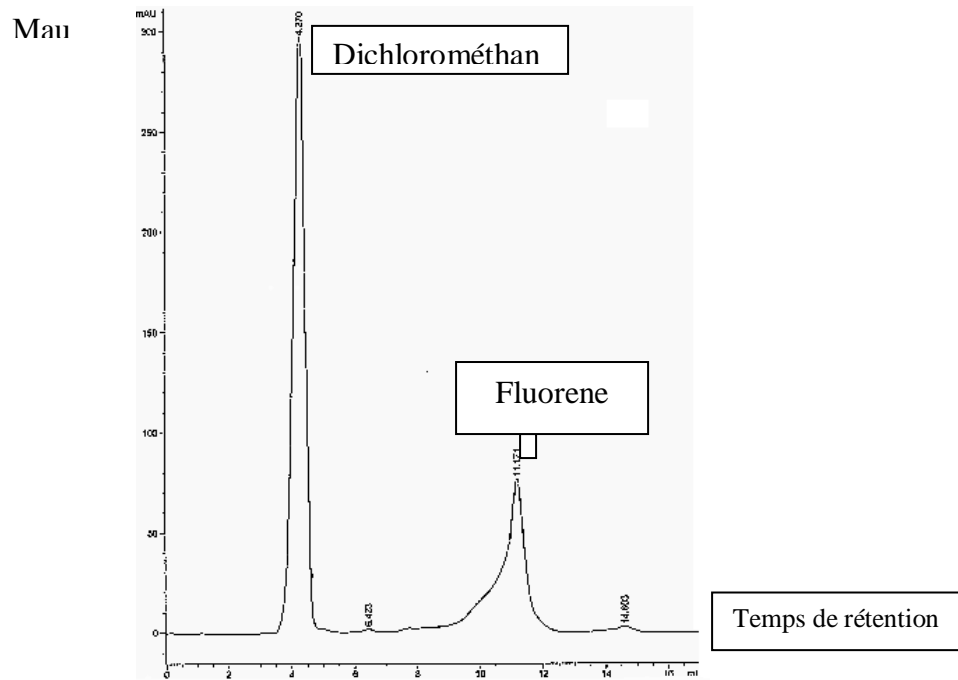


Figure 8: Chromatogramme du Fluorene

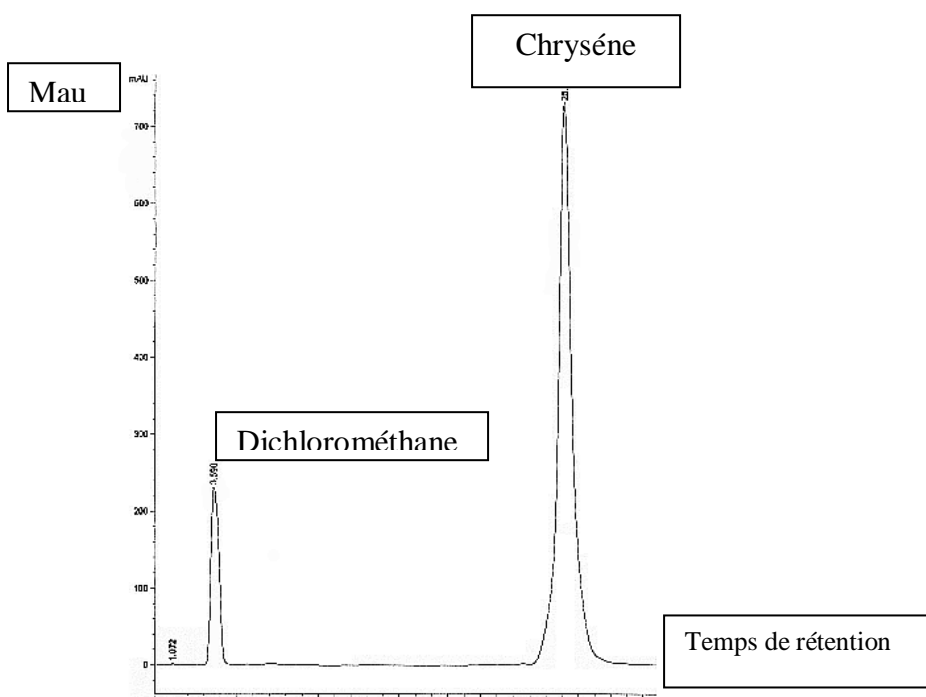


Figure 9: Chromatogramme du Chrysene

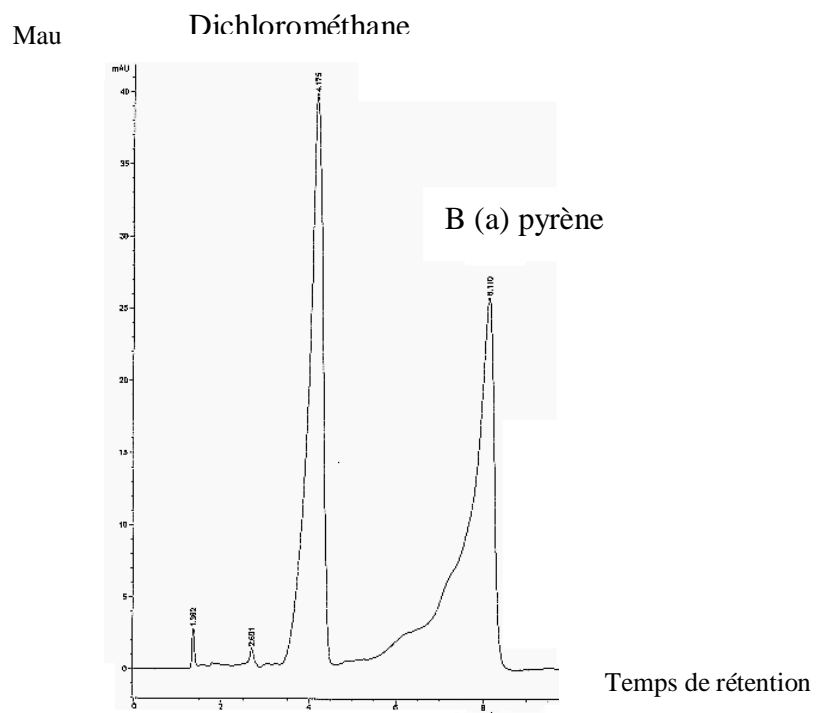


Figure 10: Chromatogramme du B (a) Pyrène

III-2/ Analyse d'un mélange de HPA par CLHP :

Après les avoir analysés individuellement et déterminé leur temps de rétention, nous avons séparés **un mélange de HPA** selon les conditions opératoires décrites ci-dessous.

III-2-1/ Conditions opératoires :

Appareil Agilent HPLC modèle 1100

Détecteur : DAD (210 ; 220 ; 230 ; 254 ; 280 nm)

Température : 27°C

Phase mobile : Acétonitrile/eau Le gradient d'élution est donné dans le tableau 2.

Temps (mn)	%ACN	%EAU	Débit(ml/mn)
0	50	50	0,6
20	60	40	0.6
30	70	30	0.6
35	80	20	0.6
40	90	10	0.6
45	100	00	0.6

Tableau 2: Gradient d'élution de la phase mobile Acétonitrile/eau.

Volume injecté : 10 µl

Colonne : Colonne: Phosphore PAH 300A 150mm x 4.62 mm ; diamètre des particules 5µm

Temps d'analyse : 45 mn

Après avoir utilisé plusieurs longueurs d'onde pour détecter les HPA dans le mélange (210 ; 220 ; 230 ; 254 ; 280 nm), nous avons retenu la longueur d'onde de 230 nm qui permet une meilleure détection de l'ensemble des HPA.

Le chromatogramme du mélange des HAP obtenu à cette longueur d'onde est représenté sur la figure 11.

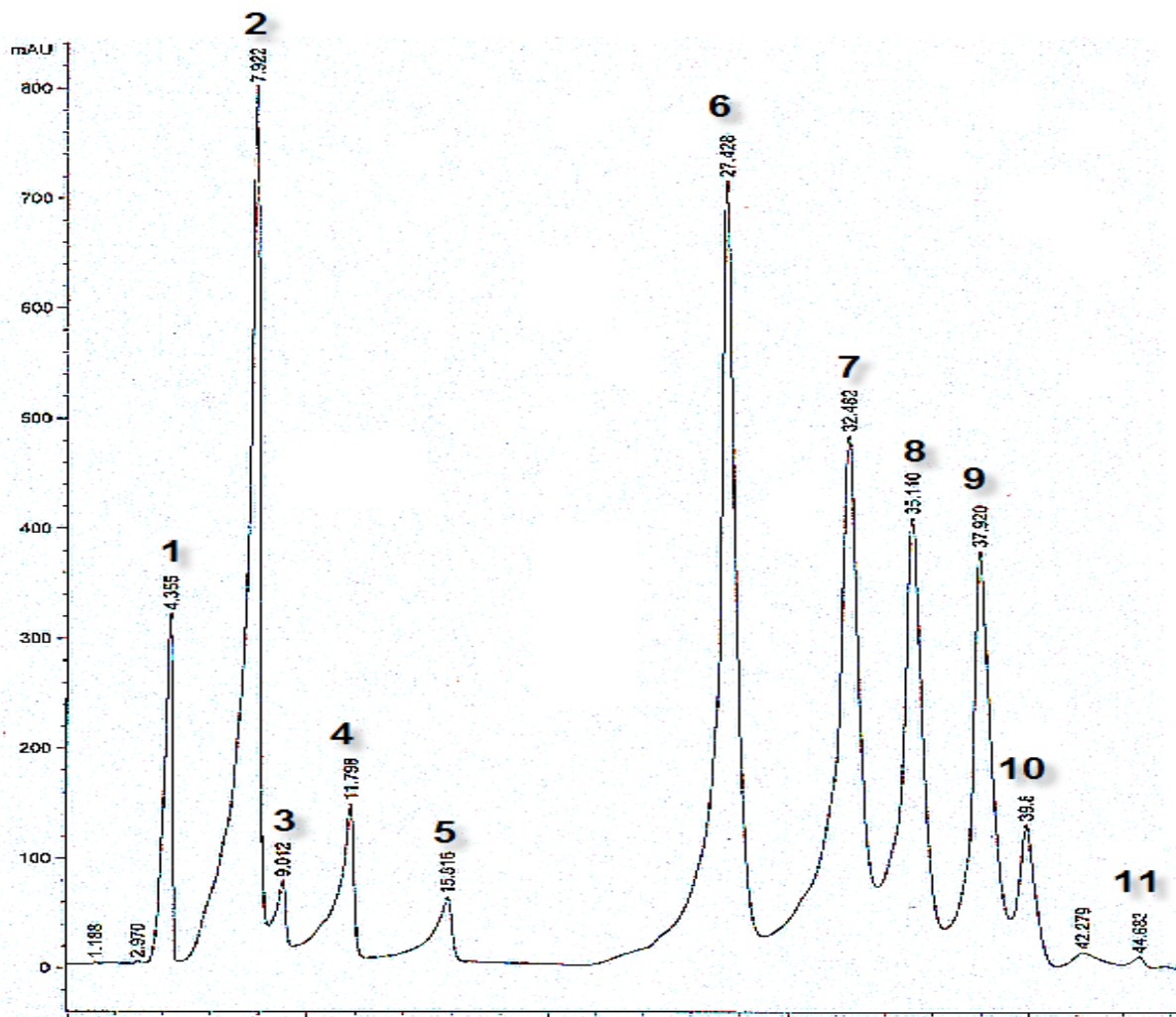


Fig. 11 : Chromatogramme du mélange de HAP 230 nm

Pic	Composés	Temps de Rétention (min)
1	Temps mort	4.35
2	Naphtalène	7.92
3	Acenaphthène	9.01
4	Fluorène	11.80
5	Anthracène	15.81
6	Chrysène	27.43
7	B(b)fluoranthène	32.48
8	B(k)fluoranthène	35.11
9	B (a)pyrène	37.92
10	Dib(a,c)anthracène	39.84
11	Coronène	44.68

Tableau 3: Temps de rétention des HAP

L'ordre d'éluion est le suivant: naph, ace, flu, anth, chry, B(b)Ft, B(k)Ft, B(a)pyr, Dib(a,c)Ant

N.B : Ordre d'éluion semblable a celui retrouvé dans la littérature [34]

III-2-2 CALCUL DE LA RESOLUTION ET DE LA SELECTIVITE :

Dans le cas d'une poudre, il est possible de conclure que la séparation est optimale si:

$$\text{Résolution (Rs)} \geq 1.5 \quad \text{et} \quad \text{Sélectivité (K)} > 1.1$$

Les valeurs de la résolution et de la sélectivité sont dans le tableau 4:

Pics	Résolution R_S $R=2(t_2-t_1)/(w_1+w_2)$	Sélectivité K $K=T_2/T_1$
Solv-naph	3.551	
naph-acen	1.067	1.87
acen-fluo	2.751	1.27
fluo-anth	2.885	1.68
anth-chry	6.046	2.10
Chry-Bbft	1.50	1.21
Bbft-Bkft	1.58	1.29
Bkft-B(a)pyr	1.437	1.09
B(a)pyr-Dib(a,c)anth	2.428	1.15
Dib(a,c)anth-cor	4.308	1.12

Tableau 4: Valeurs de la résolution et de la sélectivité pour le mélange de HAP

Interprétation :

L'ordre d'éluion est le même que celui retrouvé dans la littérature, idem pour le temps d'analyse [34]. Par ailleurs, les valeurs de la résolution et de la sélectivité indiquent une bonne séparation, excepté pour le couple B(k)Ft/B(a)Pyr qui présente une faible sélectivité

III-2-3/ ETUDE QUANTITATIVE :

Dans cette partie de notre travail, nous nous proposons de mettre au point les conditions analytiques pour l'analyse quantitative des HPA.

Nous avons déterminé les courbes d'étalonnage de chaque HPA étalon à partir de six solutions obtenues par dilution d'une solution mère contenant 200mg.L^{-1} .

Nous avons réunis dans le tableau 5 la méthode de préparation des solutions filles.

	Vol de Sol. Mère μL	Volume Solvant μL	Concentration mg.L^{-1}
S_M (solution mère)			200
S_1	500	500	100
S_2	500	1500	50
S_3	200	1800	20
S_4	100	1900	10
S_5	100	4900	4
S_6	100	9900	2
S_7	50	9950	1
S_8	10	10^4	0,2

Tableau n°5 : les différentes concentrations des HAP.

Toutes les solutions filles (S_i) sont analysées dans les conditions chromatographiques retenues dans le travail précédent.

Les courbes d'étalonnages obtenues sont représentées sur les figures (12-21).

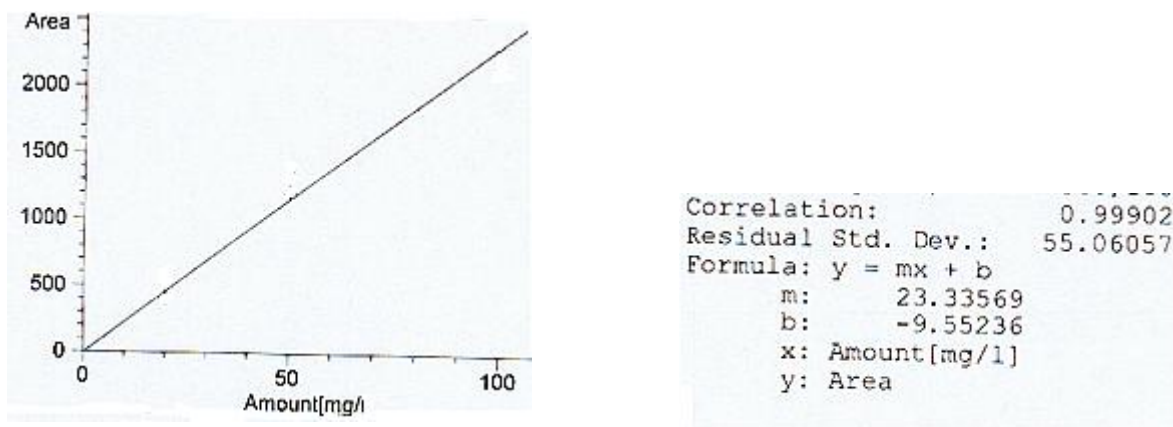


Fig. 12 : Courbe d'étalonnage du **Di Benz (a, c) anthracène**

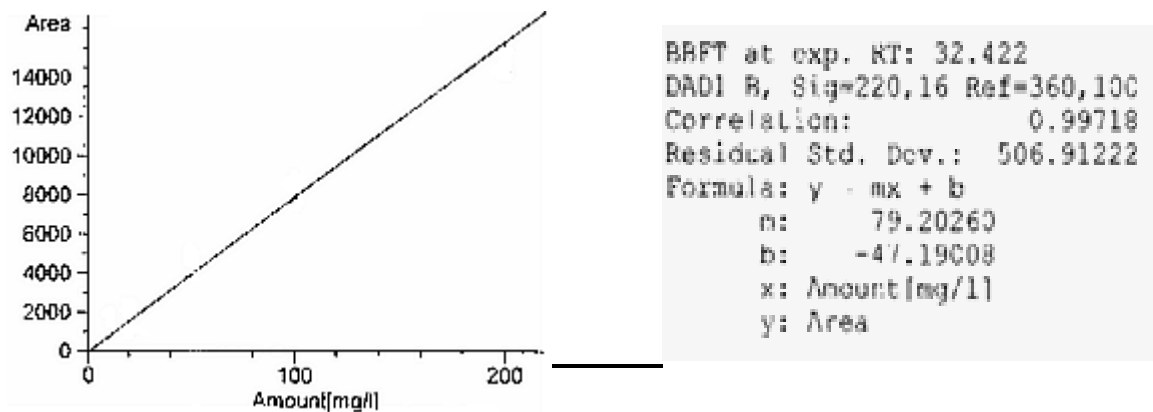


Fig. 13 : Courbe d'étalonnage du **Benzo (b) Fluoranthène**

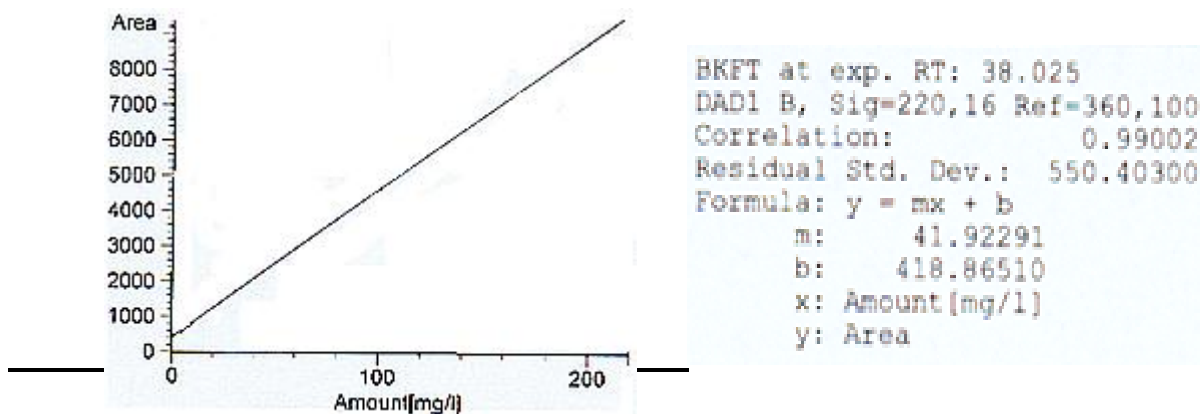


Fig. 14 : Courbe d'étalonnage du **Benzo (k) Fluoranthène**

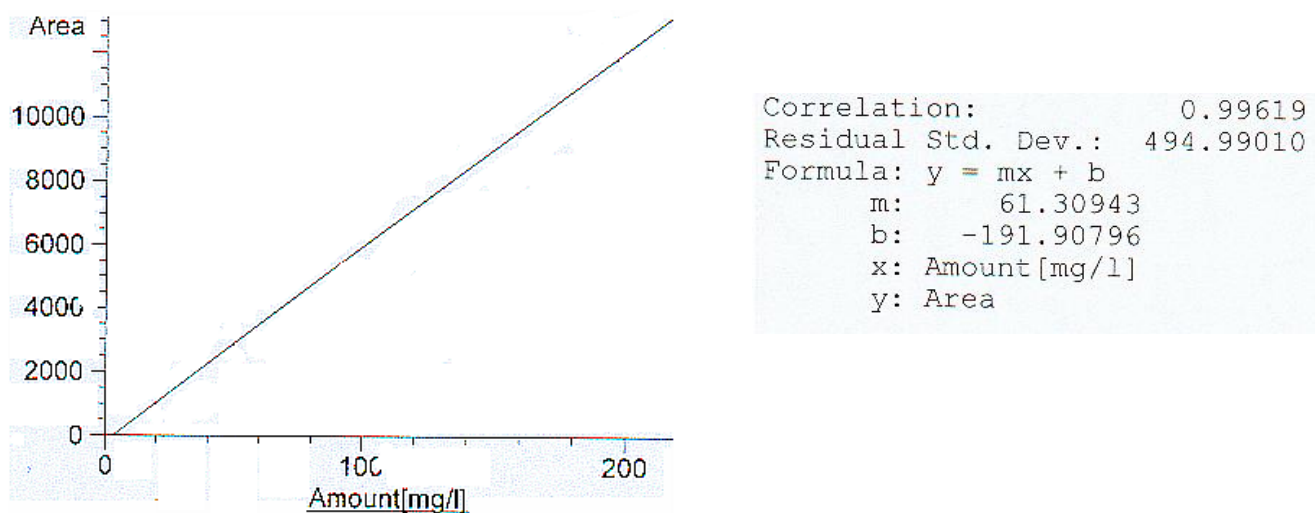
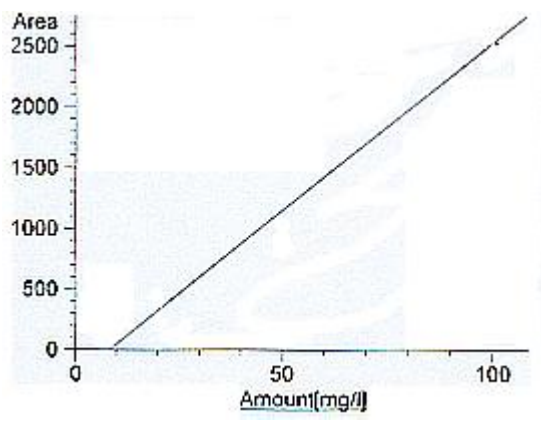
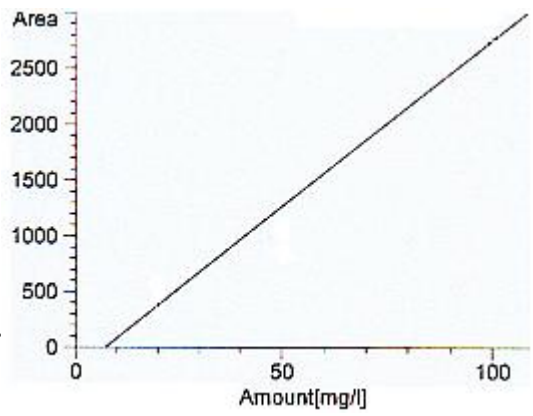


Fig. 15 : Courbe d'étalonnage du **Chrysène**



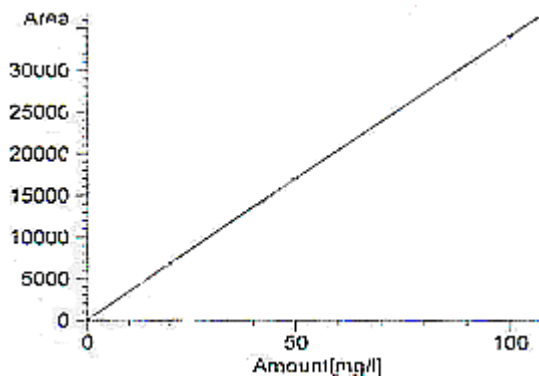
Correlation: 0.97791
 Residual Std. Dev.: 313.90669
 Formula: $y = mx + b$
 m: 27.57212
 b: -230.57132
 x: Amount[mg/l]
 y: Area

Fig. 16 : Courbe d'étalonnage de l'Anthracène



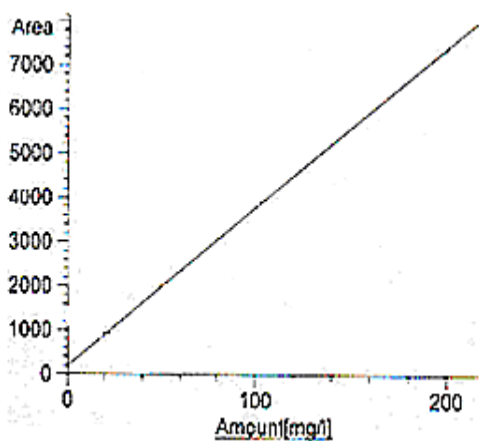
Correlation: 0.97669
 Residual Std. Dev.: 347.78182
 Formula: $y = mx + b$
 m: 29.70405
 b: -216.36889
 x: Amount[mg/l]
 y: Area

Fig. 17 : Courbe d'étalonnage du Fluorène



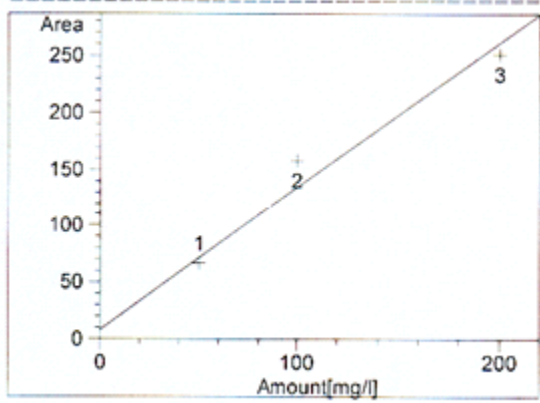
Correlation: 0.99999
 Residual Std. Dev.: 70.28148
 Formula: $y = mx + b$
 m: 341.59199
 b: 50.89211
 x: Amount [mg/l]
 y: Area

Fig. 18 : Courbe d'étalonnage du Naphtalène



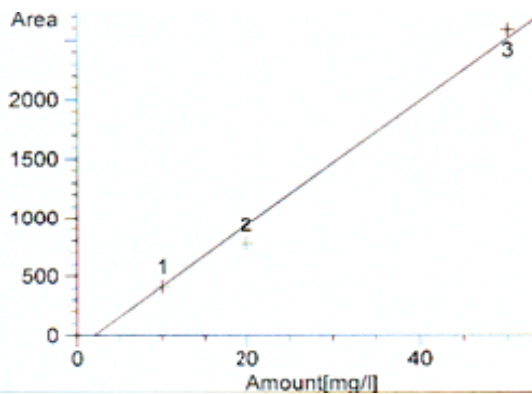
Correlation: 0.99808
 Residual Std. Dev.: 158.15598
 Formula: $y = mx + b$
 m: 36.18753
 b: 176.55418
 x: Amount [mg/l]
 y: Area

Fig. 19 : Courbe d'étalonnage de l'Acénaphthène



Coronène at exp. RT: 44.604
 DAD1 B, Sig=220,16 Ref=360,100
 Correlation: 0.98981
 Residual Std. Dev.: 19.07041
 Formula: $y = mx + b$
 m: 1.26773
 b: 7.92991
 x: Amount [mg/l]
 y: Area

Fig. 20 : Courbe d'étalonnage du **coronène**



Benzoapyrène at exp. RT: 39.727
 DAD1 B, Sig=220,16 Ref=360,100
 Correlation: 0.99410
 Residual Std. Dev.: 151.33014
 Formula: $y = mx + b$
 m: 52.43792
 b: -107.75229
 x: Amount [mg/l]
 y: Area

Fig. 21 : Courbe d'étalonnage du **Benzo-a-pyrène**

Les courbes de linéarité sont mentionnées dans le tableau n°6 suivant avec leurs paramètres

D'après les résultats obtenus dans le tableau n°6, les valeurs des coefficients de corrélation indiquent une bonne linéarité pour les différents HAP testés

LES HAP	L'EQUATION D'ETALONNAGE	LA CORRELATION
Naphtalène	$Y=341.591x+50.892$	0.999
Acénaphène	$Y=36.1875x+176.554$	0.998
Fluorène	$Y=29.7040x-216.368$	0.976
Anthracène	$Y=27.5721x-23.571$	0.977
Chrysène	$Y=61.3094-191.907$	0.996
Benzo (b) fluoranthène	$Y=79.202-47.190$	0.997
Benzo (k) fluoranthène	$Y=41.922-418.865$	0.990
Benzo (a)pyrène	$Y=52.437-107.752$	0.994
Dibenz(a, c) anthracène	$Y=23.335-9.552$	0.999
Coronene	$Y=1.267+7.929$	0.998

Tableau n°6 : les valeurs des coefficients de corrélation et des équations d'étalonnages des différents HAP testés

III-2-4/ LIMITES DE DETECTION ET QUANTIFICATION :

III-2-4-1/ DETERMINATION DE LA LIMITE DE DETECTION : L.D.D

La limite de détection correspond à la plus petite quantité injectée de l'analyte dont la hauteur du pic est égale à trois fois le bruit de fond. Elle est différente pour chaque composé et dépend généralement de la sensibilité de l'appareil.

Le protocole consiste à injecter dans les conditions chromatographiques retenues, des quantités de plus en plus faibles de HPA (deux essais ont été réalisés pour chaque concentration).

Les solutions filles préparées sont injectées une à une, chaque soluté a une limite de détection à une certaine concentration.

La L.D.D pour standards (à 230 nm) est estimée à différentes concentrations (avec un rapport : pic/bruit de fond $R \sim 3$).

III-2-4-2/ DETERMINATION DE LA LIMITE DE QUANTIFICATION : LDQ

La limite de quantification correspond à la plus petite concentration ou teneur de l'analyte pouvant être quantifiée selon la méthode envisagée.

La LDQ à 230nm est estimée à différentes concentrations (LDQ \approx 3 LDD)

Les résultats de la limite de détection obtenus pour chaque HAP sont résumés dans le tableau suivant n°7:

Solutés	LDD(mg/l)	LDQ (mg/l)
Naphtalène	10	30
Acénaphène	10	30
fluorène	4	12
Anthracène	4	12
Chrysène	4	12
Benzo (b) fluoranthène	2	6
Benzo (k) fluoranthène	2	6
Benzo (a)pyrène	1	3
Dibenz (a, c) anthracène	1	3
Coronene	2	6

Tableau n°7 : Limite de détection et de quantification des HPA à 230nm.

III-3/ ANALYSE PAR GC-MS

Il convient de préciser que, dans le contexte particulier du couplage GC-MS, nombreux sont les utilisateurs qui privilégient le temps d'analyse au détriment de la séparation chromatographique car les co-élutions partielles de pics ne posent pas de problème, chaque pic chromatographique étant "intégré" à partir du courant d'un ion caractéristique de l'analyte

De ce fait, l'analyse qualitative se trouve simplifiée et le recours aux HPA étalons n'est pas toujours nécessaire. Ces derniers ne sont utilisés que pour la quantification.

III-3-1/ LE SPECTROMETRE DE MASSE :

Un bref aperçu sur le principe du couplage est donné dans l'annexe I

III-3-2/ APPAREILLAGE ET METHODES :

Les conditions opératoires utilisées pour la séparation des HPA sont les suivantes :

Appareil : Perkin Elmer G.C/M.S modèle CLARUS 500. Analyseur : Quadripôle

Après plusieurs essais effectués on a optimisé les conditions opératoires ci-dessous :

Conditions opératoires de la GC	
Passeur d'échantillons	Automatique
Volume injecté	1ul
Gaz vecteur	Hélium
Colonne utilisée	Elite-5ms (longueur30m,diametre0.25um)
Température d'injection	250°C
Température de la ligne de transfert	200°C
Programmation de température	Temp initiale : 110° C pdt 10 mn; Rampe1 : 25° /mn 275°C pendant 10 mn Rampe2: 2.5° /mn 300° pendant 10 mn
Conditions opératoires de la SM	
Mode d'ionisation	Impact électronique
Potentiel d'ionisation	70ev
Température de la source	200°C
Balayage en scan (m/z)	20-500UMA

III-3-3/ RESULTATS :

A-1/ Etude qualitative

Les étalons HPA ont été préparés à $60 \mu\text{gL}^{-1}$ dans du dichlorométhane et injectés un à un dans les conditions chromatographiques décrites ci-dessus. Ces conditions opératoires ont été retenues après une optimisation. Les chromatogrammes des standards sont représentés sur les figures (23-33) réunis dans l'annexe II.

A-2/ ANALYSE G.C/M.S DU MELANGE DES HAP

Le mélange des standards HAP a été préparé de la même façon que celui utilisé en HPLC. Le chromatogramme obtenu est donné dans la figure 31. Les temps de rétention, regroupés dans le tableau 7, sont très voisins à ceux obtenus à partir des HPA injectés un à un

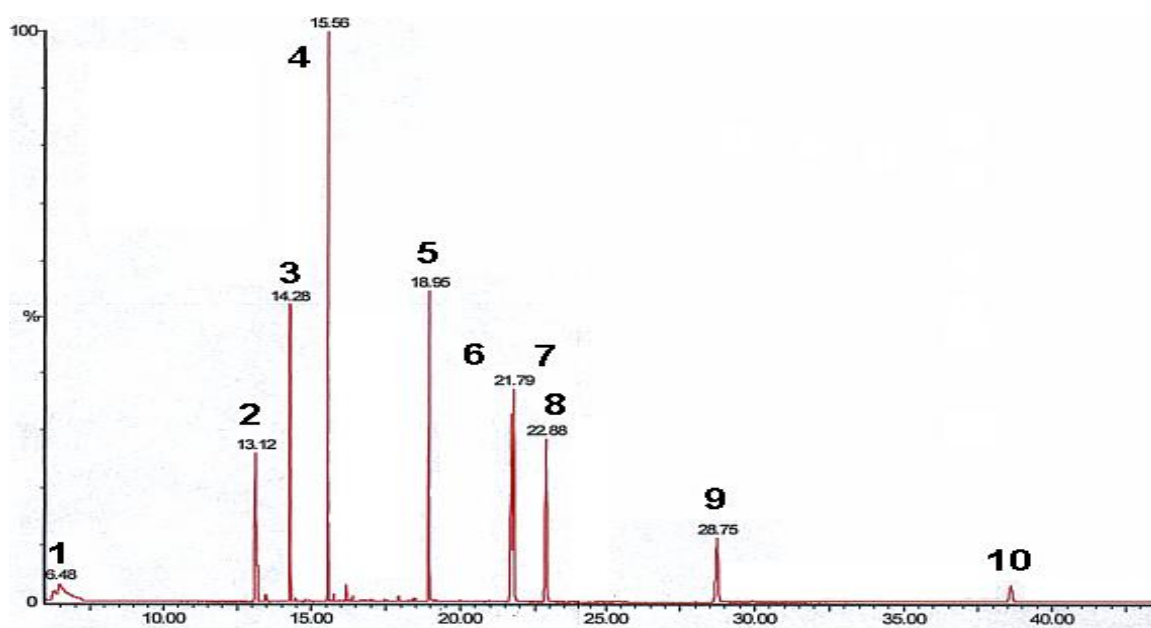


Fig. 31 : Chromatogramme du mélange des HAP

Le tableau 8 regroupe les composés du mélange des HAP et leurs temps de retentions

Solutés	Tr _i (mn)	Tr _i (mn) mélange
Naphtalène	6.80	6.82
Acénaphène	12.86	12.86
Fluorène	14.08	14.09
Anthracène	15.40	15.40
Chrysène	18.65	18.65
Benzo (b) fluoranthène	21.12	21.24
Benzo (k) fluoranthène	21.20	21.28
Benzo (a)pyrène	23.12	22.23
Dibenz (a, c) anthracène	27.60	27.61
Coronene	37.15	37.29

**Le tableau 8 : Comparaison des temps de rétention des HPA analysés un à un et en mélange.
(Couplage GC-MS).**

Interprétation :

Les temps de rétention sont comparables. L'ordre d'éluion des HPA est le même que celui retrouvé dans la littérature [52].

III-4/ ETUDE QUANTITATIVE

Préparation de l'échantillon

On a préparé une solution mère contenant tout les HAP à la concentration individuelle de 200mg/l. La préparation des solutions de la gamme étalon est résumée dans le tableau 9.

S _M (solution mère)	Vol de Sol. Mère	Volume Solvant	Concentration
S ₄	100µL	1900µL	10mg/L
S ₅	100µL	4,9mL (4900µL)	4mg /L
S ₆	100µL	9,9mL	2mg/L
S ₇	50µL	9,95mL	1mg/L
S ₈	10µL	15mL	200µg/L
S ₉	10µL	20mL	133µg/L
S ₁₀	10µL	40mL	100µg/L
S ₁₁	10µL	50ml	50µg/L

Tableau n°9 : les différentes concentrations des HAP de la gamme étalon. .

Nous avons déterminé, à partir des solutions S_i , la courbe d'étalonnage de chaque HPA. Ces courbes sont représentées sur les figures 32-41.

Les courbes d'étalonnages sont représentées sur la figure (32-41).

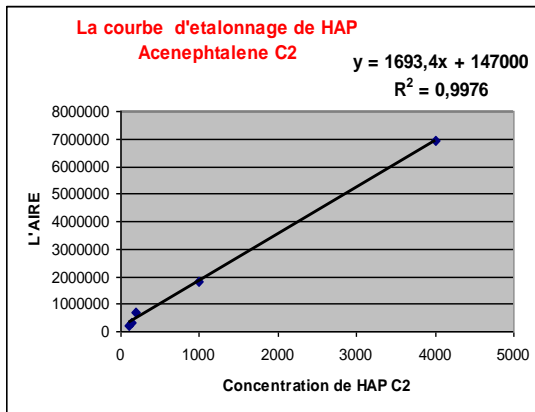
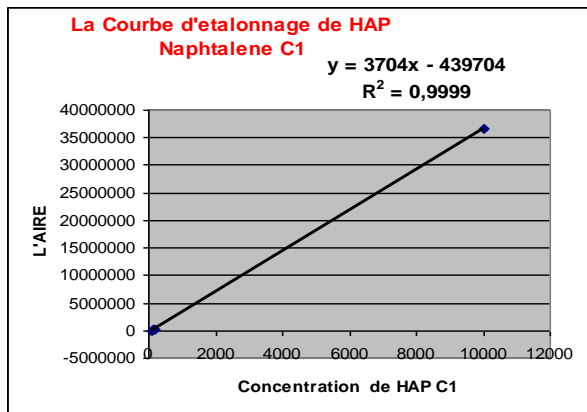


Fig. 32 : Courbe d'étalonnage du naph

Fig. 33 : Courbe d'étalonnage du ace

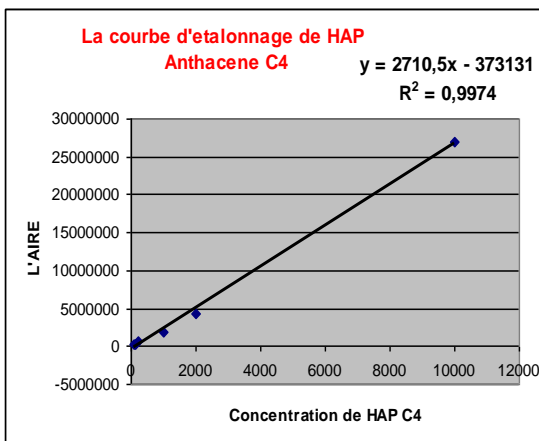
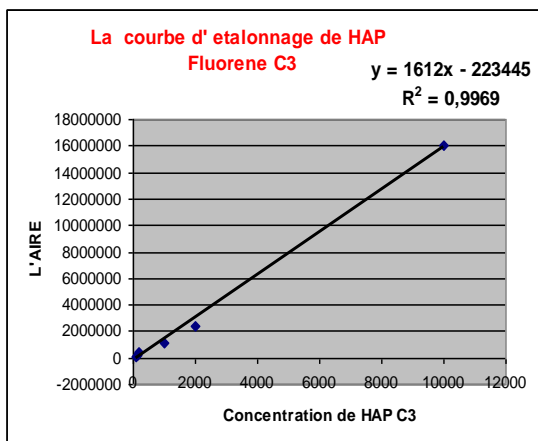


Fig. 34 : Courbe d'étalonnage du flu

Fig. 35 : Courbe d'étalonnage de l'anth

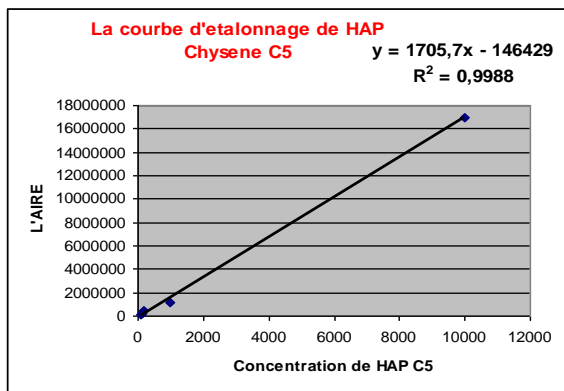


Fig. 36 : Courbe d'étalonnage du chry

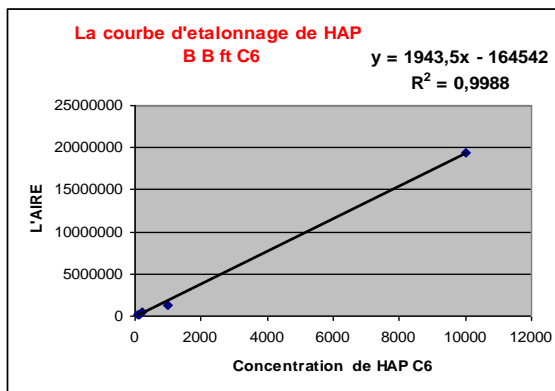


Fig. 37 : Courbe d'étalonnage du BBFT

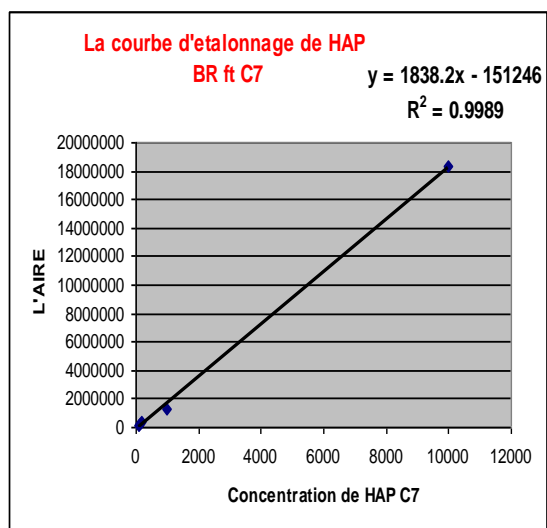


Fig. 38 : Courbe d'étalonnage du BKFT

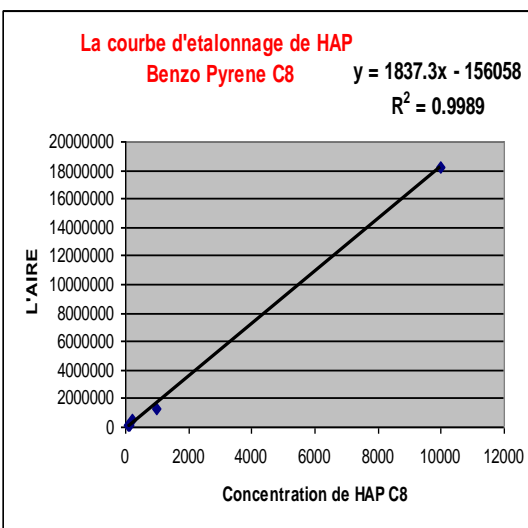


Fig. 39 : Courbe d'étalonnage du BAPRY

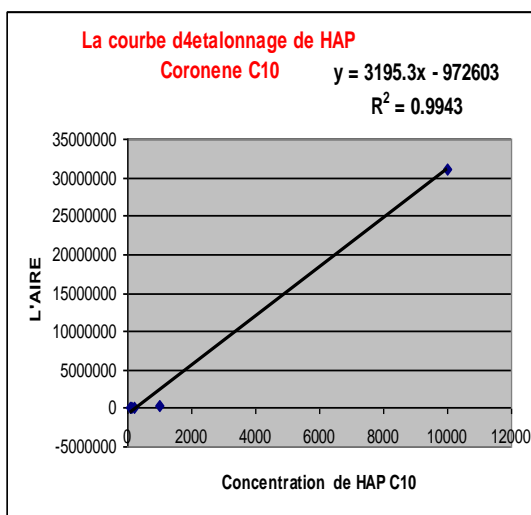
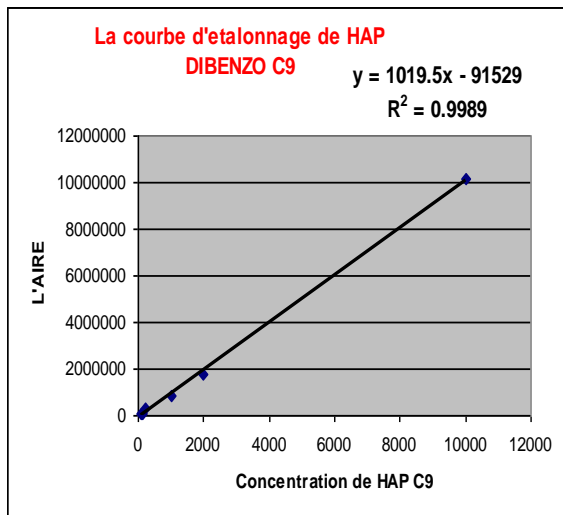


Fig. 40 : Courbe d'étalonnage DB(AC)PRY Fig. 41 : Courbe d'étalonnage du COR

Le tableau n°10 regroupe les équations des courbes d'étalonnage et les coefficients de corrélations des différents HAP étudiés

HAP	Equation de La courbe	Coeff de Corrélation
Naphtalène	$Y=3704x-439704$	0.999
Acénaphthylène	$Y=1693x+147000$	0.997
Fluorène	$Y=1612x-22344$	0.997
Anthracène	$Y=2710x-373131$	0.997
Chrysène	$Y=1705x-146429$	0.998
Benzo (b) fluoranthène	$Y=1943x-164542$	0.998
Benzo (k) fluoranthène	$Y=1838x-151246$	0.998
Benzo (a)pyrène	$Y=1837x-156058$	0.998
Dibenz(a, c) anthracène	$Y=1019x-91529$	0.998
Coronene	$Y=3195x-972603$	0.994

Tableau n°10 : les équations des courbes d'étalonnage et les coefficients de corrélations des différents HAP étudiés

D'après les résultats obtenus dans le tableau n°10, les valeurs des coefficients de corrélation indiquent une bonne linéarité pour les différents HAP testés

III-5 / LIMITS DE DETECTION ET QUANTIFICATION :

III-5-1/ Détermination de la limite de détection_ : L.D.D

La limite de détection correspond à la plus petite quantité injectée de l'analyte dont la hauteur du pic est égale à trois fois le bruit de fond. Elle est différente pour chaque composé et dépend généralement de la sensibilité de l'appareil.

Le protocole consiste à injecter dans les conditions chromatographiques retenues des quantités de plus en plus faibles de mélange HAP (deux essais ont été réalisés pour chaque concentration).

Les résultats de la limite de détection obtenus pour chaque HAP sont résumés dans le tableau suivant n° 11 :

Solutés	LDD	LDQ
Naphtalène	2mg/l	6mg/l
Acénaphène	100ug/L	300ug/L
FLuorène	100ug/L	300ug/L
Anthracène	50ug/L	150ug/L
Chrysène	133ug/L	399ug/L
Benzo (b) fluoranthène	100ug/L	300ug/L
Benzo (k) fluoranthène	100ug/L	300ug/L
Benzo (a)pyrène	100ug/L	300g/L
Dibenz (a, c) anthracène	100ug/L	300ug/L
Coronene	200ug/L	600ug/L

Tableau n°11 : Les résultats de la limite de détection et la limite de quantification des HAP testés

III-5-2/ Détermination de la limite de quantification : LDQ

La limite de quantification correspond à la plus petite concentration ou teneur de l'analyte pouvant être quantifiée selon la méthode envisagée.

$$LDQ \approx 3 LDD$$

CHAPITRE IV
ANALYSE D'UNE EAU SYNTHETIQUE
CHARGEE EN HPA

INTRODUCTION

Nous nous proposons dans ce chapitre de mettre au point l'analyse chromatographiques des HPA dissous dans l'eau. A cet effet, nous avons chargé de l'eau bidistillée par des HPA étalons. Nous avons procédé à leur extraction par l'utilisation de deux méthodes : l'extraction liquide-liquide avec deux solvants organiques, l'un apolaire (hexane), l'autre moyennement polaire (chloroforme) et l'extraction en phase solide à l'aide de cartouches SPE.

IV-1/ EXTRACTION LIQUIDE-LIQUIDE

Cette méthode a été pendant longtemps utilisée et donne de bons résultats quantitatifs. Son inconvénient réside essentiellement dans l'utilisation de volumes de solvants importants qu'il faut ensuite éliminer. Cet effet de concentration nécessite l'utilisation de solvants purs. Par ailleurs, la toxicité de la majorité des solvants organiques impose des de grandes précaution dans leur utilisation.

Dans le présent travail, nous avons procédé à l'extraction de HPA ajoutés à une eau bidistillée par 2 solvants organiques, l'un apolaire (hexane) l'autre moyennement polaire (chloroforme).

Toute la verrerie utilisée dans la préparation des solutions étalon et dans l'extraction est lavée à l'eau séchée dans une étuve et rincée avec le solvant d'extraction.

Les solvants d'extraction sont distillés avant leur utilisation. Nous avons utilisé un dispositif d'agitation, avec vitesse de rotation constante. Le sulfate de sodium anhydre est chauffé avant son utilisation dans une étuve à 150°C environ.

L'ampoule à décanter de 500 ml utilisée pour l'extraction des HPA dans l'eau est munie d'un robinet d'arrêt et d'un bouchon en PTFE.

Le 2-methyloctadecane a été retenu comme étalon interne. Il est ajouté en quantité connue à l'eau. Il permet des analyses quantitatives plus précises.

IV-1-1/ Préparation du blanc

Nous avons préparé un blanc constitué d'une solution d'eau bidistillée dans laquelle est ajouté l'étalon interne ; sa concentration dans l'eau est de 5mg/mL.

Deux solvants d'extraction ont été utilisés : l'hexane et le chloroforme.

- Méthode d'extraction :

500ml d'eau distillée + 2-methyloctadecane à une concentration de 5mg/mL . On extrait une première fois avec 20ml d'hexane, après agitation et décantation, on récupère la phase hexanique supérieure. Une deuxième extraction est faite avec 15 mL d'hexane.

Les deux extraits sont réunis, séchés sur du sulfate de sodium anhydre, filtrés et évaporés sous azote à 40-50°C jusqu'à un volume final de 1mL.

IV-1-2/ Extraction des HPA dissous dans l'eau avec du chloroforme et de l'hexane :

Nous avons préparé une solution d'eau bidistillée contenant 80µg/L de chaque HPA et 5mg/mL d'étalon interne.

Nous avons procédé à son extraction, comme il a été décrit plus haut, avec les deux solvants organiques. Les extraits ainsi obtenus sont concentrés et analysés par HPLC et GC/MS.

IV-1-3/ Résultats par HPLC:

Les extraits sont analysés par HPLC selon les conditions opératoires retenues dans la mise au point analytique décrite dans le chapitre III.

Les chromatogrammes obtenus sont donnés par les figures 42 et 43.

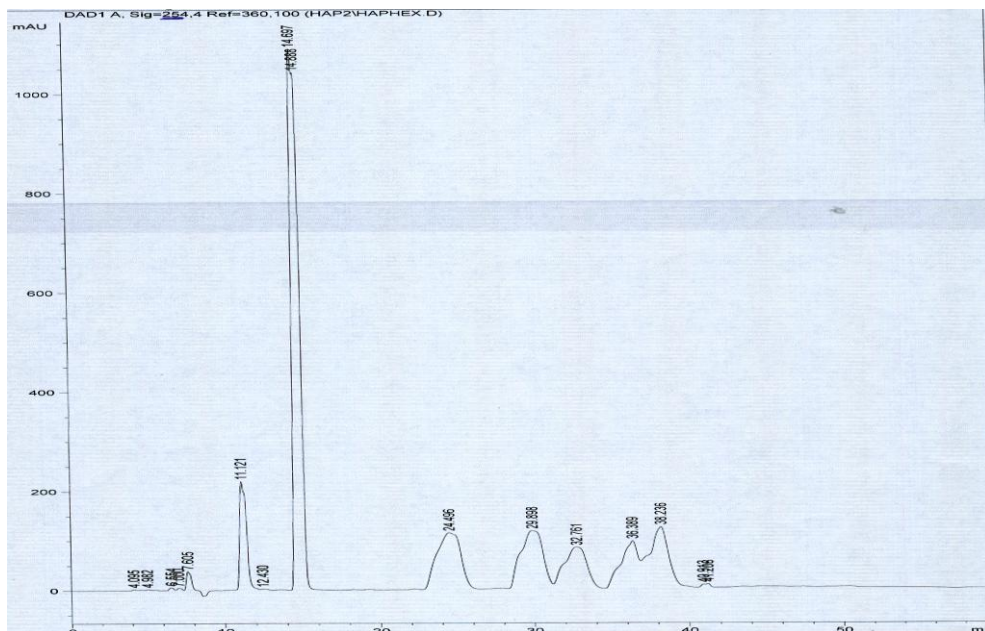


Fig. 42 Chromatogramme de l'extraction des HAP par l'hexane

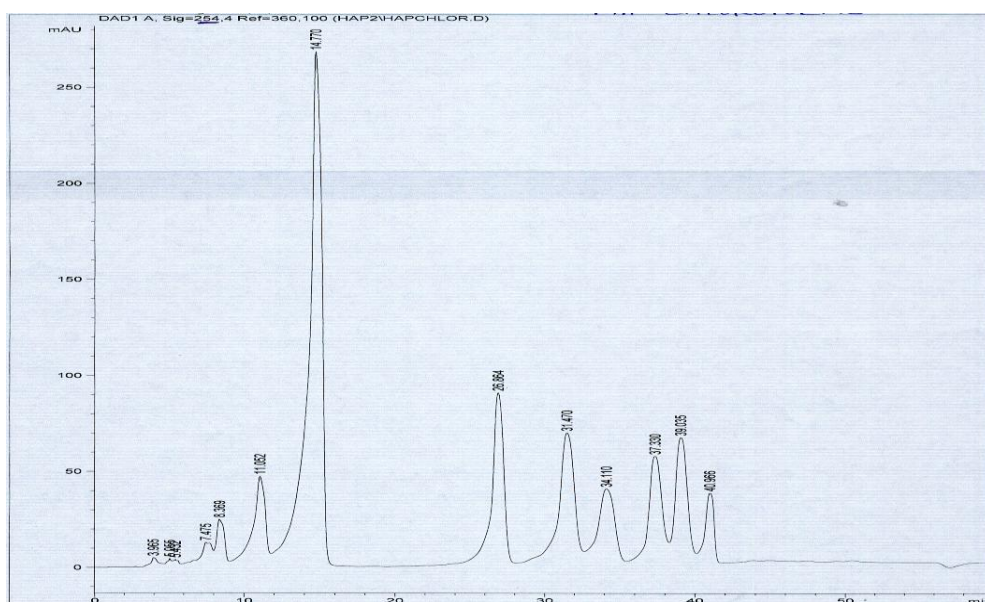


Fig. 43 Chromatogramme de l'extraction des HAP par le chloroforme

IV-1-4/ Résultats par GC/MS:

L'extraction des HAP dans une eau chargée a l'aide du chloroforme et l'hexane a été analysé par GC/MS dans les mêmes conditions que l'extraction des HAP standard. Le spectre de masse représentant l'extraction des HAP dans l'eau par extraction liquide-liquide est représentée par la figure 44.

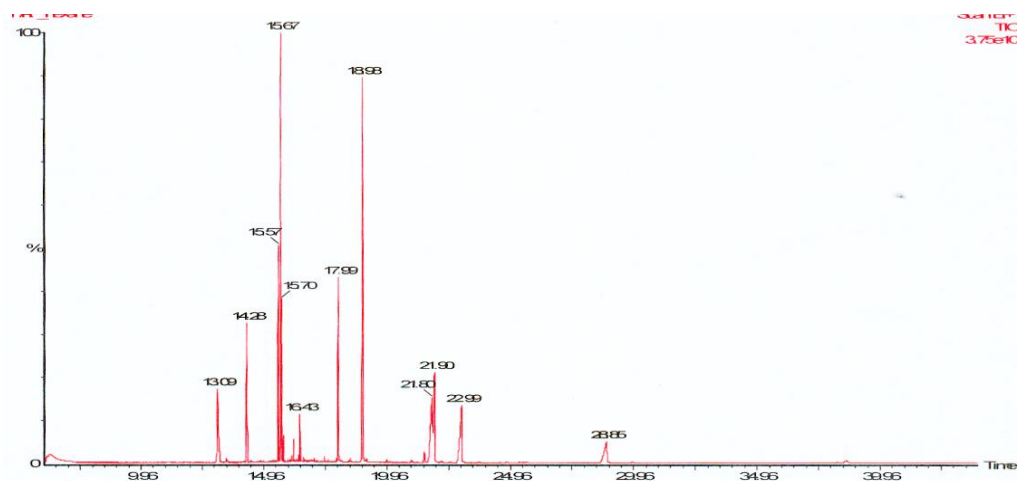


Fig.44: spectre de masse de l'extraction des HAP

Dans le tableau 12, nous avons réunis les temps de rétention des HPA extraits et identifiés par GC-MS.

Solutés	Tr (mn)
Naphtalène	6.80
Acénaphthylène	12.86
Fluorène	14.08
Anthracène	15.40
Chrysène	18.65
Benzo (b) fluoranthène	21.12
Benzo (k) fluoranthène	21.20
Benzo (a)pyrène	23.12
Dibenz (a, c) anthracène	27.60
Coronene	37.15

Tableau n°12: Temps de rétention des HPA extraits de l'eau synthétique contaminée.

IV-1-5/ Etude quantitative

Afin de quantifier les HPA dissous dans l'eau, nous avons tracé les courbes d'étalonnage de chaque HPA après son extraction de l'eau. En effet, l'analyse quantitative est plus précise lorsqu'on tient compte de l'effet de la matrice, dans notre cas l'eau.

Nous avons préparé plusieurs solutions aqueuses (500mL) à différentes concentrations en HPA. L'étalon interne ajouté est le 2-methyloctadecane à la concentration de 80µg/L

Les concentrations de ces solutions sont réunies dans le tableau 13. .

	Vol de Sol. mère	Volume d'eau contaminé	Concentration
S_M (solution mère)			200mg.L ⁻¹
S₁	100µL	500 ml	40 µg/L
S₂	50µL	500 ml	20 µg/L
S₃	20µL	500 ml	8 µg/L
S₄	10µL	500 ml	4 µg/L
S₅	50µL de Sf	500 ml	2 µg/L
S₆	25µL de Sf	500 ml	1µg/L

Tableau n°13 : les différentes concentrations des solutions d'eau contaminée par HAP.

* : Sf est obtenue par dilution au dixième de la solution mère

Les solutions ainsi préparées sont extraites au chloroforme, les extraits sont séchés sur sulfate de sodium anhydre, filtrés, et évaporés et concentrés.

Les extraits sont ensuite analysés par GC/MS, dans les conditions décrites précédemment

Des courbes d'étalonnage ont été réalisées à partir de ces différentes solutions contaminées de HAP.

Les courbes d'étalonnages sont représentées sur les figures (45-54).

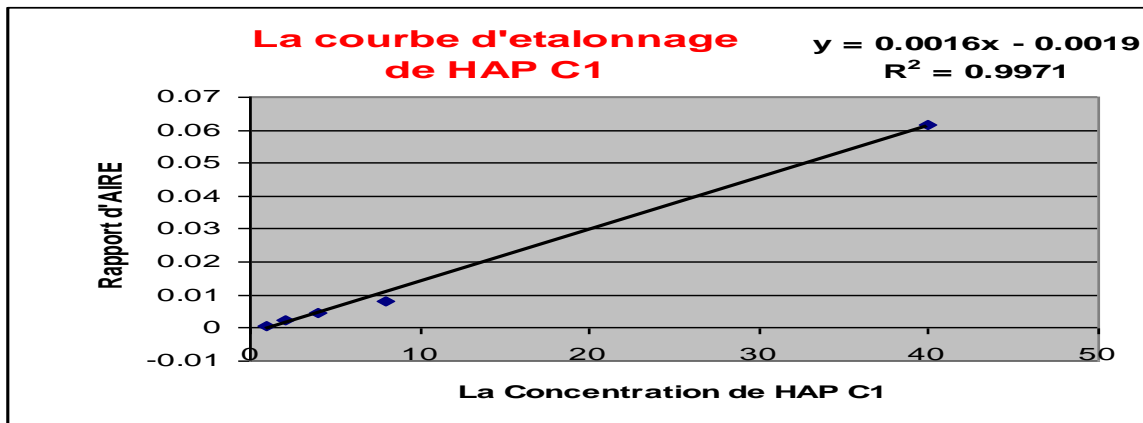


Fig. 45 : Courbe d'étalonnage du Naphtalène

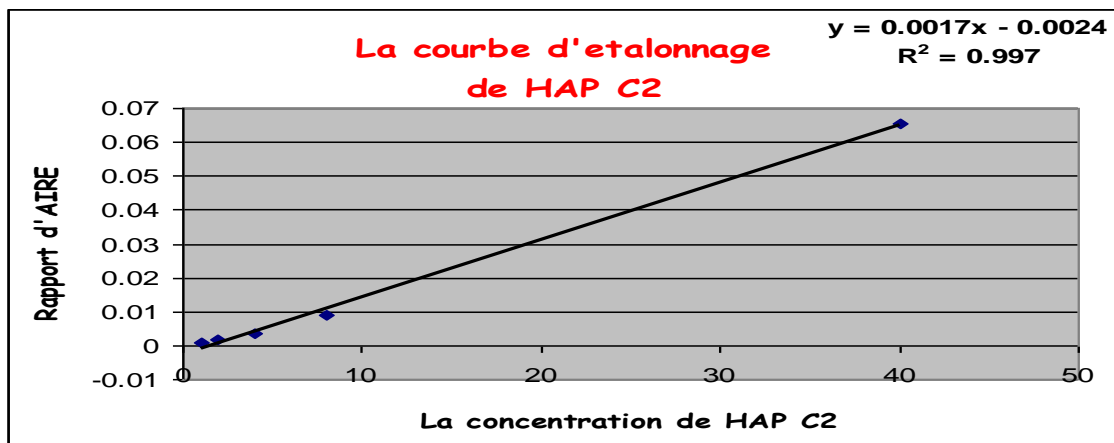


Fig. 46 : Courbe d'étalonnage de l'acénaphthène

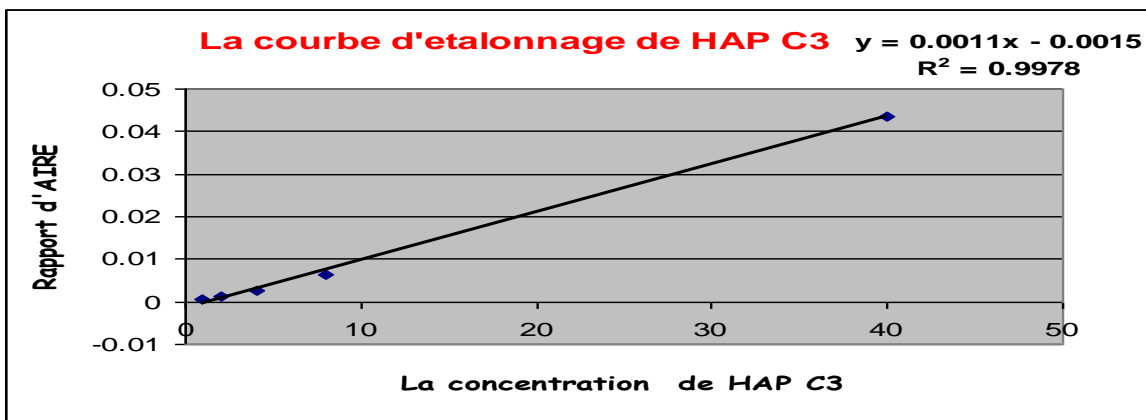


Fig. 47 : Courbe d'étalonnage du fluorène

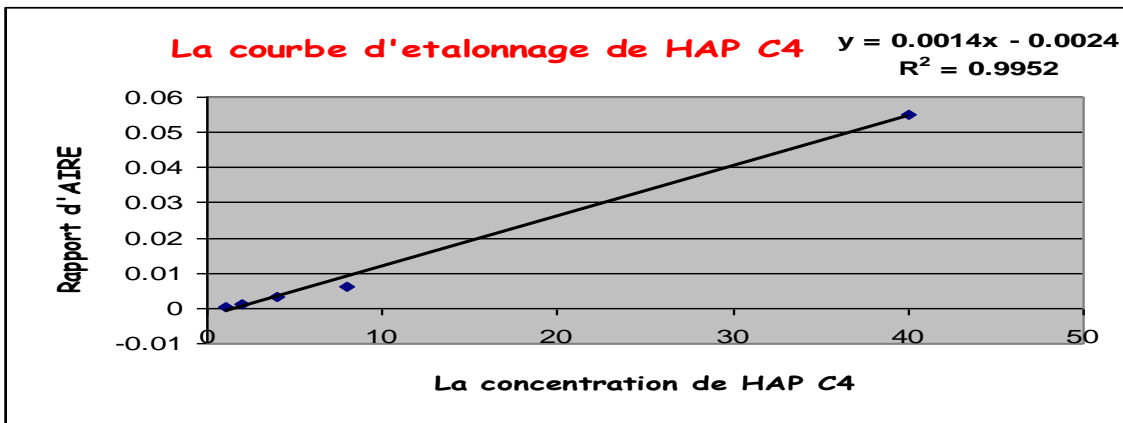


Fig. 48 : Courbe d'étalonnage de L'anthracène

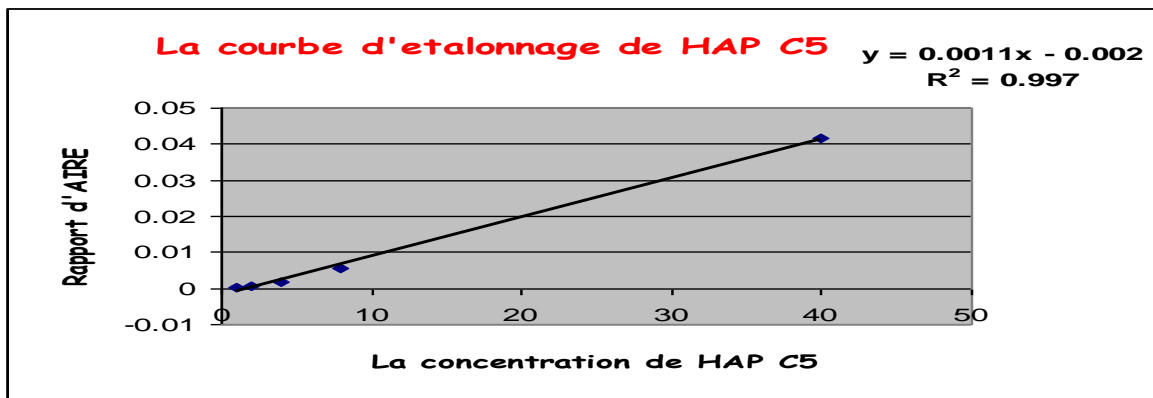


Fig.49 : Courbe d'étalonnage Du chrysène

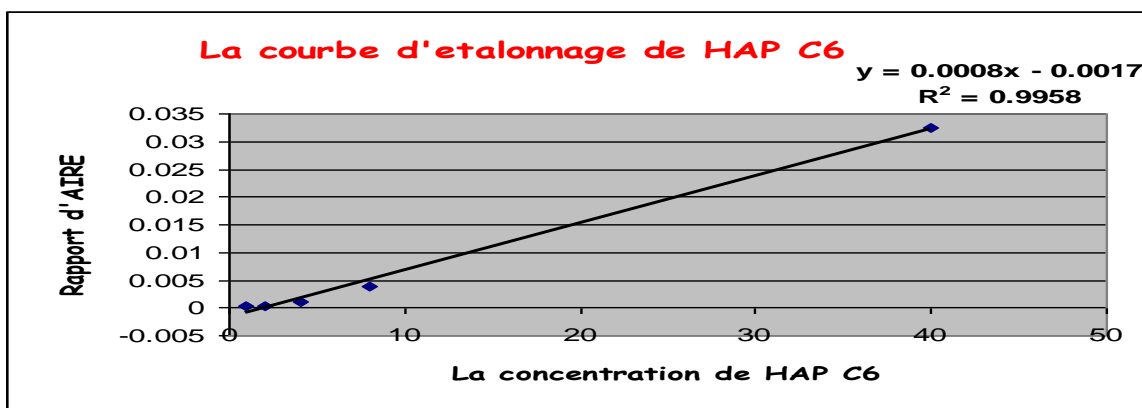


Fig. 50 : Courbe d'étalonnage Du BBFT

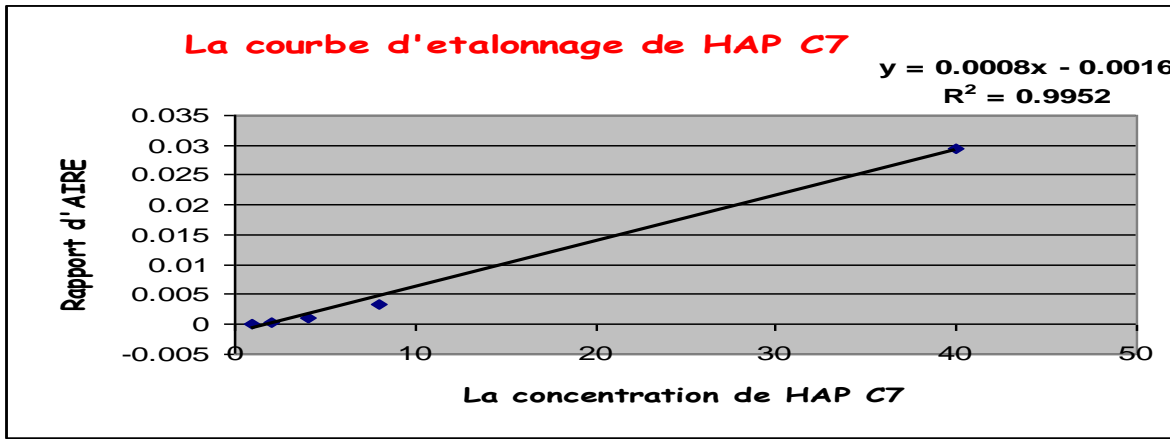


Fig. 51 : Courbe d'étalonnage du B (k) Ft

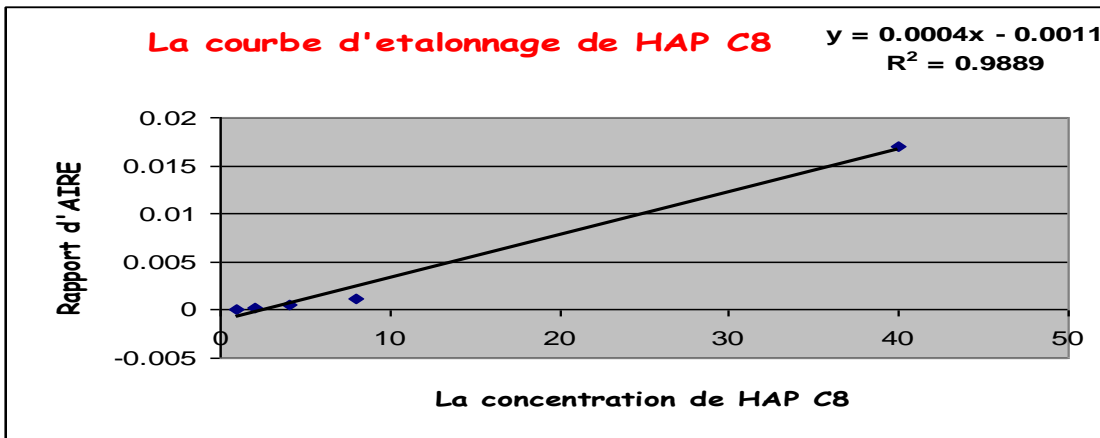


Fig. 52 : Courbe d'étalonnage du B (a)P

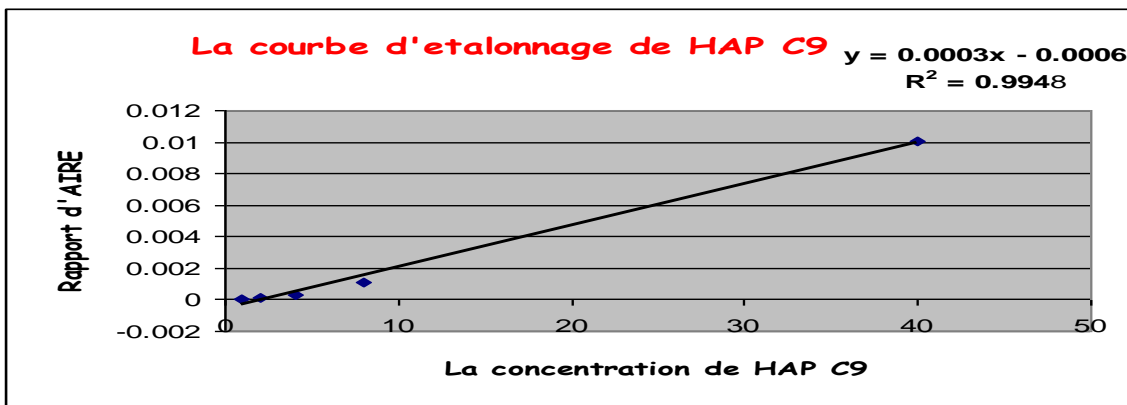


Fig. 53 : Courbe d'étalonnage DB (ac) Anthracène

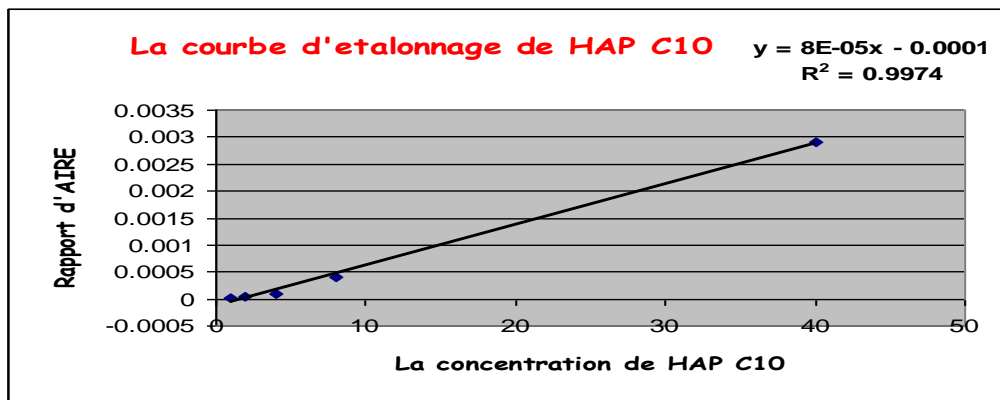


Fig. 54 : Courbe d'étalonnage du Coronène

NB: Le Rapport d'AIRE = L'AIRE DE HAP /L'AIRE DE L'ÉTALON

Les droites de linéarité sont mentionnées dans le tableau n°14 ci-dessous avec leurs paramètres

Les différents constituants des hap	L'équation de la courbe d'étalonnage	Coefficient de corrélation
Naphtalène	$Y=0.0016x-0.0019$	0.997
Acénaphène	$Y=0.0017x-0.0024$	0.997
Flourene	$Y=0.0011x-0.0015$	0.997
Anthracène	$Y=0.0014x-0.0024$	0.995
Chrysene	$Y=0.0011x-0.002$	0.997
Bbft	$Y=0.0008x-0.0017$	0.995
Bkft	$Y=0.0008x-0.0016$	0.995
Bapyrene	$Y=0.0004x-0.0011$	0.988
Dibenz (ac) anth	$Y=0.0003x-0.0006$	0.994
Coronene	$Y=8^E-05x-0.0001$	0.997

Tableau n°14 : les équations des courbes d'étalonnage et les coefficients de corrélations des différents HAP extraits de l'eau

D'après les résultats obtenus dans le tableau n°14, les valeurs des coefficients de corrélation indiquent une bonne linéarité de la réponse des HPA extraits de l'eau.

IV-2/ EXTRACTION SPE

Nous avons utilisé une deuxième méthode d'extraction, l'extraction en phase solide ne nécessitant que de faibles volumes de solvant et relativement rapide et facile à mettre en oeuvre. Cette méthode est celle préconisée actuellement par tous les auteurs.

IV-2-1/ Matériels:

Nous avons utilisé des Cartouche C₁₈ et un système d'extraction Vac-Elut de marque Varian.

IV-2-2 /Procédure de la technique

IV-2-2-1/ Conditionnement de la cartouche

La cartouche est conditionnée par passages successifs de 10 ml de l'eau distillée, 10mlde méthanol et 10ml d'eau distillée.

IV-2-2-2/ préparation des solutions

Les solutions aqueuses ayant fait l'objet de l'extraction par SPE ont été chargées en HPA à trois concentrations différentes soit 20 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 8 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ et 4 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$.

Dans le tableau 15, nous avons résumé la composition de ces solutions, toutes préparées à partir de la solution mère de 200 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

	Vol de Sol. mère	Volume d'eau contaminé	Concentration
S _M (solution mère)			200 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$
S ₁	10 μL	100 ml	20 $\mu\text{g}/\text{L}$
S ₂	4 μL	100 ml	8 $\mu\text{g}/\text{L}$
S ₃	2 μL	100 ml	4 $\mu\text{g}/\text{L}$

Tableau n°15 : les différentes concentrations des solutions d'eau contaminé par HAP.

IV-2-2-3/ Adsorption

- Placer la cartouche conditionnée dans l'appareil (varian-elut)
- Faire passer 100ml d'échantillon d'eau chargée de HAP à une vitesse de 10ml/mn
- Laisser sécher dans l'appareil
- Enlever la cartouche et la faire sécher sous azote
- Remettre la cartouche dans le vac-Elut et éluer avec 2-3mL de dichlorométhane
- Concentrer l'extrait à 40°C sous azote jusqu'à un volume de 1ml.

Avant l'injection dans le GC/MS, ajouter à l'extrait l'étalon interne, soit 10ul d'une solution à 0.5mg/mL

IV-2-2-4/ Résultats :

Les spectres de masse obtenus sur les extraits sont représentés sur la figure 55

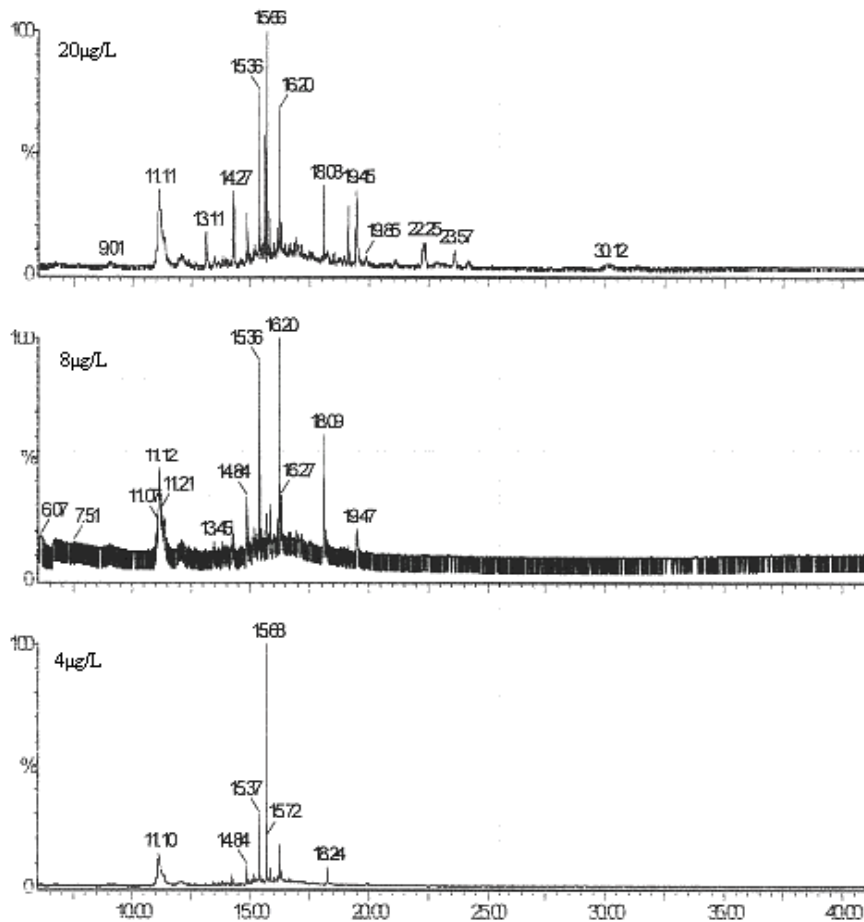


Fig. 55 : spectres de masses des différentes extractions par SPE des HAP dissous dans l'eau.

Sur les figures 55-57, nous avons les spectres de masse des différents HPA extraits de la solution aqueuse à $20\mu\text{g.L}^{-1}$. Nous avons pu, identifier tous les HPA ajoutés à l'eau distillée.

Les chromatogrammes résultant de l'extraction des HAP dans l'eau contaminé à une concentration de $20\mu\text{g/L}$ sont représentés sur les figures (58-64) En zoomant sur la ligne de base, il est possible de visualiser les pics correspondant aux composés des différents HAP:

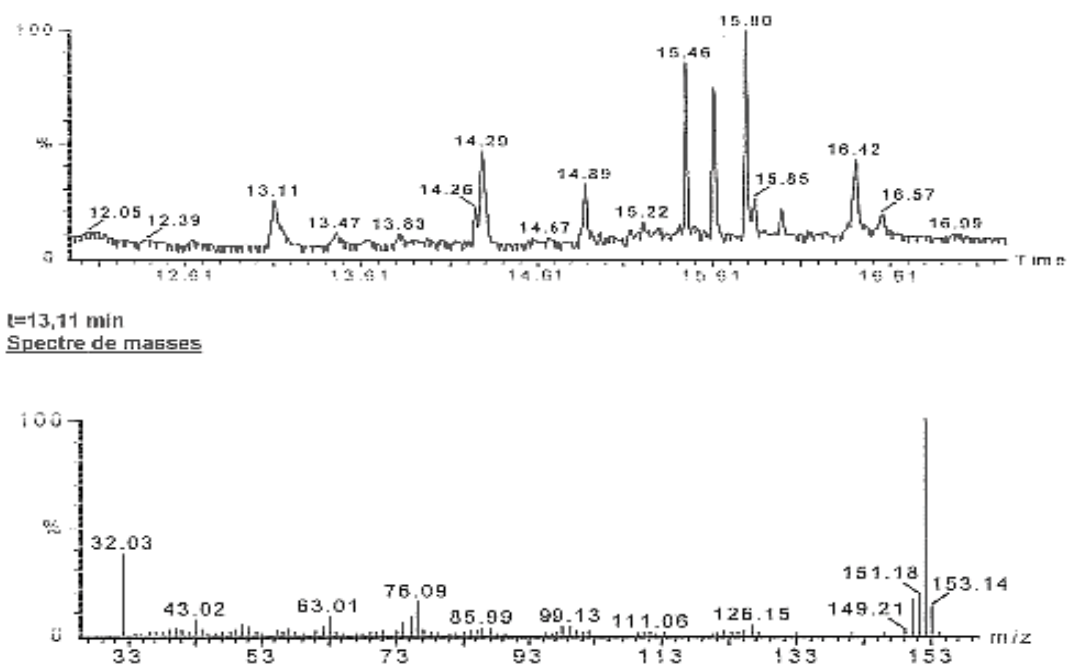
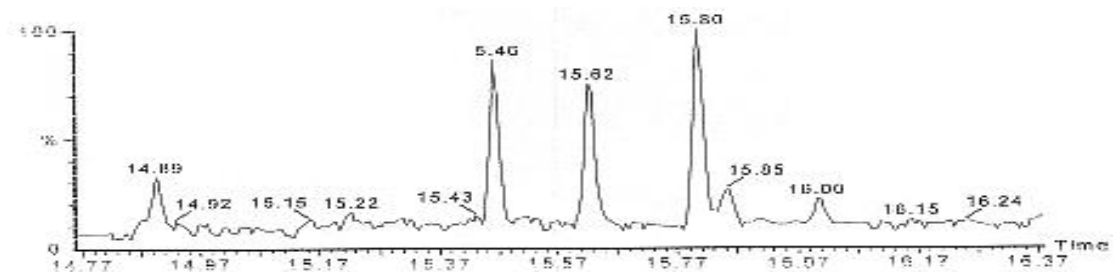


Fig.58: Identification du spectre de masse de l'acénaphthène extrait dans l'eau contaminée à $20\mu\text{g/L}$



t=15,61 min
Spectre de masses

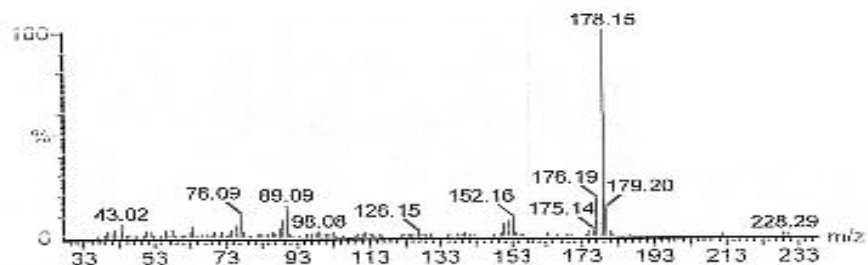
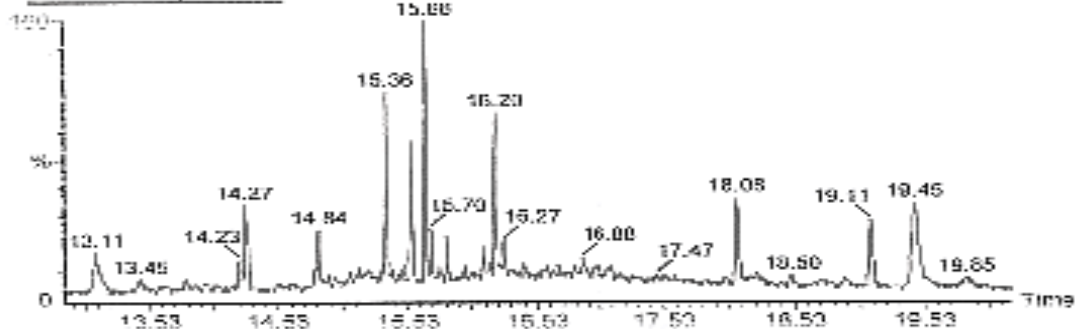


Fig.59: Identification du spectre de masse de l'anthracène extrait dans l'eau contaminée à 20µg/L

Chromatogramme



t=19,11 min
Spectre de masses

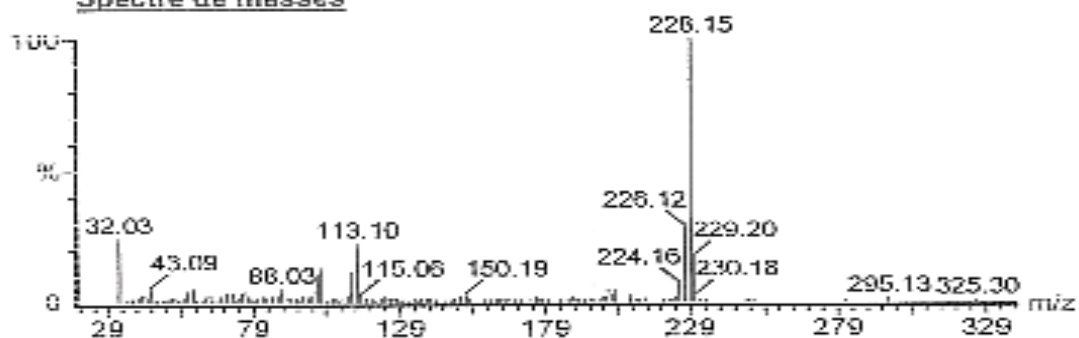


Fig.60: Identification du spectre de masse du chrysène extrait dans l'eau contaminée à 20 µg/L

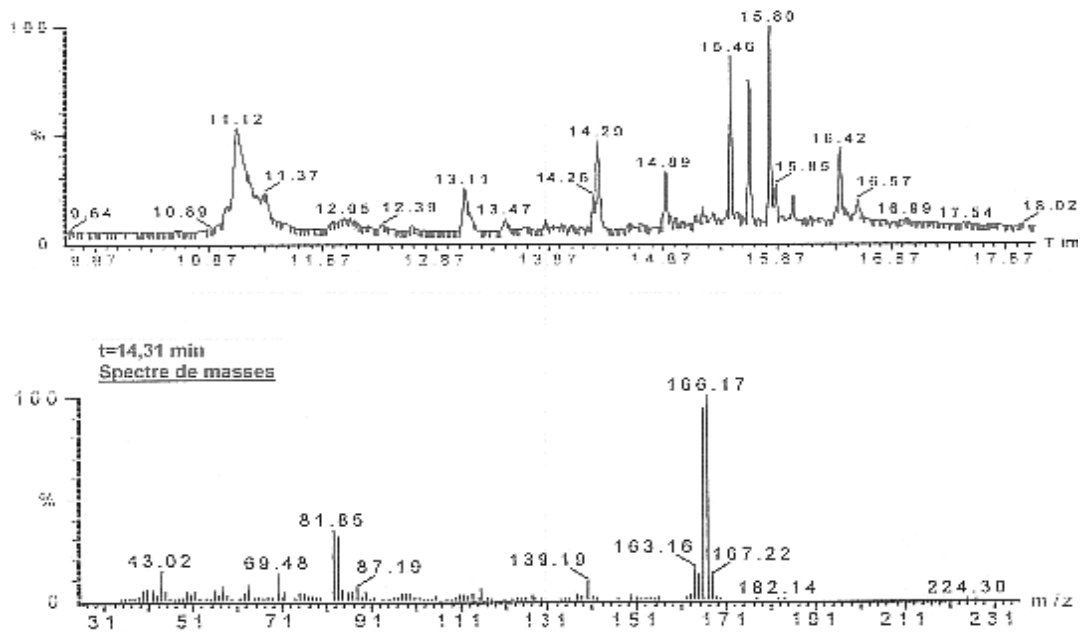


Fig 61: Identification du spectre de masse du fluorene extrait dans l'eau contaminée à 20 µg/L

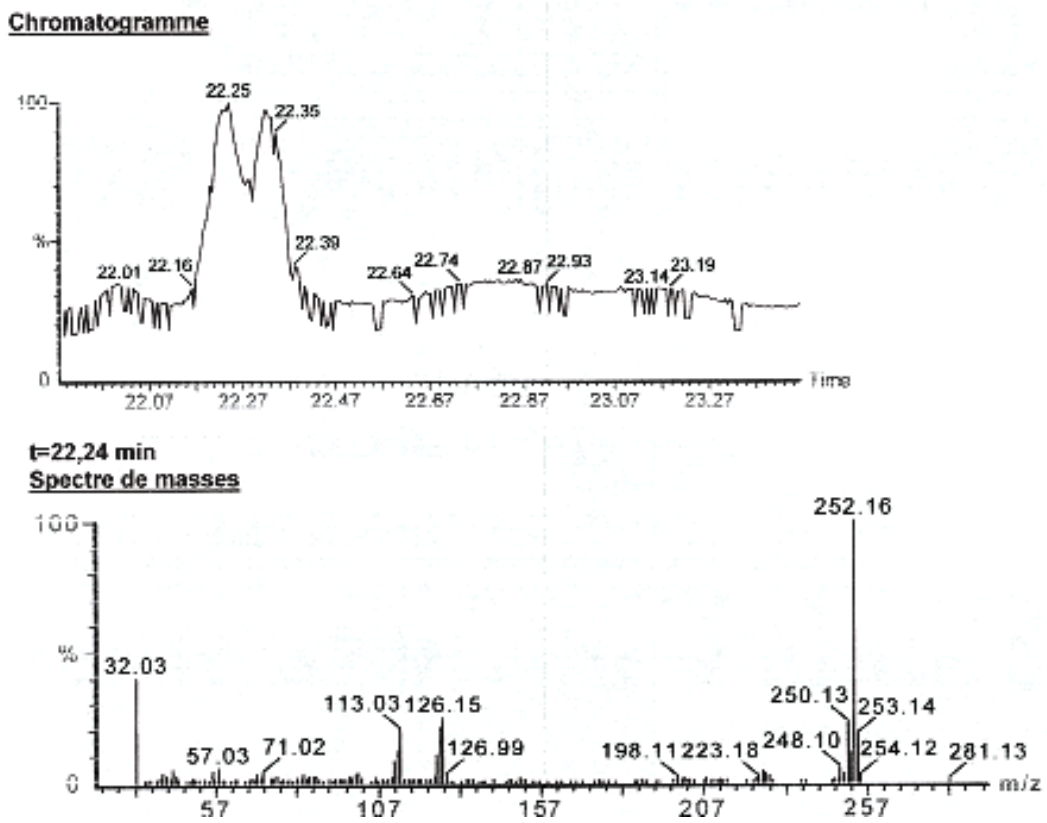


Fig.62: Identification du spectre de masse du B (b) FT extrait dans l'eau contaminée à 20 µg/L

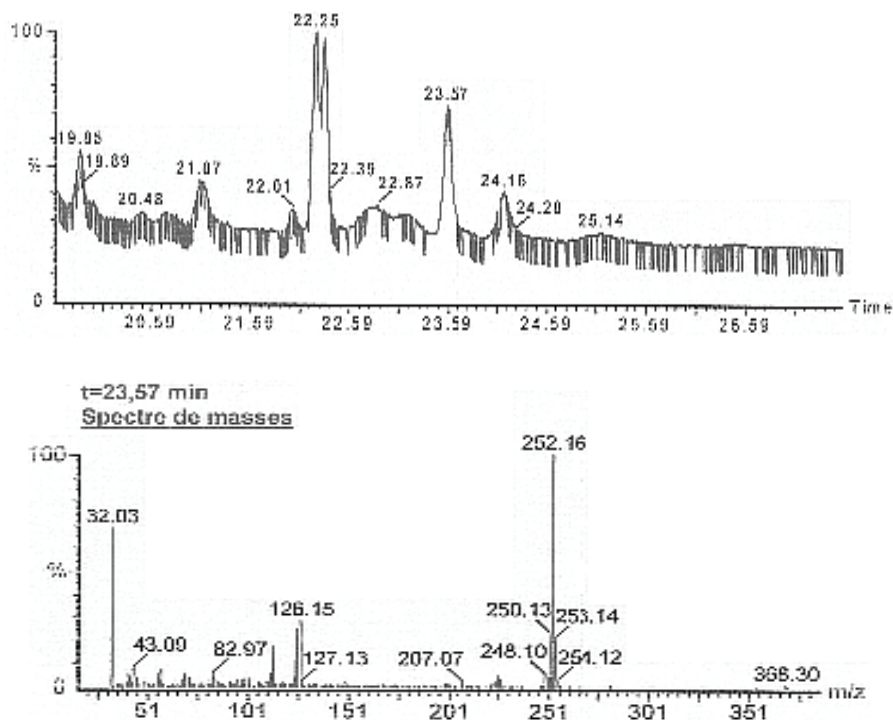


Fig.63: Identification du spectre de masse du b (a)pyrène extrait dans l'eau contaminée à 20 µg/L

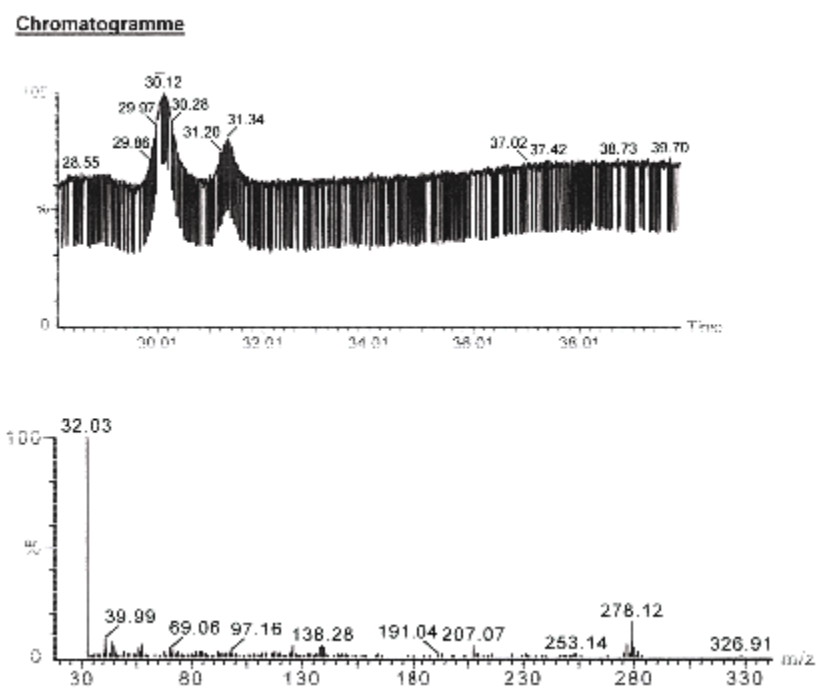


Fig. 64: identification du spectre de masse du di benzo (a, c) anthracène extrait dans l'eau contaminée à 20 µg/L

IV-3/ EXTRACTION SPE EN PRESENCE D'UN SOLVANT ORGANIQUE

Afin d'augmenter le taux d'extraction par SPE des HPA dissous dans l'eau, certains auteurs préconisent l'ajout à l'échantillon de solvants organiques à des proportions variant entre 10 et 40% (v/v).

Nous avons réalisé l'extraction SPE des trois solutions aqueuses précédentes en présence de 20% de 2-méthylpropanol ajouté à l'eau.

La même procédure d'extraction, décrite dans le chapitre précédent, a été suivie ; le 2-méthylpropanol est ajouté à l'eau juste avant son extraction.

Les chromatogrammes obtenus par cette méthode, représentés sur la figure 65, montrent une nette amélioration quantitative de l'extraction en présence d'un solvant organique résultats obtenus sont représentés sur la figure 65

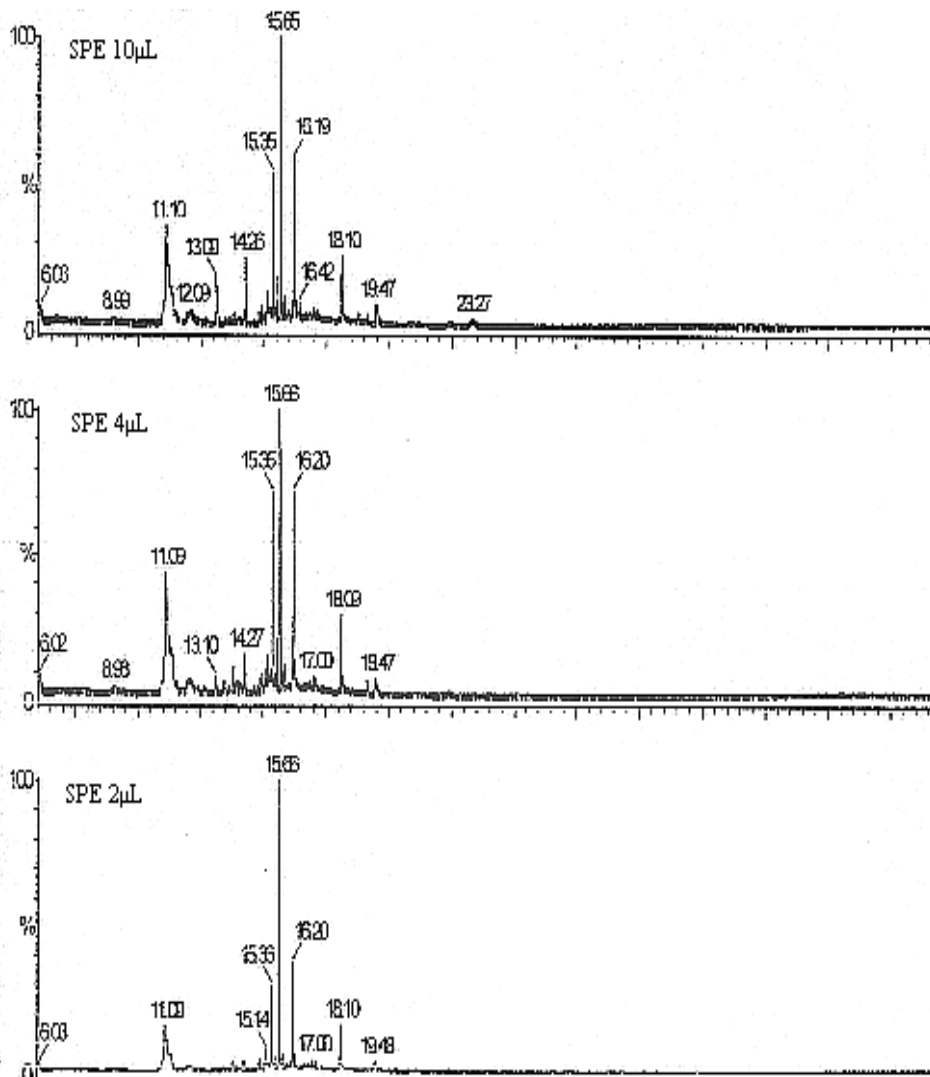


Fig.: 65 Chromatogrammes représentant les différentes extractions des HAP dans l'eau contaminé a différentes concentrations avec du 2-methylpropanol

IV-4/ Calculs de rendements

Dans le tableau 16, nous avons donné les taux d'extraction obtenus à partir des 2 méthodes (liquide-liquide et SPE).

Tableau représentant les différents rendements de l'extraction liq-liq et spe

Solutés	Rendement de l'extraction liq-liq %	Rendement de l'extraction spe %
Naphtalène	60	70
Acénaphthylène	58	72
FLuorène	65	80
Anthracène	60	85
Chrysène	70	90
Benzo (b) fluoranthène	60	70
Benzo (k) fluoranthène	60	72
Benzo (a)pyrène	58	65
Dibenz (a, c) anthracène	63	75
Coronene	55	65

Tableau n°16: représentant les différents rendements de l'extraction liq-liq et spe

Les calculs de rendement d'extraction ont été faits en comparant les rapports de surface de chaque HPA et celui de l'étalon interne de l'extrait, avec ceux obtenus sur un mélange non extrait.

Les meilleurs rendements sont obtenus avec l'extraction SPE.

CHAPITRE V
ANALYSE DES HPA DISSOUS DANS DES
ECHANTILLONS D'EAUX USEES

V- ANALYSE DES HAP DANS LES EAUX USEES

Dans cette dernière partie de notre travail, nous nous sommes intéressés à l'analyse d'eaux usées provenant de divers sites :

- une eau prélevée de deux raffineries l'une au centre et l'autre à l'ouest du pays.
- une eau usée provenant d'une station d'épuration d'eaux urbaines.
- une eau prélevée en amont et en aval du lac de Reghaia.

V-1/ Analyse G.C/M.S des différents prélèvements des eaux usées

La procédure de la méthode d'extraction est celle que nous avons utilisée dans le chapitre consacré à la mise au point de l'extraction SPE.

V-1-1/ Matériels:

- Cartouche C₁₈ de marque Varian
- Système d'extraction Vac-Elut de marque varian
- Solvants d'élution.

V-1-2/ Procédure de la technique

V-1-2-1/ Préparation des échantillons

Les eaux de prélèvements sont filtrées et extraits dès leur arrivée au laboratoire.

V-1-2-2/ Conditionnement de la cartouche

La cartouche est conditionnée par 10 mL d'eau distillée suivie de 10 mL de méthanol et d'un lavage à l'aide de 10 mL d'eau bidistillée.

V-1-2-3/ Adsorption

Placer la cartouche conditionnée dans l'appareil (varian-elut).

Faire passer 100ml d'échantillon d'eau à une vitesse constante de 10ml/mn.

Laisser sécher quelques minutes dans l'appareil (sous vide).

Enlever la cartouche et la faire sécher sous un courant d'azote pendant une dizaine de minutes.

Remettre la cartouche dans le Vac-Elut et éluer avec 5-6ml de dichlorométhane.

Concentrer l'échantillon à 40°C sous azote jusqu'à un volume de 1ml.

Avant l'injection dans le GC/MS, ajouter (10 µL) d'un étalon interne de concentration. (0,5mg/l).

Les séparations sont faites dans les conditions opératoires décrites dans le chapitre consacré à l'analyse par GC-MS.

V-1-2-4 Résultats:

Le chromatogramme 66, relatifs aux extraits d'eaux en amont et en aval du marais de Réghaïa ne met en évidence aucun pic relatif aux HPA. Le pic de l'étalon interne apparaît à 15,60 min avec une intensité appréciable.

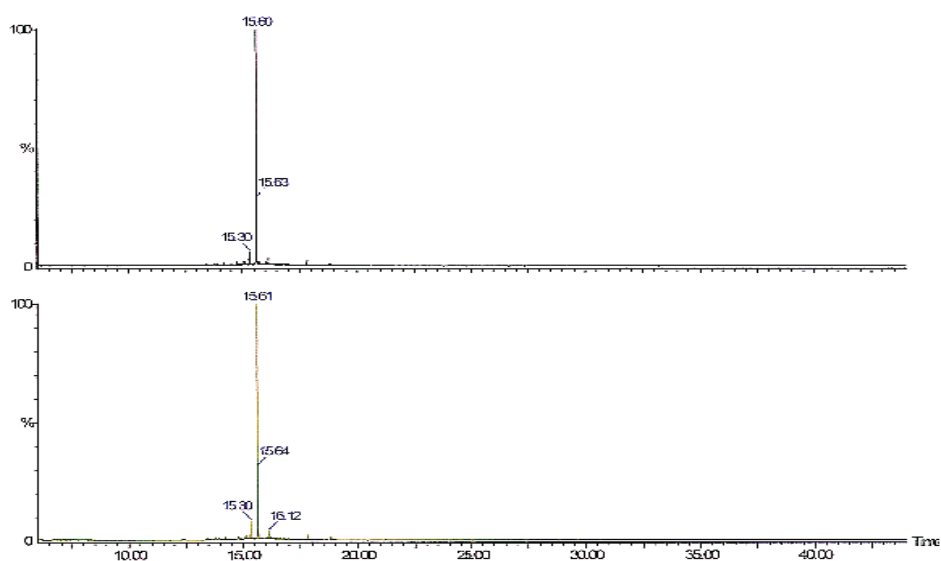


Fig66 spectre de masse représentant l'extraction des HAP dans les eaux prélevées au niveau du lac de Reghaïa en amont et en aval

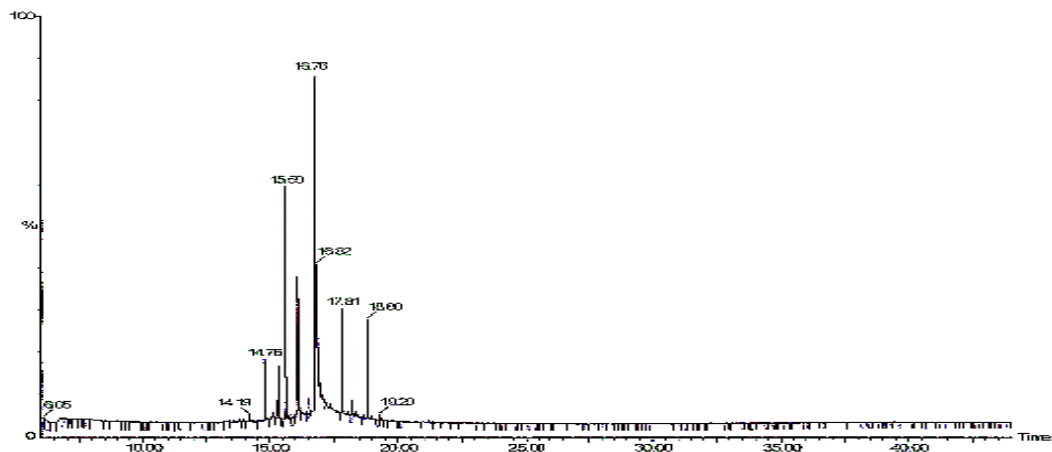


Fig.67 : spectre de masse représentant l'extraction des HAP dans les eaux de rejets urbaines de région des Dunes sur l'ouest d'Alger

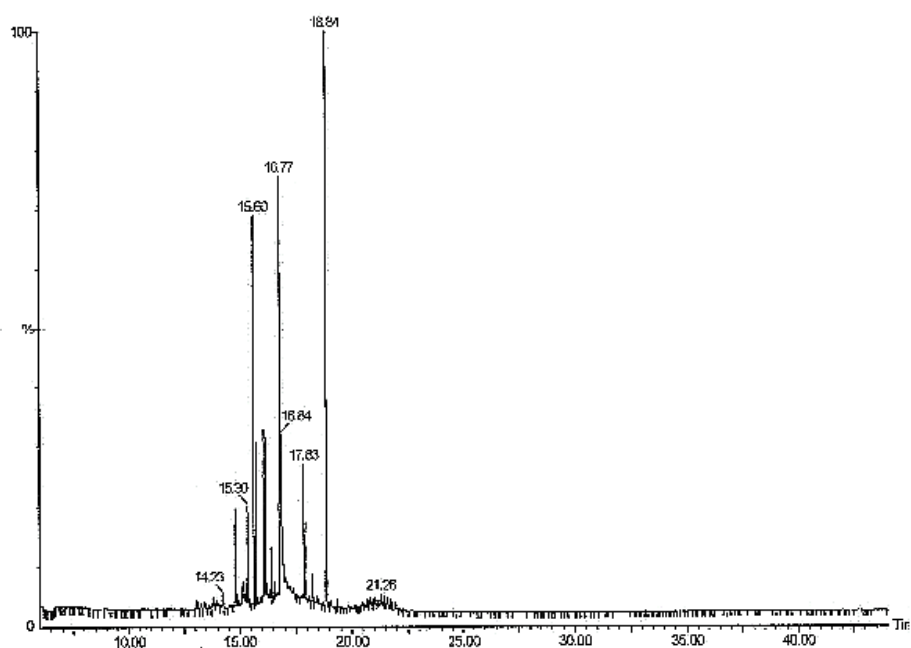


Fig.68 : Spectre de masse représentant l'extraction des HPA dans les eaux de rejets de la raffinerie de l'ouest d'Alger.

Pour la raffinerie du centre d'Alger les résultats obtenus montrent que les eaux de rejets de cette raffinerie contiennent des HPA identifiés par couplage GC/MS

Les HPA identifiés dans cet échantillon d'eau de rejet de la raffinerie sont : l'anthracène et le fluorène représentés sur les chromatogrammes et les spectres de masse représentés sur les figures 71,72et73)

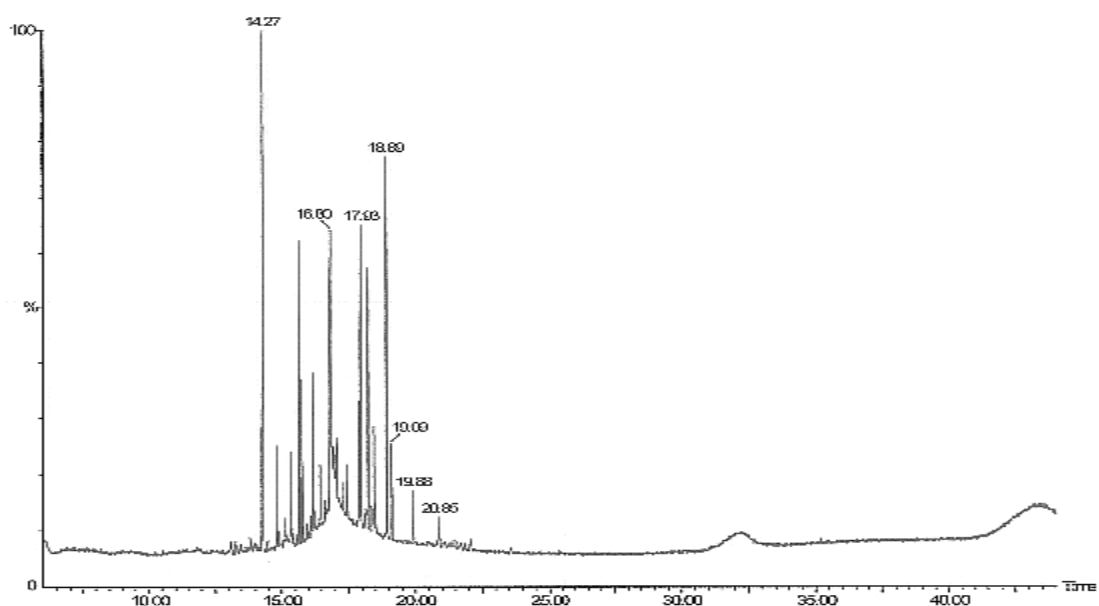


Fig. 69: Chromatogramme obtenu sur l'extrait des eaux de rejets de la raffinerie du centre d'Alger.

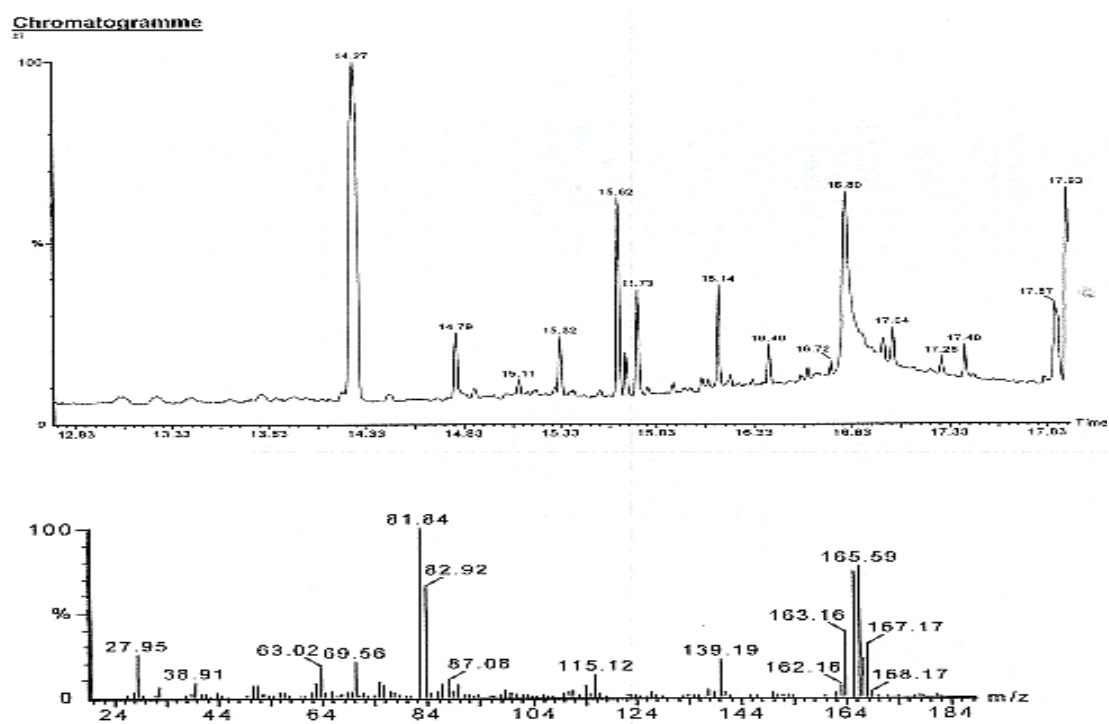
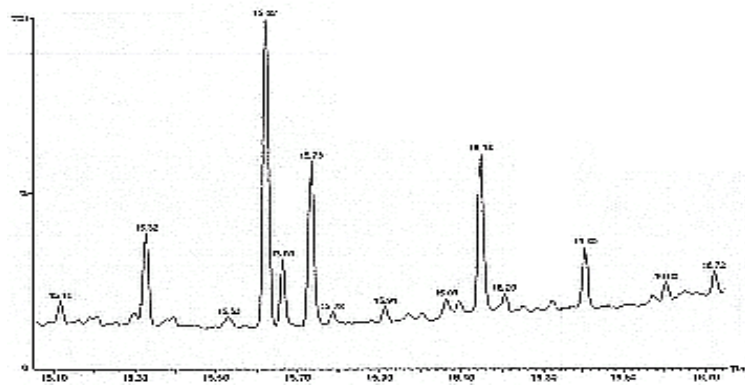


Fig. 70: Chromatogramme et spectre de masse obtenus sur l'extrait des eaux de rejets de la raffinerie du centre d'Alger. Spectre de masse représentant la présence du fluorène dans l'extrait.



t=15,52 min
Spectre de masses

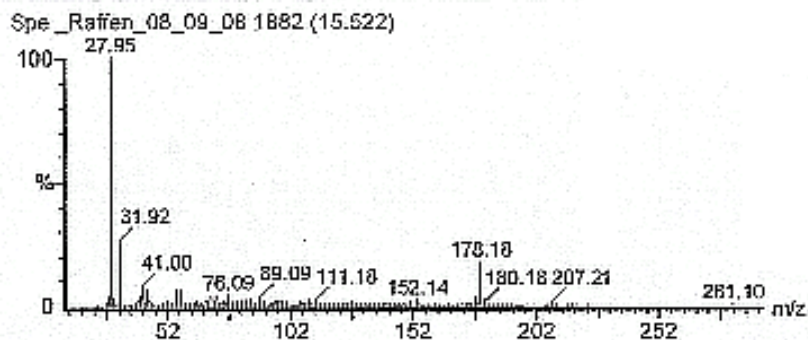


Fig. 71: Spectre de masse mettant en évidence la présence de l'antracène dans l'extrait des eaux de rejets de la raffinerie du centre d'Alger.

Interprétation

Dans certaines raffineries, après traitement des eaux de rejets l'existence des hydrocarbures polycycliques aromatiques persiste, par contre dans les eaux de rejets urbaines il y a absence de ces derniers Grâce a la GC/MS on a pu identifier des HAP à l'état de traces dans les différentes matrices

CONCLUSION GENERALE

La caractérisation des hydrocarbures polycycliques aromatiques dans l'eau, dans le sol et l'air joue un rôle important et primordial dans l'analyse environnementale.

Les méthodes chromatographiques sont celles qui sont les plus utilisées, elles permettent d'identifier et de quantifier avec précision les HPA dissous l'eau.

Dans ce travail, nous avons utilisé la CLHP et la GC-MS pour analyser les HPA dans un premier mélange dans un solvant et ensuite dissous dans l'eau.

Nous avons tracé les droites d'étalonnage pour la quantification des HPA dissous dans l'eau.

Nous nous sommes beaucoup plus intéressés au couplage GC-MS qui présente une meilleure sensibilité pour les HPA que le détecteur UV-Visible en HPLC.

Les HPA sont largement mieux détecté par fluorimétrie en HPLC, mais ne disposant pas de cet appareillage, nous avons utilisé la GC-MS pour l'analyse d'échantillons d'eau de diverses provenances.

Nous avons comparé deux méthodes d'extraction : l'extraction liquide-liquide et l'extraction en phase solide sur cartouche C18. Cette dernière, rapide et facile à mettre en œuvre a donné de meilleurs résultats quantitatifs. Nous l'avons utilisé pour l'analyse d'échantillons d'eaux.

Nous avons mis en évidence la présence de HPA dans des échantillons d'eau provenant de la raffinerie d'Alger.

Ce travail nous a permis de mettre en œuvre la méthodologie, généralement utilisée en chromatographie, pour la détermination de micropolluants organiques dissous dans une matrice aqueuse.

ANNEXE I
TECHNIQUES ANALYTIQUES
1/ CLHP
2/ GCMS

I/ DESCRIPTIONS ET PRINCIPES DE FONCTIONNEMENT DES APPAREILS UTILISES

I-1/ CLHP

I-1-1/ PRINCIPE : La CPL est une méthode physico-chimique d'analyse qualitative et quantitative dont le principe est basé sur les différences d'affinités entre les différents composés du mélange transportés le long de la colonne grâce à une phase mobile composée de solvants donnés et une phase stationnaire donnée en relation avec le mélange à analyser.

I-1-2/ DETECTEURS EN CLHP:

D'une façon générale, il existe deux types de détection basés:

- Sur les propriétés générales (solvant + soluté); ex: indice de réfraction, conductivité, constante diélectrique,...
- Sur les propriétés des solutés; ex: UV, polarographie, radioactivité,...

Dans notre travail, nous avons utilisé le détecteur à barrette de diodes DAD (Analyse des HAP)

I-1-3/ THEORIE SUR LE DETECTEUR DAD :

DETECTEUR UV-VISIBLE :

PRINCIPE DE FONCTIONNEMENT :

Basé sur l'absorption moléculaire dans le domaine Ultra Violet ou Visible des composants chromophores élués.

L'intérêt de l'analyse à plusieurs longueurs d'onde simultanément (Barrette de diodes) est de permettre de sélectionner celles présentant des maximums d'absorption de certains solutés ciblés et augmenter donc la sélectivité en accroissant le pic d'intérêt par rapport aux pics interférents.

L'appareillage HPLC utilisé lors de notre étude est un AGILENT modèle 1100 équipé d'un module de pompe quaternaire pouvant fonctionner en mode isocratique ou en gradient, de deux détecteurs, l'un à indice de réfraction et l'autre à barrettes de diodes. L'injection s'effectue à l'aide d'un injecteur automatique et d'une boucle d'une capacité d'injection de 200 µl.

Les solvants utilisés sont tous de qualité CLHP et filtres sur membrane filtrante de 0.22 µm.

I-2/ La G.C/M.S :

I-2-1/ LE CHROMATOGRAPHE EN PHASE GAZEUSE

Le rôle du chromatographe est de séparer les constituants d'un mélange. La chromatographie en phase gazeuse est réservée à l'analyse de composés relativement volatils et thermiquement stables. Le chromatographe en phase gazeuse est constitué de trois modules : un injecteur, une colonne capillaire dans un four et un détecteur. Le spectromètre de masse est actuellement le seul détecteur à fournir des informations structurales sur les composés séparés par chromatographie.

REMARQUE : Il convient de préciser que, dans le contexte particulier du couplage G.C/M.S, nombreux sont les utilisateurs qui privilégient le temps d'analyse au détriment de la séparation chromatographique car les co-élutions partielles de pics ne posent pas de problème, chaque pic chromatographique étant "intégré" à partir du courant d'un ion caractéristique de l'analyte

I-2-2/LE SPECTROMETRE DE MASSE :

Le spectromètre de masse permet l'identification et la quantification des analytes. Il existe de nombreux types de spectromètres de masse; tous ont en commun trois éléments : **une source, un analyseur et un détecteur**. Les spectromètres de masse équipés d'analyseurs dits "**quadripolaires**" représentent la très grande majorité des analyseurs utilisés en couplage GC-MS pour trois raisons principales : leur "vitesse de balayage" très élevée, leur coût raisonnable, leur facilité de maintenance. Ces spectromètres sont équipés de systèmes de pompage assurant un vide de l'ordre de 10^{-4} à 10^{-5} mbar. La qualité du vide est un facteur déterminant pour l'analyse. Il s'agit d'évacuer les molécules résiduelles telles que l'azote, l'oxygène et l'eau atmosphériques ainsi que les molécules éluées du chromatographe qui, pour la plupart, n'auront pas été ionisées (les rendements d'ionisation sont très faibles) et qui pourraient polluer le spectromètre de masse. Il s'agit également de garantir le bon fonctionnement du filament et du multiplicateur d'électrons qui sont extrêmement fragilisés par une pression trop élevée.

La sensibilité du Clarus 500 GC/MS est d'environ 1 picogramme/microlitre, mais le mode SIM permet d'atteindre le femptogramme. Le full scan permet la recherche dans les bibliothèques spectrales.

I-3/ DIFFERENTS MODES D'IONISATION :

a/ IONISATION PAR IMPACT ELECTRONIQUE (ELECTRON IONIZATION) :

La production d'ions à de très faibles pressions à l'aide de courants électriques est au cœur de la spectrométrie de masse. Le bombardement direct de molécules analytes par des électrons est l'objet de l'impact électronique (EI), utilisant une énergie de 70 eV (*). Cette valeur a été universellement choisie car elle dépasse largement celle requise afin d'ioniser et de fragmenter les molécules.

Par ailleurs, toutes les molécules pouvant être fragmentées par impact électronique, la spectrométrie de masse est donc une des rares méthodes universelles de détection et d'identification de composés et est largement utilisée dans le domaine analytique.

(*). Les instruments actuels permettent à l'opérateur souhaitant explorer la fragmentation, de sélectionner l'énergie d'ionisation.

b/ IONISATION CHIMIQUE (C.I)

La C.I est plus sélective que l'E.I car toutes les molécules éluées ne sont pas ionisées, ce qui peut constituer un avantage avec des échantillons particulièrement complexes.

PRINCIPE DE L'IONISATION CHIMIQUE POSITIVE:

Un gaz réactant est ajouté à la source à une pression d'environ 0.1 - 2 Torr (Environ 1000 fois plus élevée qu'en EI).

En ionisation chimique positive P.C.I, Les électrons du filament ionisent le gaz réactant en produisant les ions RH^+ , ces ions RH^+ réagissent avec les molécules analytes M afin de les ioniser en MH^+ . Etant donné que les pressions de gaz réactant sont relativement élevées, il y'a production d'une variété d'ions réactants, suivant des mécanismes possibles variés.

Les ions MH^+ obtenus en CI ont beaucoup moins d'énergie interne que les ions M^+ produits par EI et se fragmentent donc beaucoup moins que ces derniers. Le spectre d'IC informe presque toujours sur le poids moléculaire de l'analyte alors que celui d'EI fournit plus d'informations structurales mais pas de certitude sur le poids moléculaire.

IONISATION CHIMIQUE NEGATIVE N.C.I:

Un peu plus complexe à mettre en oeuvre, l'ionisation chimique négative ne sera pas abordée ici; elle est réservée à l'analyse de composés particulièrement électrophiles tels que certains halogénures et aromatiques.

ANNEXE II

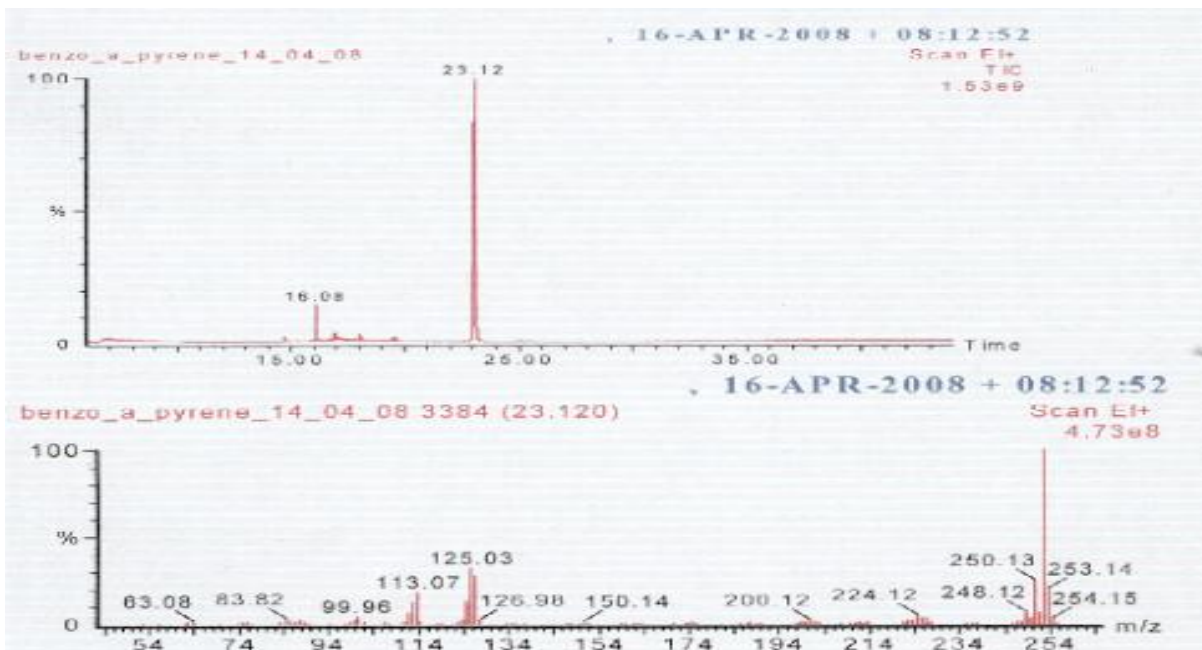


Fig.23: spectre de masse du naphthalène

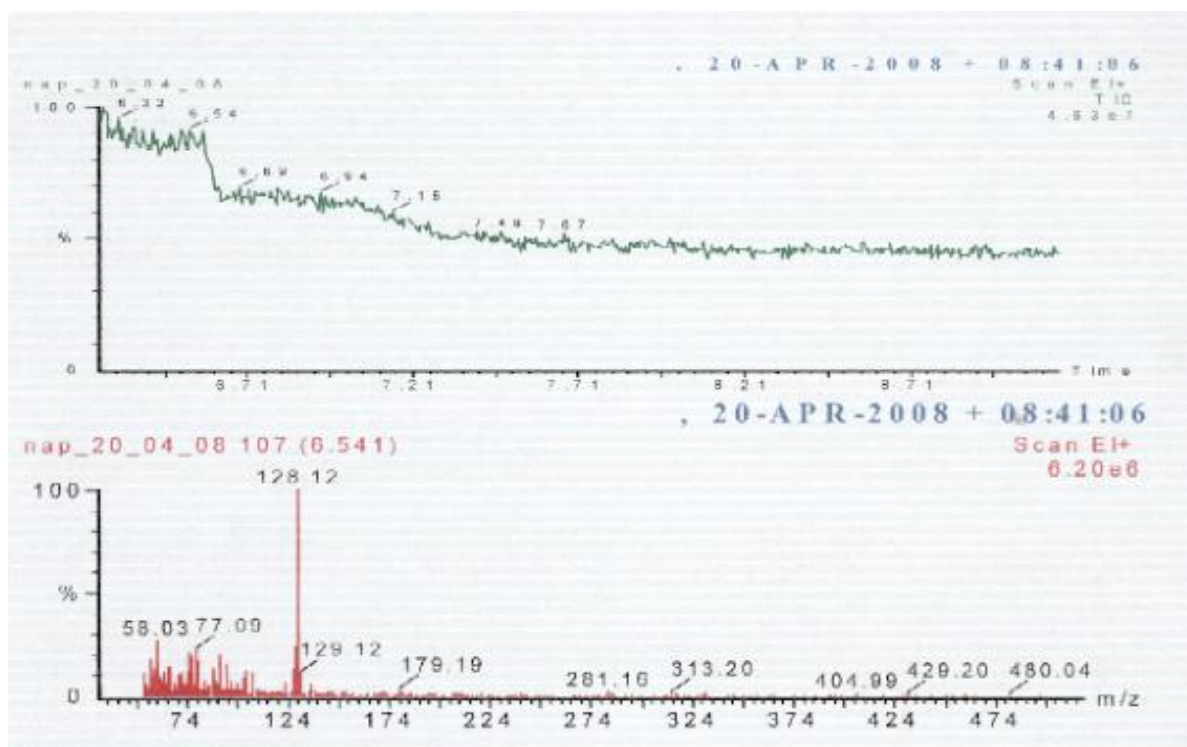


Fig.24: spectre de masse du benzo (a) pyrène

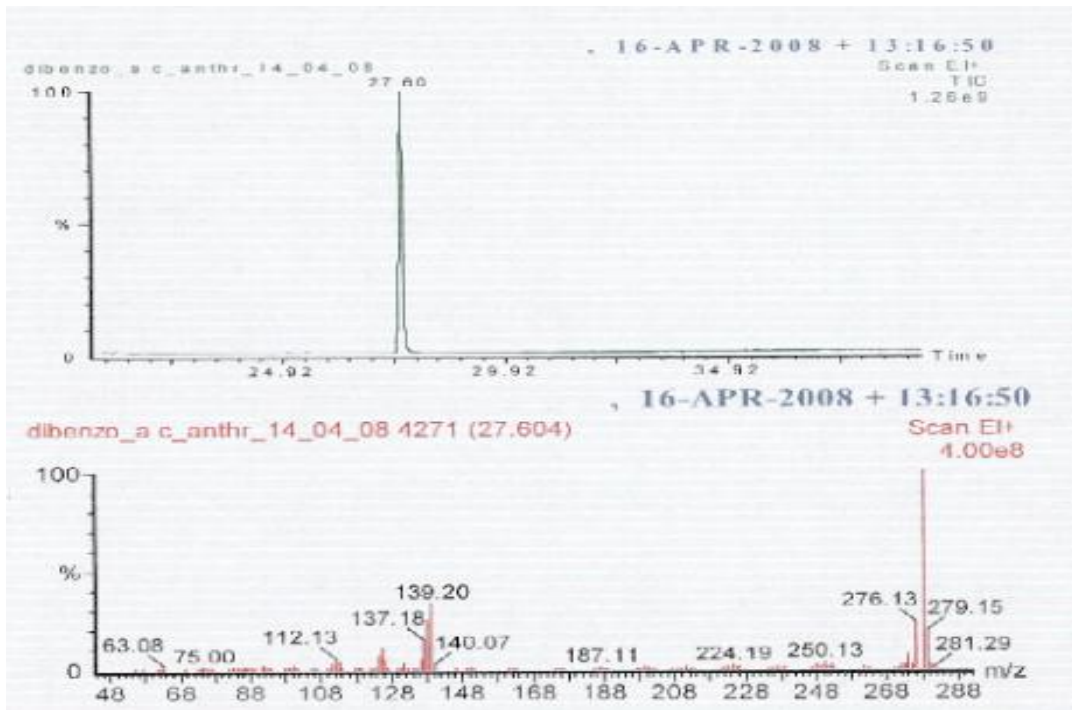


Fig.25: spectre de masse du dibenzo (a, c) anthracène

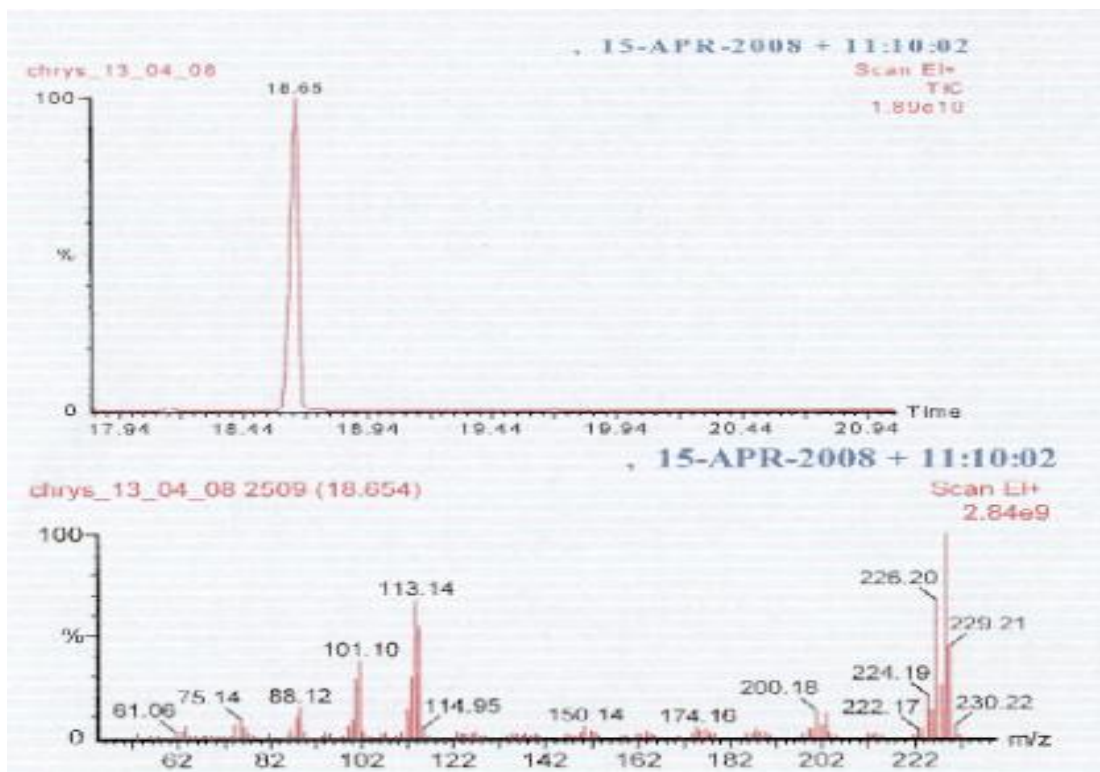


Fig. 26: spectre de masse du chrysene

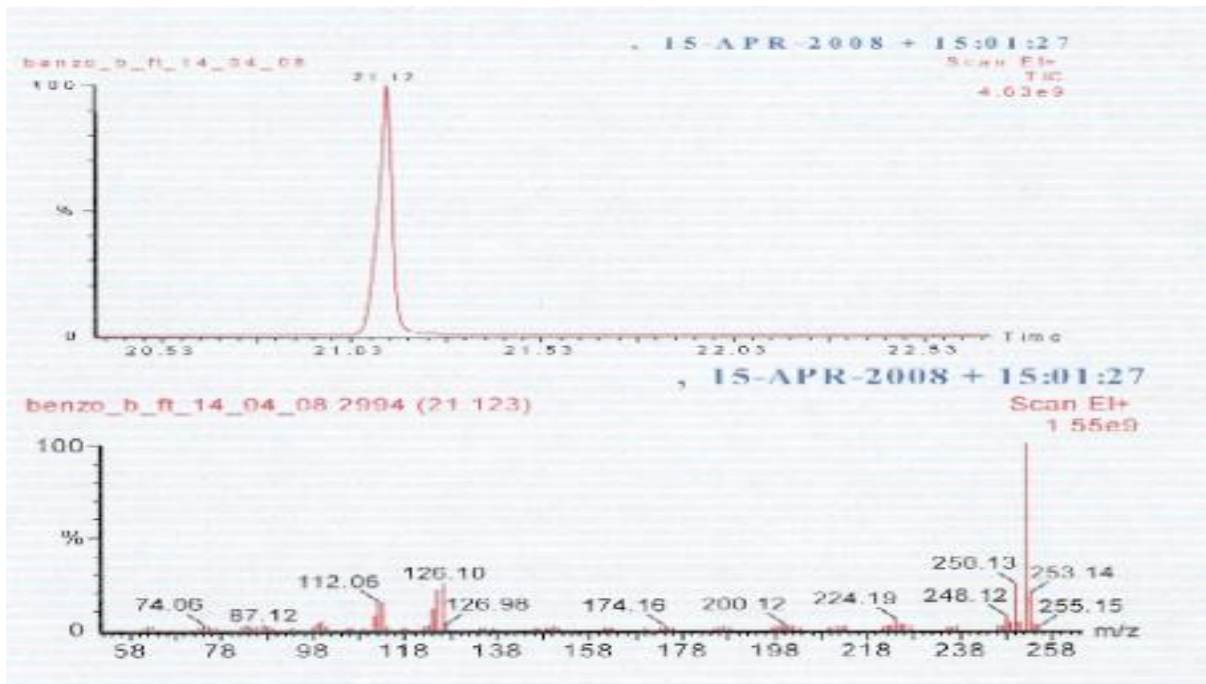


Fig.27: spectre de masse du benzo (b) fluorantene

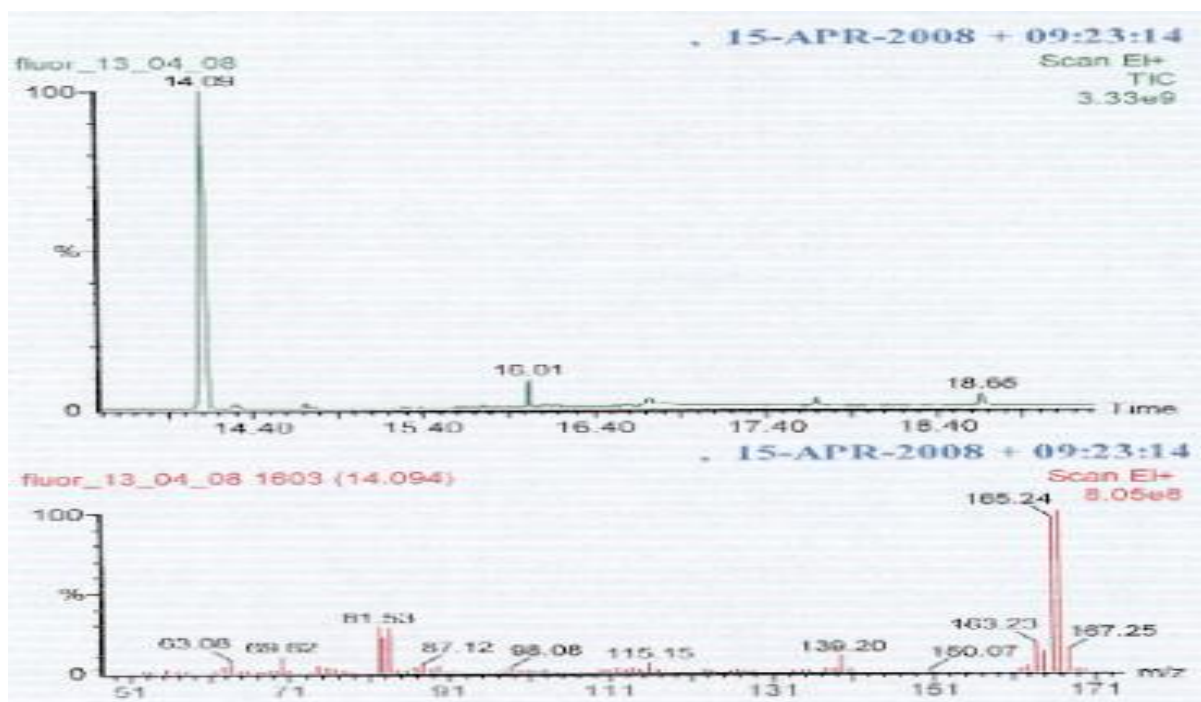


Fig.28: spectre de masse du fluoréne

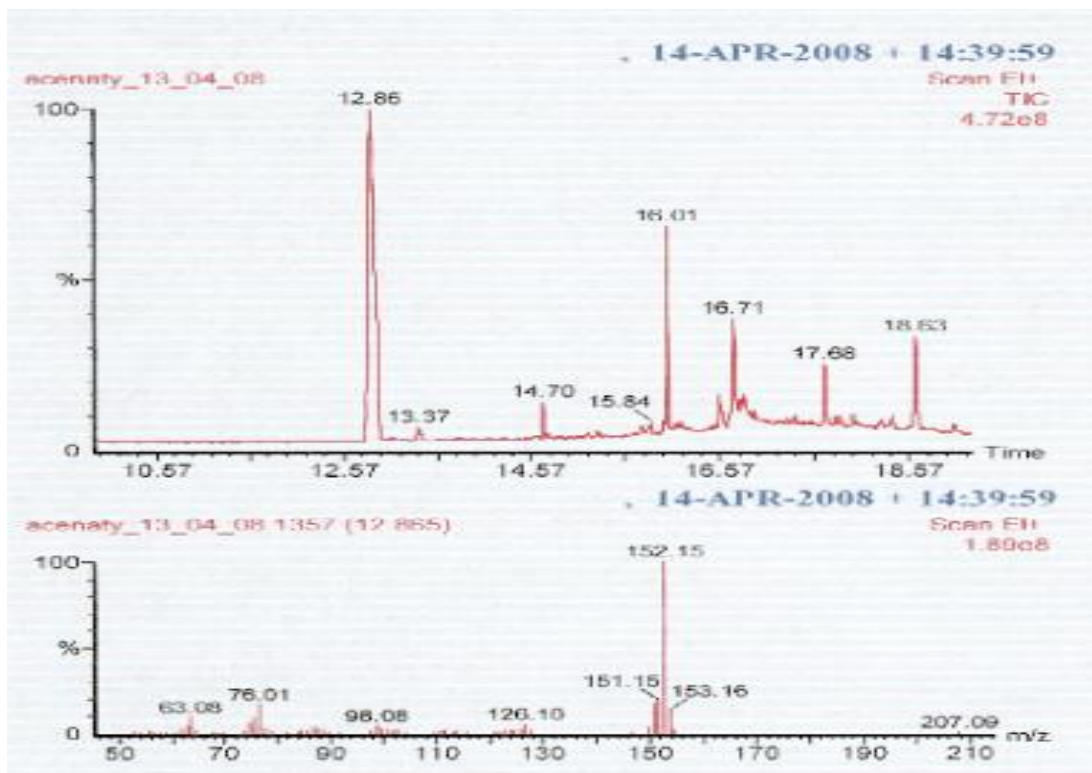


Fig.29: spectre de masse de l'acenaphthène

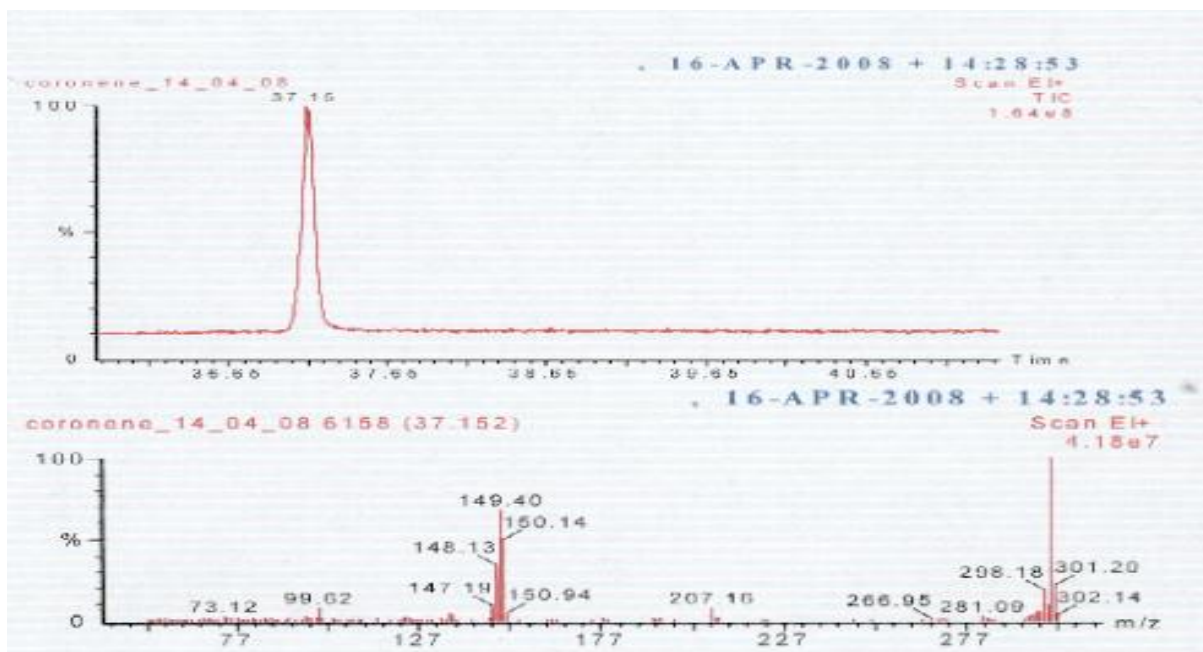


Fig.30 spectre de masse du coronene

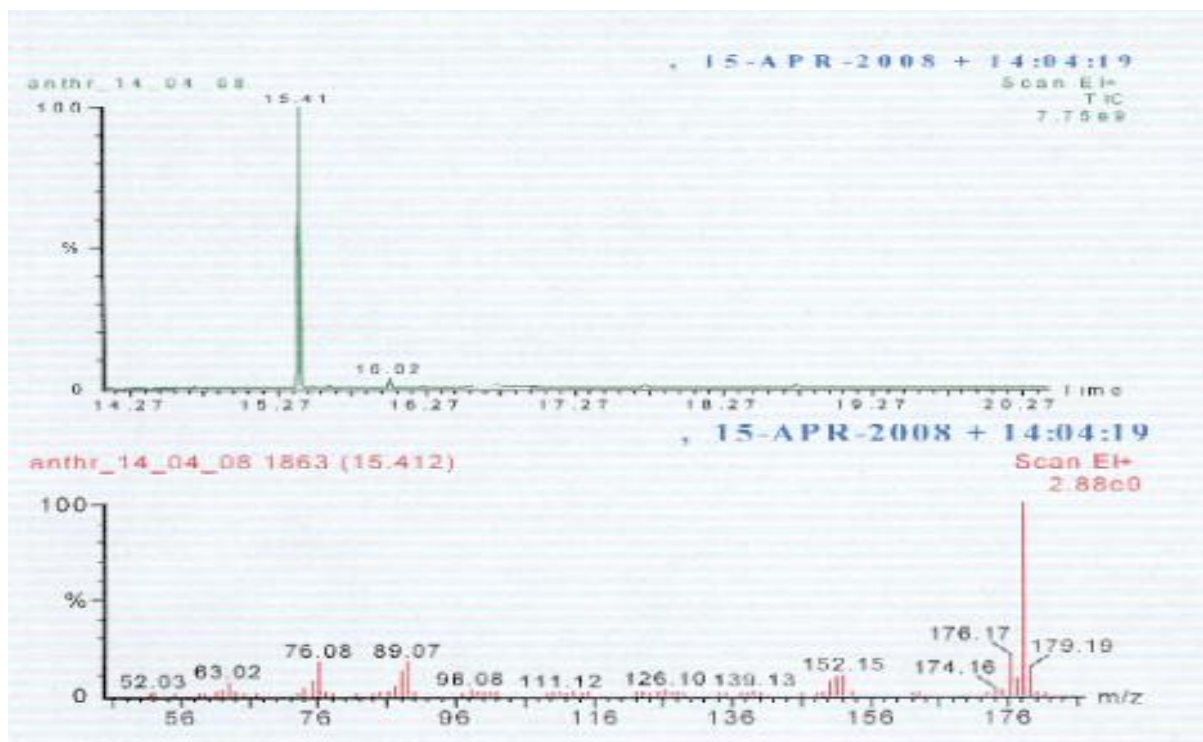


Fig.31: spectre de masse de l'anthracène

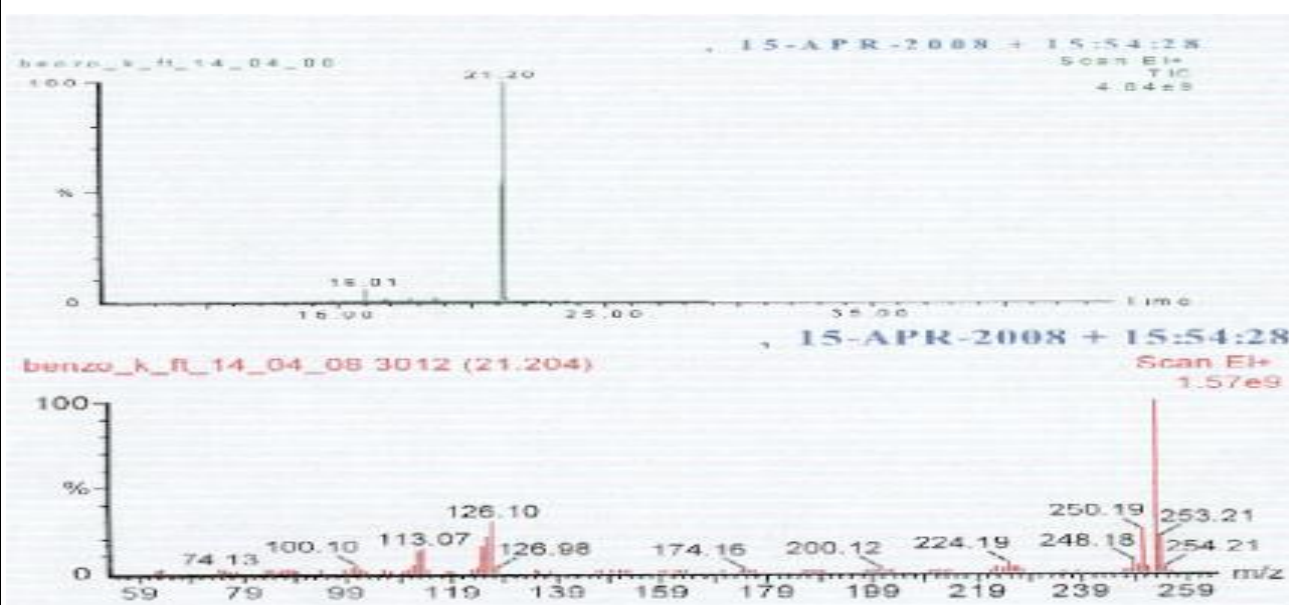


Fig.32: spectre de masse du benzo (k) fluorantene

BIBLIOGRAPHIE

- [1]. Belkin S., Stieber M., Tiehm A., Frimmel F.H., Abeliovich A., Ulitzur S. et Werner P., 1994. Toxicity and genotoxicity enhancement during polycyclic aromatic hydrocarbons biodegradation. *Environ. Tox. Water Quality*, 9, 303-309.
- [2]. Keith L. H. Et Telliard W. A., 1979. Priority pollutants. I. A perspective view., *Environ. Sci. Technol.*, 13, 416-423
- [3]. McElroy A., Farrington J. et Teal J., 1989. Dans : *Metabolism of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Aquatic Environment*, Ed. U. Varanasi, CRC Press, Inc, Boca Raton, Floride, USA, 1-39.
- [4]. CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC. Détermination des hydrocarbures aromatiques polycycliques; Dosage par Chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse. MA. 400 – HAP 1.1, Ministère de l'Environnement du Québec, 2003, 44 p
- [5]. Jauzein M., feix I., Wiart J. les micro-polluants organiques des boues résiduaires urbaines. Rapport ADEME n°1800, 1995.
- (6) Mahaffey W.R., Gibson D.T., Cernighia C.E. Bacterial oxidation of chemical carcinogens: formation of polycyclic aromatic acids from benz(a)anthracene. *Appli. Environ. Microbiol.* (1988) vol 54, N° 10, pp 2415-2423.
- (7) Lawreys R.R. Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles (1990). 3ème édition. Edition Masson (Paris).
- (8) Mackay D., Shin W-Y., Ma K-C. Illustrated Handbook of physical-chemical properties and environmental fate of organic chemicals (1991). Vol.2, Lewis Publishers.
- (9) Jacques A.S. Détection des hydrocarbures aromatiques polycycliques dans les eaux potables : Synthèse bibliographique et validation d'un test immunoenzymatique. Rapport de these Université Paris 11, 1999.
- (10) COM (2006) 397 final, Brussels, 17.7.2006. Proposal for Directive on environmental quality standards in the field of water policy and amending Directive 2000/60/EC.
- (11) Richard A. Dobbs, Jesse M. Cohen, Carbon adsorption isotherms for toxic organics, USEPA, 1980.
- [12]. Fazio, T.; Howard, W., In *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons*; Bjorseth, A., Ed.; Marcel Dekker, New York, 1983; pp 464-468.
- [13]. D. Bal, J. Li, S.B. Chen, B.H. Chen, *Environ. Sci. Technol.* 35 (2001) 3936.
- [14]. O.P. Heemken, N. Theobald, B.W. Wenclawiak, *Anal. Chem.* 69 (1997) 2171.
- [15]. P.C de Groot, C. Bowen, B.G Koenders, D.A. Stoker, O. larsen, J. johansen, A comparison of emissions from hot mixture and warm asphalt mixture production, proceedings IRF congress, Paris June 2001, paper O022
- [16]. American conference of governmental Industrial hygienists 2001 TLVs and Bels booklet
- [17]. Chu M.M. and Chen C.W. (1984) Evaluation and estimation of potential carcinogenic risks of Polynuclear Aromatic Hydrocarbons. In: *Symposium on Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the workplace, Honolulu, HI, P. R. R. conference.*

- [18].Clement (1988) - Comparative potency approach for estimating the cancer risk associated with exposure to mixtures of polycyclic aromatic hydrocarbons Clement Associated. Fairfax,VA, April 1988 125. Interim report. N°68-02-4403, 125pp
- [19].OMS Ipcs 1988-Environmental health criteria n°202: polycyclic aromatic hydrocarbons world health organisation, International programme on chemical safety.
- [20].Rapport final(18 decembre 2003) INERIS Blandine doornert- Annick Pichard .
- [21].D.J.Futoma,s.Smithj.Tanaka, polycyclic Aromatic Hydrocarbons in water systems,CRCpress,Boca Raton,FL,1983.
- [22].M.J.L.A Villaizain,S.G.Falcon,M.A.L.Yusty,js.Lozano,j.AOAC Int 78 (1995) 402
- [23].Method 550.0,US Environmental Protection Agency, Washington,DC,1990.
- [24] F. Hernández, J.V. Sancho, O.J.Pozo, Anal. Bioanal. Chem. 382 (2005) 934.
- [25] H. Sabik, R. Jeannot, B. Rondeau, J. Chromatogr. A 885 (2000) 217.
- [26] A.B. Deger, T.J. Gremm, F.H. Frimmel, Acta Hydrochim. Hydrobiol. 28 (2000) 292.
- [27] E. Martínez, M. Gros, S. Lacorte, D. Barceló, J. Chromatogr. A 104 (2004) 181.
- [28] A. Garrido Frenich, M.J. González-Rodríguez, F.J. Arrebola, J.L. Martínez Vidal, Anal. Chem. 77 (2005) 4640.
- [29] D.W. Lachenmeier, U. Nerlich, T. Kuballa, J. Chromatogr. A 1108 (2006) 116.
- [30] D.W. Lachenmeier, W. Frank, T. Kuballa, Rapid Commun. Mass Spectrom. 19 (2005) 108.
- [31] J.L. Martínez Vidal, F.J. Arrebola Liébanas, M.J. González Rodríguez, A. Garrido Frenich, J.L. Fernández Moreno, Rapid Commun. Mass Spectrom. 20 (2006) 365.
- [32] C.G. Hamlet, S.M. Jayaratne, C. Morrison, Rapid Commun. Mass Spectrom. 19 (2005) 2235.
- [33] A. Garrido Frenich, J.L. Martínez Vidal, A.D. Cruz Sicilia, M.J. González

Rodríguez, P. Plaza Bolaños, Anal. Chim. Acta 558 (2006) 42.

[34] D. Douce, P. Hancock, S. Dudd, A. Newton, H.G.J. Mol, S. Rontree, Innovat. Food Technol. 26 (2005) 69.

[35] K. Patel, R.J. Russell, M. Hetmanski, D.M. Goodall, B.J. Keely, J. Chromatogr. A 1068 (2005) 289.

[36] T.D. Bucheli, R.C. Brändli, J. Chromatogr. A 1110 (2006) 156.

[37] European Commission Decision 202/657/EC, Off. J. Eur. Commun., August 21, 2002.

[38]. US EPA (1990) - Drinking water criteria document for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). Final draft. Prepared by the Office of Health and Environmental Assessment Criteria And Assessment Office, Cincinnati, OH for the Office of Drinking Water, Washington, DC. Cincinnati, OH. ECAO-CIN-D010.

[39]. Rahman A., Barrowman J.A. and Rahimtula A. (1986) - The influence of bile on the bioavailability of polynuclear aromatic hydrocarbons from the rat intestine. Can J Physiol Pharmacol, 64, 9, 1214-1218.

[40]. US EPA (1996) - Soil Screening Guidance: technical background document. U.S. Environmental Protection Agency. Washington.

[41]. CE (1999). Directive 99/30/CE du Conseil du 22 avril 1999. Bruxelles, Belgique, Communauté européenne.

[42]. US EPA (1996) - Soil Screening Guidance: technical background document. U.S. Environmental Protection Agency. Washington.

[43]. Doornaert B. and Pichard A. (2003) - HAPs - Evaluation de la relation dose-réponse pour des effets cancérigènes : approche substance par substance (facteurs d'équivalence toxique - FET) et approche par mélanges. Evaluation de la relation dose-réponse pour des effets non cancérigènes : Valeurs Toxicologiques de Référence (VTR). Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques. Verneuil en Halatte. 64 pp

[44]. Hempfling, R., Doetsch P., Stubenrauch S., Mahr A., Bauer D., Koschmieder H.J. and Grünhoff D. (1997) - USM-System zur Atlantenbeurteilung - Instrumente für die Pfadübergreifende Abschätzung und Beurteilung von Altlastverdächtigen Flächen. Institut Fresenius, Erlangen & Focon-Ingenieurgesellschaft, Aachen

[45]. US EPA (1996) - Soil Screening Guidance: technical background document. Office of Emergency and Remedial Response. Washington. 9355.4-17A.

[46]. Ressler B.P., Kneifel H. and Winter J. (1999) - Bioavailability of polycyclic aromatic hydrocarbons and formation of humic acid-like residues during bacterial PAH degradation. Appl Microbiol Biotechnol, 53, 1, 85-91.

[47]. Doornaert B. ET Pichard A. (2003) - HAPs - Evaluation de la relation dose-réponse pour des effets cancérigènes: approche substance par substance (facteurs d'équivalence toxique - FET) et approche par mélanges. Evaluation de la relation dose-réponse pour des effets non cancérigènes : Valeurs Toxicologiques de Référence (VTR). Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques. Verneuil en Halatte. 64pp.

- [48]. Beltrán, J.L.; Ferrer, R.; Guiteras, J. J. *Liq. Chrom. & Rel. Technol.* 1996, 19(3), 477.
- [49]. Hofstraat, J.W.; van Zeijl, W.J.M.; Ariese, F.; Mastenbroek, J.W.G., Gooijer, C.; Velthorst, N.H. *Mar. Chem.* 1991, 33, 301.
- [50]. Ariese, F.; Gooijer, C.; Velthorst, N.H.; Hofstraat, J.W. *Anal. Chim. Acta.* 1990, 232, 245.
- [51]. 26. Mastenbroek, J.W.G.; Ariese, F.; Gooijer, C.; Velthorst, N.H.; Hofstraat, J.W.; van Zeijl, W.J.M. *Chemosphere* 1990, 21(3), 377.
- [52]. Kozin, I.; Gooijer, C.; Velthorst, N.H.; Hellou, J.; Zitko, V. *Chemosphere.* 1996, 33(8), 1435.
- [53]. Hofstraat, J.W.; Jansen, H.J.M.; Hoornweg, G. PH.; Gooijer, C.; Velthorst, N.H.; Cofino, W.P. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* 1985, 21, 299.
- [54] F. Hernández, J.V. Sancho, O.J. Pozo, *Anal. Bioanal. Chem.* 382 (2005) 934.
- [55]. Wild, S.R., Mitchell, D.J., Yelland, C.M., Jones, K.C., 1992. Arrested municipal solid waste incinerator fly ash as a source of polynuclear aromatic hydrocarbons (PAHs) to the environment. *Waste Manage. Res.* 10, 99–111.
- [56]. Wilson, S.C., Jones, K.C., 1993. Bioremediation of soil contaminated with polynuclear aromatic hydrocarbons (PAHs): a review. *Environ. Pollut.* 81, 229–249.
- [57] M. Zander, Physical and chemical properties of polycyclic aromatic hydrocarbons, in: A. Bjorseth (Ed.), *Handbook of Polycyclic Aromatic hydrocarbons*, in: A. Bjorseth (Ed.), *Handbook of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons*, Marcel Dekker, New York, 1983, pp. 1–25.
- [58] F.K. Kawahara, B. Davila, S.R. Al-Abed, Polynuclear aromatic hydrogen carbon (PAH) release from soil during treatment with Fenton's reagent, *Chemosphere* 31 (1995) 4131–4142.
- [59] D.L. Sedlak, A.W. Andren, The effect of sorption on the oxidation of polychlorinated-biphenyls (PCBs) by hydroxyl radical, *Water Res.* 28 (1994) 1207–1215.
- [60] M.E. Lindsey, M.A. Tarr, Inhibited hydroxyl radical degradation of aromatic hydrocarbons in the presence of dissolved fulvic acid, *Water Res.* 34 (2000) 2385–2389.