

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Université Abou Bekr Belkaid

Tlemcen Algérie



جامعة أبي بكر بلقايد

تلمسان الجزائر

Faculté des Sciences
Département de Chimie

Laboratoire de Recherche
Spectrochimie et Pharmacologie Structurale

MEMOIRE DU MASTER EN CHIMIE

Option : Chimie Physique et Analytique

Académique

Sujet :

*Evaluation du taux de contamination par HAP de la Flore aux alentours des centres de
stockage et de distribution des hydrocarbures*

Réaliser par :

Melle BELKHATIR Hanifa

Soutenu le : 12 septembre 2013

Membres de Jury :

Noms et Prénoms

Président : L.LARABI

Examineur : D.ABDELWAHID

Examineur : ZIANI CHERIF.C

Encadreur : Ah.BENSAOULA

Grade Université ABB Tlemcen

Professeur

Professeur

Maitre de conférence

Maitre de conférence

Année Universitaire 2012/2013

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

UNIVERSITE ABOUBEKRE BELKAID –TLEMCEM

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE CHIMIE

LABORATOIRE DE SPECTROCHIMIE ET PHARMACOLOGIE STRUCTURALE

Thèse pour l'obtention du Diplôme de Master en Chimie

Evaluation du taux de contamination par
HAP de la flore aux alentours des centres
de stockage et de distribution des
hydrocarbures

Par Melle. Belkhatir Hanifa

Présentée devant le Jury composé par :

-
-
-
-

UNIVERSITE ABOUBEKRE BELKAID TLEMÇEN

Evaluation du taux de contamination par HAP de la Flore aux alentours des centres de stockage et de distribution des hydrocarbures.

© Université Aboubekre Belkaid Tlemçen
Département de Chimie
Faculté des Science
Tlemçen, 13000 ALGERIE
Phone ----- • Fax -----

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

*A ma très chère Mère et à mon cher Père en témoignage et
en gratitude de leur dévouement et de leur soutien
permanent durant toutes mes années d'études, pour tout cela et
pour ce qui ne peut être dit.*

A mon cher frère Kader

A mes grand parents

A ma cousine Sarah

A toute la famille,

A tous mes amies,

REMERCIEMENTS :

Le travail présenté dans ce mémoire a été réalisé au Laboratoire Spectrochimie et Pharmacologie Structurale « LSPS » à l'Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen dirigé par le professeur DAHMANI Benamar. Je tiens à lui exprimer toute ma reconnaissance de m'avoir accueilli.

Je prie Monsieur BENSAOULA Abdelhakim , Professeur à de l'Université Abou Bakr-Belkaid de Tlemcen, de trouver ici l'expression de mes sincères remerciements, de mon profond respect pour la bienveillance avec laquelle il a guidé mon travail, pour son soutien, ainsi que pour les précieux conseils qu'il m'a prodigué.

J'adresse également mes remerciements à Mr LARABI lahcen professeur a l'université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, qui m'a fait l'honneur de présider ce jury de thèse.

Je remercie les membres du jury, Monsieur ZIANI CHERIF chawki et Monsieur ABDELWAHID Djamel Maîtres de conférences à l'université de Tlemcen qui ont bien voulu examiner ce travail.

Je remercie tous les enseignants de mon cursus universitaire qui ont contribué à ma formation.

Résumé :

Les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) sont des polluants très toxiques de par leurs effets mutagènes. Il reste évident que notre dépendance énergétique et l'utilisation des hydrocarbures dans notre vie nous expose à ces produits dans tout les aspects de nos activités de tout les jours. Les HAP peuvent se trouver dans les différents produits que nous utilisons chaque jour. Cette présence peut être accidentelle, conséquence de pollution ou de contamination, ou « programmée » résultant de l'utilisation des produits contenant ces matières.

Notre travail porte sur l'évaluation du taux de contamination par PAH de la flore aux alentours des centres de distribution et de stockage de hydrocarbures. Notre étude vient dans l'esprit d'améliorer les conditions relatives aux activités de commercialisation des hydrocarbures et dans un but de protection de santé publique.

Notre travail porte a traiter un cas model qui nous permettra par la suite d'établir un protocole de collection, de traitement, d'analyse et de suivi d'échantillons prélevés autours des centres d'intérêt. Une fois établi, ce protocole permettra une étude plus élargie portant sur des centres probables de pollution (site de déversement, lieu d'accident, axes routiers etc..) et de permettre une comparaison scientifiques des résultats obtenus.

Abstract :

Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) are very toxic pollutants due to their mutagenic effects. It is obvious that our energy dependence and the use of oil in our lives exposes us to these products in all aspects of our business every day. PAHs can be found in various products we use every day. This presence may be accidental, resulting from pollution or contamination, or "programmed" resulting from the use of products containing these materials.

Our work focuses on the evaluation of the rate of PAH contamination of flora around the distribution centers and storage of hydrocarbons. Our study in the spirit of improving the conditions for marketing activities of oil and in order to protect public health.

Our work is to treat a case model that will allow us later to establish a protocol for collection, processing, analysis and monitoring of samples of goshawks interests. Once established, this protocol will allow a wider bearing on probable pollution study centers (dump site, place of accident, roads etc..) and to allow a comparison of scientific results

Evaluation du taux de contamination par HAP de la Flore aux alentours des centres de stockage et de distribution des hydrocarbures.

© Université Aboubekre Belkaid Tlemçen
Département de Chimie
Faculté des Science
Tlemçen, 13000 ALGERIE
Phone ----- • Fax -----

Sommaire

Introduction Générale.....	1
chapitre I:Synthèse Bibliographique.....	4
I -Les hydrocarbures aromatiques polycycliques.....	4
I -1-généralité	4
I -2-caracteristique physico-chimique	5
I -3-Identification des différentes sources de HAP.....	6
I-4-Transfert des HAP dans l'environnement.....	7
I-5-Toxicité des HAP.....	8
I-6. Valeurs réglementaires et recommandations de l'OMS	9
I-7.métabolisme.....	10
I-8. Réglementations existantes et valeurs cibles	11
II.Contamination des plantes par les hydrocarbures :.....	12
II-1. Principales voies de contamination.....	12
II-2. Comportements des hydrocarbures dans les sols et plantes..	13
Conclusion	15
Chapitre II :Echantillonnage et méthodes d'analyse... 1Erreur ! Signet non défini.	
I.1-Produits et matériels utilisés	18
I.2- Echantillonnage et conservation	25
I.3- Préparation d'échantillons.....	27
I.3.1-Prétraitement des échantillons	27
I.3.2-Extraction des hydrocarbures.....	28
I.3.3- Evaporation de solvant.....	29
I.3.4- Purification.....	30
I.4- Analyse d'échantillons.....	31
I.4.1- UV-Visible.....	31
I.4.2-HPLC.....	33
II. Modes opératoires.....	37
Chapitre3 : Résultats et discussions.....	41
I-Analyse par UV-VI.....	42
I.1- préparation des solutions étalons.....	42
I.2- Courbes d'étalonnages.....	43

II. Analyses par HPLC.....	59
III. Résultats et discussions	70
Conclusion et perspective.....	71
Bibliographie et référence.....	72

Liste des figures

Fig.1 :Liste des HAP généralement surveillés dans l'environnement selon les recommandations de l'US EPA (polluants prioritaires).....	4
Fig.2 : Transfert des HAP dans les compartiments atmosphère, sol et végétaux (Laurence BOURCEREAU).....	8
Fig 3 : Structure chimique du benzo(a)pyrène (cancérogène) et du pyrène (non listé comme cancérogène) (Louise Marie FOAN.2012).....	11
Fig 4 : principales vois de contamination des végétaux par les polluants organique.....	14
Fig 5 : schéma globale du devenir des HAP dans le sol d'après Alcaide et al. (2000).....	15
Fig 6 : principales étapes d'une procédure analytique utilisée pour la détermination des HAP dans des échantillons adaptés. (A-Beyer, M-Biziuk, 200).....	17
Fig 7 : laurier rose.....	27
Fig 8 : Genévrier.....	28
Fig 9 : système d'extraction au soxhlet.....	29
Fig 10 : évaporateur rotatif.....	30
Fig 11 : Principe d'extraction sur phase solide.....	32
Fig 12 : principe d'un spectrophotomètre.....	33
Fig 13 : Un spectrophotomètre UV-Vis.....	34
Fig 14 : Diagramme du système HPLC utilisé.....	35
Fig 15 : Système HPLC du Laboratoire de Recherche.....	37
Fig16 : Courbe d'étalonnage du naphtalène.....	44
Fig 17 : Courbe d'étalonnage du phénanthrène.....	45
Fig 18 : Courbe d'étalonnage d'anthracène.....	46
Fig19 : Courbe d'étalonnage du fluorène.....	48
Fig 20 : Courbe d'étalonnage du chrysène.....	49
Fig 21 : Courbe d'étalonnage du pyrène.....	50
Fig 22 : Courbe d'étalonnage du fluoranthène.....	51
Fig 23 : Courbe d'étalonnage du Benzo[a] anthracène.....	53
Fig 24 : Courbe d'étalonnage du Benzo[a] pyrène.....	55
Fig 25 :Courbe d'étalonnage Benzo[k]fluoranthène.....	56
Fig 26 : comparaison entre nos échantillons de racine extraite par soxhlet.....	57
Fig 27 : comparaison entre nos échantillons de feuilles extraite par soxhlet.....	58
Fig 28 : comparaison entre nos échantillons de feuilles extraite par saponification.....	59
Fig 29 : Chromatogramme obtenu par injection de l'étalon pure.....	60
Fig 30 : chromatogramme livré avec la solution commerciale.....	60
Fig 31 : chromatogramme de l'échantillon R1.....	62
Fig 32 : chromatogramme de l'échantillon R2.....	63
Fig 32 : chromatogramme de l'échantillon R3.....	64
Fig 33 : chromatogramme de l'échantillon F1 sox.....	65

Fig 34: chromatogramme de l'échantillon F2 sox.....	66
Fig 35: chromatogramme de l'échantillon F2 sap.....	67
Fig 36: chromatogramme de l'échantillon F3 sox.....	68
Fig 37: chromatogramme de l'échantillon F3 sap.....	69

Liste des tableau

Tableau 1 : HAP (avec les abréviations adoptées) classé en fonction du nombre de noyaux aromatique.....	5
Tableau 2 : propriété physico-chimique des HAP.....	6
Tableau 3 : Sources anthropiques d'HAP (BRICE TEMIME-ROUSSEL.2002).....	7
Tableau 4 : Potentiel cancérigène des HAP (IARC, 1987, 2002).....	9
Tableau 5 : Réglementations applicables selon les compartiments environnementaux concernés.....	12
Tableau 6 : Propriétés chimique du dichlorométhane.....	19
Tableau 7 : Propriétés physique du dichlorométhane.....	20
Tableau 8 : propriétés chimiques d'hexane.....	20
Tableau 9: propriétés physique d'hexane.....	20
Tableau 10: propriétés chimiques de l'acétone.....	21
Tableau 11: propriétés physiques de l'acétone.....	21
Tableau 12: propriétés chimiques du méthanol.....	21
Tableau 13: propriétés physique du méthanol.....	22
Tableau 14: propriétés chimique de l'éthanol.....	22
Tableau 15: propriétés physiques de l'éthanol.....	22
Tableau 16: propriétés chimiques d'acétonitrile.....	23
Tableau 17: propriétés physiques d'acétonitrile.....	23
Tableau 18: propriétés chimique de sulfate de sodium.....	24
Tableau 19: propriétés physiques de sulfate de sodium.....	24
Tableau 20: propriétés chimiques d'oxyde d'alumine.....	24
Tableau 21: propriété physiques d'oxyde d'alumine.....	24
Tableau 22: propriété chimique de gel de silice.....	25
Tableau 23: propriété physique de gel de silice.....	25
Tableau 24: propriétés chimiques du chlorure de sodium.....	25
Tableau 25: propriétés physique du Chlorure de sodium.....	25
Tableau 26: propriétés chimiques de l'hydroxyde de potassium.....	26
Tableau 27: propriétés physiques de l'hydroxyde de potassium.....	26
Tableau 28: Longueur d'onde maximale d'absorption des 16 HAP dans l'UV.....	33
Tableau 29: mode gradient utilisé lors de l'analyse.....	36
Tableau 30: Concentration des solutions étalons.....	42
Tableau 31 : Variation de l'Absorbance en fonction de la concentration du naphthalène.....	43
Tableau 32: Concentration du naphthalène dans nos échantillons.....	44
Tableau 33 : Variation de l'Absorbance en fonction de la concentration du phénanthrène.....	45
Tableau 34: Concentration du phénanthrène dans nos échantillons.....	45
Tableau 35: Variation de l'Absorbance en fonction de la concentration d'anthracène.....	46

Tableau 36: Concentration d'anthracène dans nos échantillons.....	47
Tableau 37: Variation de l'Absorbance en fonction de la concentration du fluorène.....	47
Tableau 38: Concentration du fluorène dans nos échantillons.....	48
Tableau 39: Variation de l'Absorbance en fonction de la concentration du crysène.....	49
Tableau 40: Concentration du crysène dans nos échantillons.....	50
Tableau 41: Variation de l'Absorbance en fonction de la concentration du pyrène.....	50
Tableau 42: Concentration du pyrène dans nos échantillons.....	51
Tableau 43: Variation de l'Absorbance en fonction de la concentration du fluoranthène.....	51
Tableau 44: Concentration du fluoranthène dans nos échantillons.....	52
Tableau 45: Variation de l'Absorbance en fonction de la concentration du Benzo[a] anthracène.....	53
Tableau 46: Concentration du Benzo[a] anthracène dans nos échantillons.....	54
Tableau 47: Variation de l'Absorbance en fonction de la concentration du Benzo[a]pyrène.....	54
Tableau 48: Concentration du Benzo[a] pyrène dans nos échantillons.....	55
Tableau 49: Variation de l'Absorbance en fonction de la concentration du Benzo[k]fluoranthène.....	56
Tableau 50 : Concentration du Benzo[k]fluoranthène dans nos échantillons.....	57
Tableau 51: comparaison entre les temps de rétention des pics de l'étalon et l'échantillon R1.....	62
Tableau 52: comparaison entre les temps de rétention des pics de l'étalon et l'échantillon R2.....	63
Tableau 53: comparaison entre les temps de rétention des pics de l'étalon et l'échantillon R3.....	64
Tableau 54: comparaison entre les temps de rétention des pics de l'étalon et l'échantillon F1 sox.....	65
Tableau 55: comparaison entre les temps de rétention des pics de l'étalon et l'échantillon F2 sox.....	66
Tableau 56: comparaison entre les temps de rétention des pics de l'étalon et l'échantillon F2 sap.....	67
Tableau 57: comparaison entre les temps de rétention des pics de l'étalon et l'échantillon F3 sox.....	68
Tableau 58: comparaison entre les temps de rétention des pics de l'étalon et l'échantillon F3 sap.....	69

Liste des abréviations

POP : Polluants Organiques Persistants
HAP : hydrocarbures aromatiques polycycliques
HPLC : chromatographie en phase liquide haute performance
UV : ultra-violet
US-EPA : l'agence américaine de la protection de
NAP : Naphtalène
ACY : Acénaphtylène
ACE : Acénaphène
FLU : Fluorène
PHE : Phénanthrène
ANT : Anthracène
FLT : Fluoranthène
PYR : Pyrène
BaANT : Benzo(a)anthracène
BbFLT : benzo(b)fluoranthène
CHY : Chrysène
BKFLT : Benzo(k)fluoranthène
BaPYR : Benzo(a)pyrène
dBahANT : Dibenzo(ah)anthracène
Icd PYR : Indéno(1.2.3-c.d)pyrène
BghiPL : Benzo(ghi)perylène
Pvap : pression de vapeur
KH : La constante de Henry
S : Solubilité
M : Masse molaire
KOW : Coefficient de partage eau-octanol
OMS : organisation mondiale de la santé
ADN : L'acide désoxyribonucléique
STEP : les boues de station d'épuration
CPG : chromatographie sur phase gazeuse
SM : spectroscopie de masse
SPE : extraction sur phase solide
Na₂SO₄ : sulfate de sodium
FID : détecteur à ionisation de flamme
S1 : site 1
S2 : site 2
S3 : site 3
R1 : racine de la 1ere zone
R2 : racine de la 2eme zone
R3 : racine de la 3eme zone
F1 : feuille de la 1ere zone
F2 : feuille de la 2eme zone
F3 : feuille de la 3eme zone

Sox : extraction soxhlet
Sap : saponification
Id : indentifier
N.Id : non indentifier

Introduction général

Introduction Générale

La pollution liée aux hydrocarbures aromatiques polycycliques est devenue une problématique environnementale fréquente dans le monde entier, ces HAP font partie des Polluants Organiques Persistants (POP), définis par le protocole d'Aarhus (1998) et la convention de Stockholm (2001), deux traités internationaux dont l'objectif commun était de limiter les émissions de ces molécules capables de s'accumuler dans les différents compartiments de l'environnement et susceptibles d'être nocives ou toxiques pour la santé humaine et les ressources naturelles. La contamination des sols, des plantes et des eaux par ces polluants est souvent due aux activités anthropiques.

Les origines anthropiques proviennent des dépôts atmosphériques, du ruissellement, des émissions domestiques et industrielles, émissions routières et du déversement direct du pétrole ou du produit pétrolier qui sont la majorité du temps associé à la défaillance des réservoirs de stockage.

Les HAP ont un fort pouvoir cancérigène, mutagène et ont, par conséquent, des effets nocifs pour la santé humaine. La toxicité des HAP est liée à leur masse molaire donc au nombre de cycles du composé considéré, la plupart des HAP de haut poids moléculaires sont connues pour avoir des effets mutagènes voire cancérigènes, et les HAP à faibles poids moléculaires présentent un risque toxique aigue (Luch, 2005) ; de plus les HAP sont peu biodégradable car faiblement bio disponible, ce qui les rend persistants dans l'environnement.

Cette famille de molécules présente des propriétés physico-chimique très spécifique puisque les HAP sont peu réactifs chimiquement et très hydrophobes et ainsi relativement peu soluble dans l'eau et persistant dans des différentes matrices environnementales solides tel que les plantes.

L'exposition des plantes aux PHA peut se produire par le biais de nombreuse façon, dans le voisinage des zones industriels, des autoroutes et à proximité des centres de stockage des hydrocarbures ou des centres de distributions, les végétaux peuvent être pollués par des retombés sur les feuilles ou par le contact des racines avec le sol.

L'objectif de notre travail consiste à faire un état des lieux d'une zone dans le voisinage de centre de stockage et de distribution des hydrocarbures, pour connaître la concentration des HAP dans les matrices végétales et décrire leur impact sur ces matrices ; en faisant appel à des techniques adaptées pour ce genre d'analyse tel que HPLC-UV.

Le présent mémoire est structuré comme suit :

Le premier chapitre sera consacré à une synthèse bibliographique afférant notre étude.

Dans le deuxième chapitre seront exposés les différents processus analytiques et techniques de caractérisations et les méthodes expérimentales utilisées au cours de ce travail.

Le troisième chapitre sera consacré à la discussion des résultats obtenue lors de l'analyse des plantes polluées.

Une conclusion générale sera donnée à la fin du mémoire et par laquelle nous récapitulons tout le procédé analytique suivi durant ce travail et mettrons en valeur les principaux résultats obtenues.

Chapitre 1 : synthèse bibliographiques

Ce chapitre présente le contexte de l'étude à partir d'une synthèse bibliographique concernant une généralité sur les HAP, leur transport dans l'environnement ainsi les grandeurs physico-chimiques et les caractéristiques toxicologiques enfin, la contamination des végétaux par les HAP

I -Les hydrocarbures aromatiques polycycliques :

I -1-généralité :

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) sont des molécules organiques constituées d'atomes de carbones et d'hydrogènes associées en cycles benzéniques (2 à 6 cycle) ; ils confèrent à ces molécules une forte lipophilie (Becke et al ..., 1990, Wilson et Jones ; 1993).

On compte aujourd'hui 130 HAP, 16 d'entre eux ont des propriétés cancérigènes et mutagènes (fig. 1) ; depuis 1976, on les considère comme polluants prioritaires par l'agence américaine de la protection de l'environnement (US-EPA) dès 1976 (Wilson et Jones, 1993).

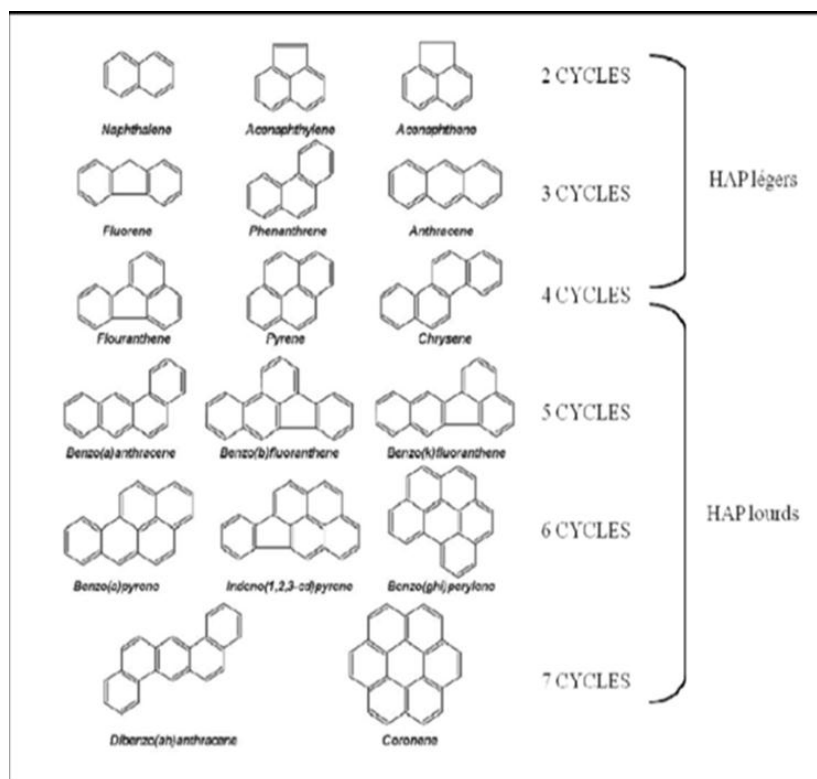


Figure I. Liste des HAP généralement surveillés dans l'environnement selon les recommandations de l'US EPA (polluants prioritaires).

Les HAP sont souvent classés en fonction du nombre de cycles ou du nombre de noyaux aromatiques qu'ils contiennent. Il n'existe pas d'abréviation officielle pour les noms de ces composés. Le Tableau 1 regroupe les HAP en fonction de leur nombre de noyaux.

Tableau 1 : HAP (avec les abréviations adoptées) classé en fonction du nombre de noyaux aromatique

Nombre de Noyaux Aromatique	2	3	4	5	6
Noms Chimiques	Naphtalène (NAP) Acénaphylène (ACY) Acénaphène (ACE) Fluorène (FLU)	Phénanthrène (PHE) Anthracène (ANT) Fluoranthène (FLT)	Pyrène (PYR) Benzo(a)anthracène (BaANT) benzo(b)fluoranthène (BbFLT) Chrysène (CHY) Benzo(k)fluoranthène (BKFLT)	Benzo(a)pyrène (BaPYR) Dibenzo(ah)anthracène (dBahANT) Indéno(1.2.3-c.d)pyrène (IcdPYR)	Benzo(ghi)perylène (BghiPL)

I-2-caractéristique physico-chimique :

Les HAP sont des composés semi-volatils, dont l'occurrence et la distribution dans les différents compartiments de l'environnement sont conditionnés par leur caractéristique physico-chimique (tableau 2).

- a) La pression de vapeur (P_{vap}) informe sur la volatilité des composés, c'est-à-dire leur pouvoir à se volatiliser ou à rester en phase gazeuse.
- b) La constante de Henry (K_H) est caractéristique de l'équilibre entre phase gazeuse et phase aqueuse.
- c) Solubilité (S) exprime l'affinité d'un composé pour la phase aqueuse (c'est-à-dire leur caractère hydrophile).

Tableau 2 : propriété physico-chimique des HAP

	Masse molaire M (g/mol)	Constante de Henry K_H (Pa.m ³ /mol)	Solubilité dans l'eau S à 25°C (mg/l)	Coefficient de partage eau-octanol log Kow	Demi-vie (j=jour, a=an)
Naphtalène	128.2	48.9	32	3.30	16-48j
Acénaphtylène	152.2	/	3.93	4.07	/
Acénaphène	154.2	14.7	3.42	9.98	/
Fluorène	166.2	9.2	1.90	4.18	32-60j
Phénanthrène	178.2	2.95(à20°C)	1	4.45	16-200j
Anthracène	178.2	5.04	0.07	4.045	50j-1.3a
Fluoranthène	202.3	1.5(à25°C)	0.27	4.90	140j-1.2a
Pyrène	202.3	1.1.10 ⁻³ (à25°C)	0.16	4.88	210j-5.2a
Benzo(a)anthracène	228.3	/	0.0057	6.61	102j-1.9a
Chrysène	228.3	0.1(à25°C)	0.002	6.61	1-2.7a
Benzo(b)fluoranthène	252.3	0.05(à25°C)	0.0010	6.57	360j-1.7a
Benzo(k)fluoranthène	252.3	0.069(à25°C)	0.0008	6.8	2.5-5.9a
Benzo(a)pyrène	252.3	4.0.10 ⁻¹²	0.0038	6.06	57j-1.5a
Dibenzo(ah)anthracène	278.3	4.8.10 ⁻³	0.0005	6.84	361j-2.6a
Benzo(ghi)pérylène	276.3	2.7.10 ⁻²	0.002	6.50	0.25a-1.8a

Les propriétés physico-chimiques des HAP sont fortement liées à leur masse molaires, leur stabilité est grandement fonction de l'arrangement des cycles : les HAP angulaires sont les plus stables et les linéaires les moins stables (BLUMER, 1976) ; en effet , plus le composé est lourd plus la pression de vapeur est faible , ainsi les molécule les plus légères (naphtalène , pyrène) ayant des K_H supérieures ou égales à 10^{-5} , sont volatiles et se trouvent majoritairement dans l'atmosphère en phase gazeuse .

Les HAP les plus lourds sont faiblement ou très faiblement volatils, par ailleurs, plus la masse molaires des HAP est élevée , ces derniers sont moins solubles dans l'eau (donc d'autant plus hydrophobes); tous les HAP sont bio accumulables (Kow évolue inversement à la solubilité).

I -3-Identification des différentes sources de HAP :

Les sources sont naturelles, ou anthropiques.

I -3-1-Naturelles :

Les HAP sont présent à l'état naturel dans les combustibles fossiles tel que pétrole, gaz, carbone. Ils sont émis lors des incendies naturels, notamment les incendies de forêt, ils peuvent également être émis lors des éruptions volcaniques.

I -3-2-Anthropiques :

Dans les sources anthropiques, ce sont les HAP provenant des combustions incomplètes qui dominant. Les combustions incomplètes comprenant les échappements des moteurs thermiques diesel et essence. Les HAP sont émis lors du raffinage du pétrole. Enfin, les HAP peuvent être émis lors de déversement accidentel des réservoirs de stockage dans les stations de distribution d'hydrocarbure.

Tableau 3: Sources anthropiques d'HAP (BRICE TEMIME-ROUSSEL.2002)

Sources stationnaires industrielles	Sources domestiques	Sources mobiles
-Production d'aluminium	-Chauffage (gaz naturel, bois, charbon)	- Voitures
-Fabrication des pneus	-Tabagisme	-Avions
-Créosotes et prévision du bois	-Cuisson des aliments (barbecue, friture)	-Trains
-Sidérurgie		-Bateaux
-Industrie du bitume et goudrons		
-Cimenterie		
-Moteurs à combustion		
Industrie pétrochimique		

I.4. Transfert des HAP dans l'environnement :

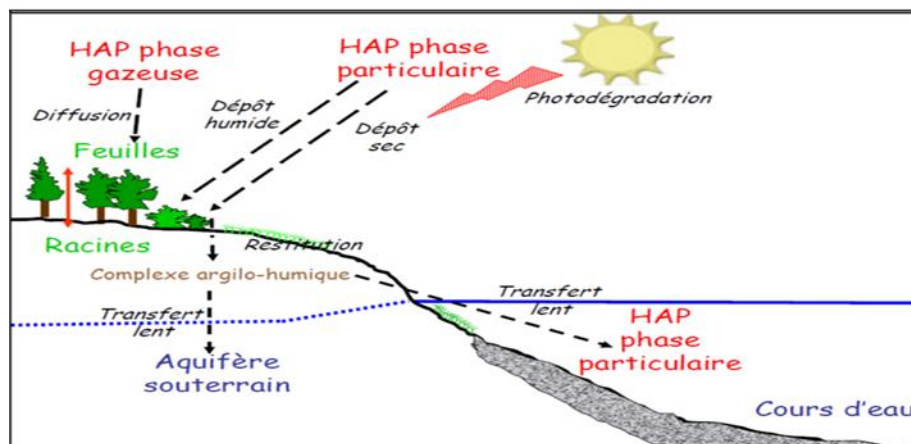


Fig.2 : Transfert des HAP dans les compartiments atmosphère, sol et végétaux (Laurence BOURCEREAU)

I.4.1. Air :

Dans l'atmosphère, le temps de résidence des HAP dépend des conditions climatiques et de la taille des particules sur lesquelles ils sont adsorbés, les particules les plus fines (diamètres entre 0.1 et 3µm) vont contribuer au transport longue distance des HAP puisque leur temps de séjour dans l'atmosphère peut être de plusieurs jours. Les particules les plus grossières (>3-5µm) ont un temps de résidence limité dans l'atmosphère et seront vite déposées par dépôt sec ou humide.

I.4.2. Sol :

En raison de la faible solubilité des HAP dans l'eau, une faible fraction se trouve en solution dans le sol, mais certains composés organiques dissous peuvent augmenter cette concentration. Certains, comme le naphthalène, sont volatils en fonction de l'aération du sol. Les HAP localisés dans les horizons de surface, peuvent être liés au constituant du sol par des interactions hydrophobes. Les HAP persistent alors dans les sols sous forme de résidus et constituent un risque de pollution à long terme car ils sont susceptibles d'être relégués dans la solution du sol. Cependant, la persistance des HAP sera également fonction de leur temps de demi-vie, lequel est plus important pour les HAP les plus lourds, donc les moins solubles.

I.4.3. Eau :

Dans le milieu aquatique les HAP peuvent être éliminés de la colonne d'eau par plusieurs phénomènes volatilisation, adsorption sur la matière particulaire en suspension ou les sédiments, accumulation ou adsorption sur des organismes aquatiques, oxydation photochimique. Les composés légers sont plutôt sensibles à la volatilisation et la biodégradation, les composés lourds sont principalement éliminés de la colonne d'eau par sédimentation et par oxydation photochimique. Dans les sédiments, les HAP sont persistants et se transforment très lentement, les sédiments sont donc considérés comme les milieux de résidence ultime des HAP.

I-5-Toxicité des HAP :

La toxicité des HAP peut être aigue, faible ou modéré selon le composé considéré (Pickering et al.,1999), aux vue des concentrations auxquelles sont exposées les populations, les risques toxiques associés aux HAP ont des effets mutagènes (White, 2002) et cancérogènes (Denssiko et al.,1996). En effet, certains d'entre eux ont été classés comme cancérogènes probables ou possibles chez les humains par le centre international de recherche sue le cancer (CIRC) (IARC, 1987,2002) (tableau 2). Parmi les HAP, la toxicité du benzo(a)pyrène et la mieux documenté et la plus mesurée, celui-ci a été classés comme cancérogène probable pour l'homme par CIRC (groupe 2A), sa capacité à induire un cancer du poumon étant reconnue (IARC, 1987).

Tableau 4 : Potentiel cancérigène des HAP (IARC, 1987, 2002).

HAP	Classement IARC	HAP	Classement IARC
Naphtalène	n.e	Benzo(k)fluoranthène	2B
Acénaphène	n.e	Benzo(a)pyrène	2A
Acénaphthylène	n.e	Dibenz(a,h)anthracène	2A
Anthracène	3	Benzo(ghi)pérylène	3
Fluorène	3	Phénanthrène	3
Fluoranthène	3	Indéno(1,2,3-cd)pyrène	2B
Pyrène	3	Chrysène	3
Benz(a)anthracène	2A	Benzo(b)fluoranthène	2B

2A : probablement cancérigène pour l'homme ; 2B : peut-être cancérigène pour l'homme ;

3 : Inclassable quant à la cancérogénicité pour l'homme (possible mais insuffisamment étudiée).

n.e. : non étudié.

I-6. Valeurs réglementaires et recommandations de l'OMS :

Le Décret n°2001-1220 du 20 décembre 2001, relatif aux eaux destinées à la consommation humaine, à l'exclusion des eaux minérales naturelles, impose une concentration inférieure à 0,1 µg/l pour la somme des quatre composés suivants : benzo(b)fluoranthène, benzo(k)fluoranthène, benzo(ghi)pérylène, indéno(1,2,3-cd)pyrène. Pour le benzo(a)pyrène, la valeur limite est de 0,01 µg/l. Les recommandations de l'Organisation Mondiale de la Santé imposent dans l'eau potable une teneur limite de 0,2 µg/l pour les 6 HAP de la liste présentée ci-dessus (fluoranthène, benzo(b)fluoranthène, benzo(k)fluoranthène, benzo(a)pyrène, benzo(ghi)pérylène, indéno(1,2,3, cd)pyrène, avec une valeur limite pour le benzo(a)pyrène de 0,7 µg/l .

I-7.métabolisme :

Le passage des hydrocarbures dans l'organisme humain s'effectue par inhalation, par ingestion mais également par transfert à travers la peau. Ils se concentrent essentiellement dans les reins et le foie mais ils se retrouvent également dans la rate et les ovaires où ils sont transformés en composés plus ou moins nocifs (Zmirou et al., 2000).

La toxicité des HAP est liée au degré de planéité de la structure moléculaire, les structures planes étant plus stables, donc moins réactives et par conséquent moins toxiques (INSERM, 2001). Les molécules de HAP cancérigènes sont dissymétriques et possèdent généralement une région « baie » qui est une zone à forte densité électronique pouvant induire l'oxydation de la molécule. La Figure I-4 illustre la différence de structure chimique entre le benzo(a)pyrène, un HAP de toxicité élevée connu depuis un certain temps pour sa cancérigénicité, et le pyrène, un composé modérément toxique et n'ayant pas d'effet cancérigène confirmé (Zmirou et al., 2000 ; INSERM, 2001).

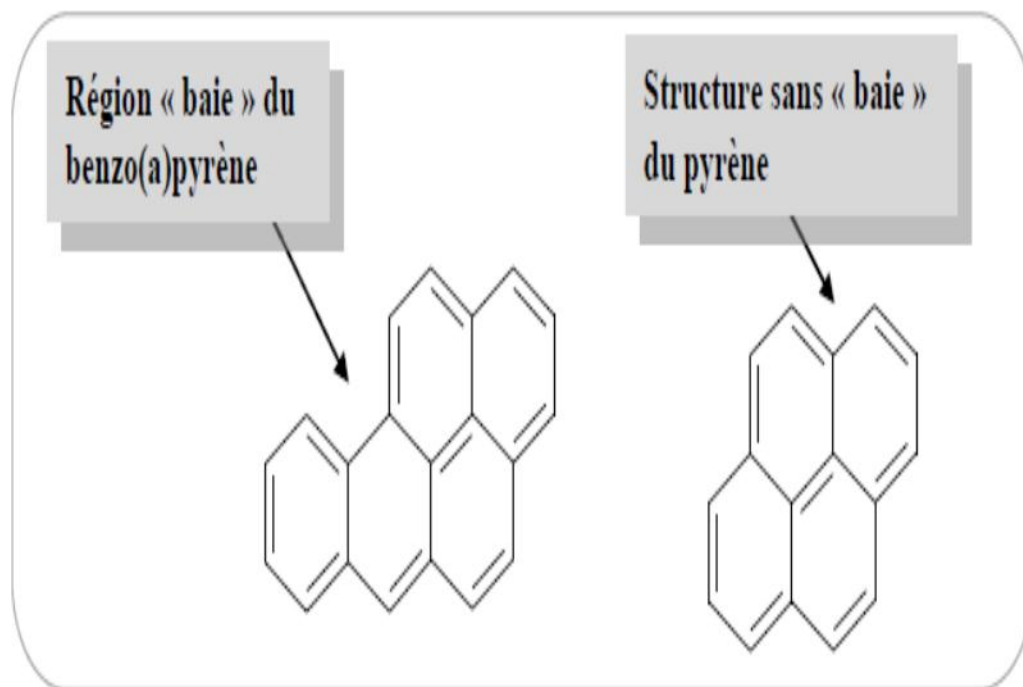


Figure 3 : Structure chimique du benzo(a)pyrène (cancérigène) et du pyrène (non listé comme cancérigène) (Louise Marie FOAN.2012)

Ainsi, à cause de leur structure moléculaire, certains types de HAP vont être transformés dans l'organisme en composés extrêmement toxiques, appelés époxydes. Ces derniers réagissent très facilement avec l'ADN, entraînant des mutations génétiques (mutagénèse)

ayant pour conséquence l'apparition de cancers (cancérogénèse), de maladies génétiques héréditaires (génétoxicité) ou d'affecter la reproduction et le développement embryonnaire/foetal (reprotoxicité). Le benzo(a)pyrène est particulièrement toxique puisque ses effets cancérogènes sont prouvés pour l'homme et qu'il est considéré aussi comme mutagène, tératogène (effet qui provoque le développement de masses cellulaires anormales au cours de la croissance foetale, provoquant des défauts physiques sur le fœtus) et toxique pour le développement (Dabestani et Ivanov, 1999).

I-8. Réglementations existantes et valeurs cibles :

Des effets néfastes sont observés sur les organismes. En fonction de la toxicité de chaque polluant, des valeurs cibles ont été réglementées (Tab.4). Ses valeurs cibles ont été définies pour quatre compartiments et déterminent leur niveau de qualité : les boues de station d'épuration (STEP), l'air ambiant, l'eau potable et les sédiments

Tab. 5 : Réglementations applicables selon les compartiments environnementaux concernés

compartiment	HAP concerné	Valeur cible	Réglementation
Boues de STEP	Fluoranthène	<5mg/kg MS	Decret n°97-1133 du 8-12-1997 (JORF-1997)
	Benzo(b)fluoranthène	<2.5mg/kg MS	
	Benzo(a)pyrène	<2mg/kg MS	
Eau potable	Fluoranthène Benzo(3.4)fluoranthène Benzo(1.1.2)fluoranthène Benzo(3.4)pyrène Benzo(1.1.2)pérylène Indéno(1.2.3-cd)pyrène	<1 microg/l	Decret n°2001-1220 du 20-12-2001 (JORF-2001)
Air ambiant	Benzo(a)pyrène	<1ng/m ³	Directive n°99-62-CE du 27-9-1996 (JOCE.1996)

II-Contamination des végétaux par les HAP :

II-1-principales voies de contamination des végétaux:

La voie de contamination des végétaux sont multiples (figure 4), les dépôts atmosphériques, les épandages des boues d'épurations, l'effet de « splash » (projection de particules de sol sur les parties aériennes des plantes lors d'un épisode pluvieux) , la volatilisation des HAP du sol ou encore le passage des racines à la plante sont des entrées possibles des molécules sur les végétaux (Fris , 1996 ; Smith et Jones ,2000).

Néanmoins, l'arrivée des polluants sur les végétaux provient essentiellement des dépôts atmosphériques (Wild et Jones, 1995). Environ 30% de la teneur en HAP des végétaux résulte d'une souillure de la plante par du sol contaminé (projection, « splash », volatilisation ; Dreicer et al.,1984). La température, le vent et la pluie sont des paramètres agissant directement sur la concentration des HAP de la plante, ces actions physiques favorisent le décrochement et l'émission des molécules adsorbées sur les plantes (Smith et al, 2001) .

En outre, dans le cas des végétaux sur un sol pollué, la part des HAP entrant par les racines est négligeable (Mc Gady et al..., 1990, Smith et Jones, 2000). Les polluants organiques se répartiraient sur l'épiderme extérieur des racines résultants en une adsorption réduite (Fismes et al..... ,2002 ; Gao et Zhu, 2004). L'épiderme des racines contient en effet de la subérine, constituant très lipophile capable d'adsorber fortement les HAP (Briggs et al..., 1982). La morphologie de la cuticule (rétention des molécules) favoriserait le maintien des HAP déposés via l'air en faisant ainsi la principale source de contamination des plantes.

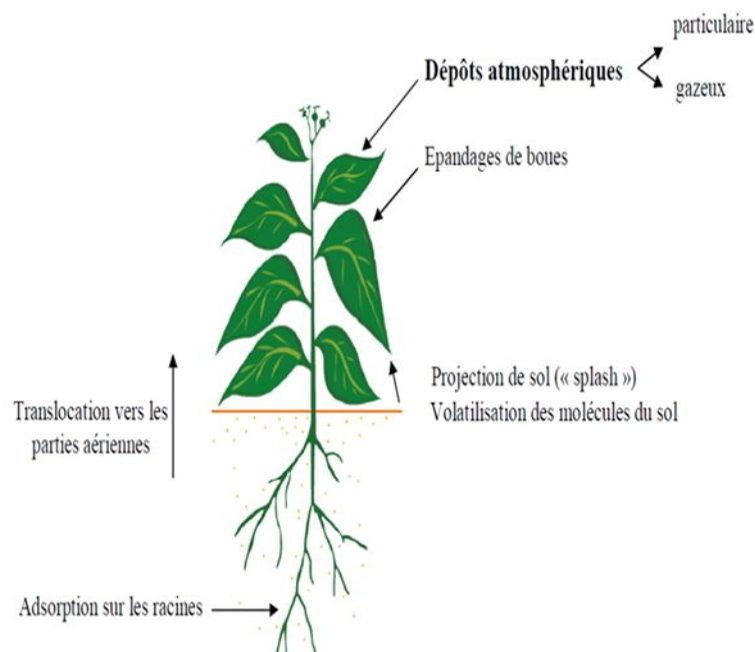


Figure 4 : principales voies de contamination des végétaux par les polluants organique.

II-2-comportement des HAP dans le sol et dans les plantes :

Les HAP en provenance des sols peuvent également contaminer les plantes via leurs parties aériennes (HAP particulaires et gazeux) et via leurs racines.

La littérature indique que les HAP particulaires qui se déposent sur les feuilles peuvent passer à travers la cuticule cireuse de la feuille en raison de leur caractère lipophile, bien que ces molécules soient également fortement retenues par les liens covalents et de Van der Waals. C'est ce qui explique que les HAP de faible poids moléculaire peuvent plus facilement pénétrer à travers la cuticule de la feuille que ceux de plus haut poids moléculaire. Les HAP gazeux peuvent, quant à eux, pénétrer à travers les stomates de la feuille (Fismes et coll.,

2002).

Les HAP de faible poids moléculaires (ceux ayant 2 à 3 cycles) peuvent être absorbé à l'intérieur de la plantes, mais ils ne semblent pas s'y accumuler de façon très importante. Les HAP de haut poids moléculaires (soit 5 cycles ou plus) peuvent s'absorber aux racines des plantes, mais n'ont pas tendance à se déplacer et s'accumuler dans les plantes (Fismes et coll, 2002 ; CCME, 2008).

La capacité des contaminants organiques tel que les HAP, à pénétrer dans les racines de la plante à partir du sol dépend de leur solubilité dans l'eau, de leur constante de Henry (reliée à la pression partielle du composé et à sa concentration gazeuse dans la solution) et de leur caractère lipophile.

Le contenu du sol en matière organique, le PH, la température, l'humidité, le type de contaminants chimiques ainsi que les caractéristiques des végétaux (incluant la surface des racines disponibles, le stade de croissance de la plante et sont contenus en lipides) sont également d'autres facteurs qui influencent l'adsorption des HAP (Kipopoulou et coll, 1999, CCME ,2008).

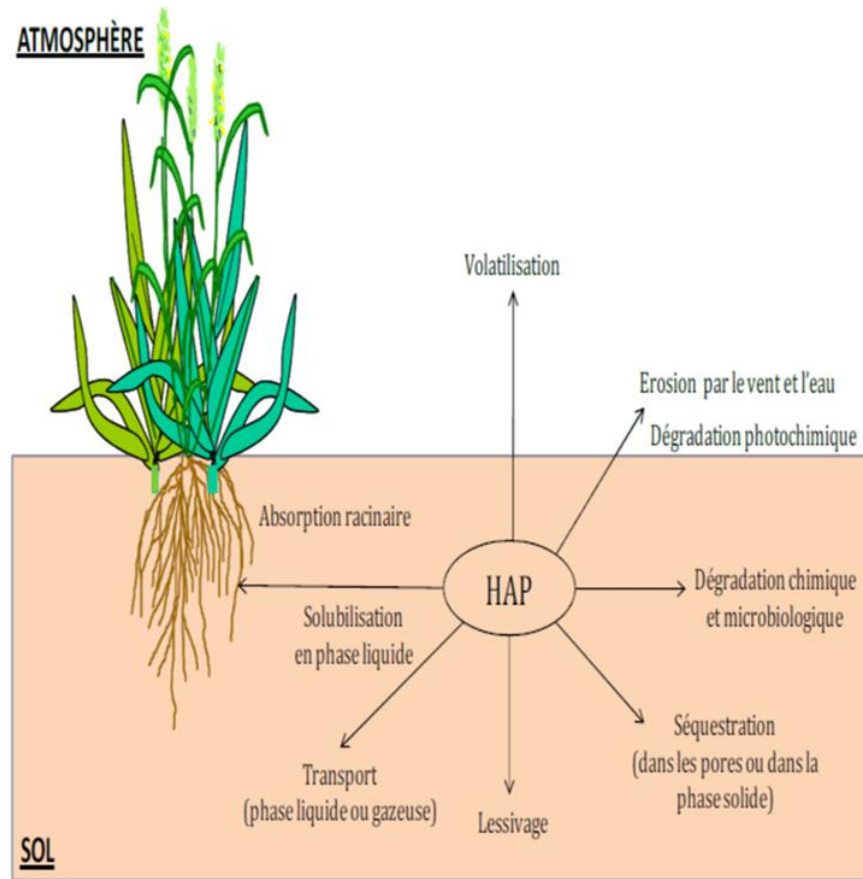


Figure5 : schéma globale du devenir des HAP dans le sol d'après Alcaide et al (2000)

Conclusion :

La concentration des HAP dans les matrices végétales changent dans les différentes parties des plantes et elle est influencées par plusieurs phénomènes, on va vérifier le taux des HAP par une méthode d'analyse chromatographique pour un type de végétaux qui se trouve à proximité des centres de distribution des hydrocarbures.

Chapitre 2 : Echantillonnage et méthodes d'analyse

Dans ce chapitre, nous présentons les différents produits et matériaux utilisés et nous donnons un rappel bibliographique sur les principes fondamentaux des différentes méthodes de caractérisation utilisées dans ce travail.

Introduction :

Due à la nature complexe des matrices dans lesquelles les composés d'intérêt sont présentes, la préparation d'échantillon, la détection et l'identification des composés à de niveaux de trace sont des aspects important des méthodes analytiques.

Malgré l'avancé des techniques analytiques, les échantillons sont top complexes pour être analysé sans étapes préalables de traitement de l'échantillon. Cette dernière permet à la fois de fournir un extrait enrichie en composés mais de minimiser au maximum la présence d'interfèrent lors de la détection finale. La préparation de l'échantillon comprend en général l'extraction, la concentration et éventuellement une purification. Le processus analytique globale d'analyse des HAP dans les matrices végétales est schématisé sur la figure 5

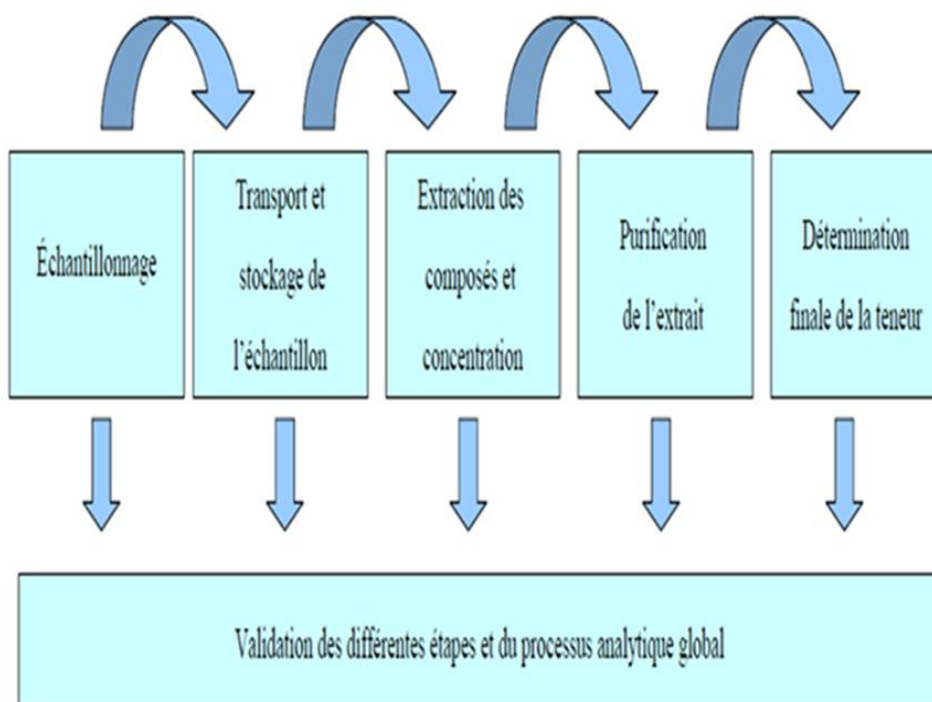


Figure 6 : principales étapes d'une procédure analytique utilisée pour la détermination des HAP dans des échantillons adaptés. (A-Beyer, M-Biziuk, 200)

L'analyse des HAP contenus dans ou sur les végétaux présente une certaine difficulté car les composés sont généralement présentes en faibles proportion dans les plantes contaminées, en outre, certains HAP peuvent être présents sous forme liée et peu extractible ce qui rend difficile leur quantification globale.

I.1-Produits et matériels utilisés :

I.1.1-Matériel et verrerie :

- Des béccher de différent volume.
- Entonnoir.
- Extracteur soxhlet 85ml.
- Réfrigérant.
- Ballon à fond plat 250ml.
- Colonne de purification en verre de 40cm de longueur et de 1cm de diamètre.
- Mortier en céramique.
- Papier filtre.
- Eprouvette gradué de 250ml et 50ml.
- coton préalablement lavé avec l'acétone et séché.

I.1.2- produits et solvant :

Dichlorométhane, Hexane, Acétone, Ethanol absolue, Méthanol, Acétonitrile pour HPLC Sulfate de sodium anhydre, Oxyde d'alumine basique, Gel de silice, Hydroxyde de potassium, Chlorure de sodium.

➤ Dichlorométhane :

Le dichlorométhane ou chlorure de méthylène est un composé chimique se présentant à température ambiante comme un liquide incolore et volatil émettant une odeur douceâtre relativement forte pouvant mettre certaines personnes mal à l'aise. Il est surtout utilisé comme solvant de composés organiques.

❖ **Propriétés chimiques**

Tableau 6 : Propriétés chimique du dichlorométhane

Nom IUPAC	dichlorométhane
Synonyme	chlorure de méthylène
Apparence	liquide incolore, volatil, odeur éthérée
Formule brute	CH ₂ Cl ₂
Masse molaire	84,933 ± 0,005 g/mol

❖ **Propriétés physiques:**

Tableau 7: Propriétés physique du dichlorométhane

Température de fusion	-97°C
Température d'ébullition	40°C
Densité du liquide	1,328
Solubilité	Dans l'eau à 20°C : 13 à 20 g.l ⁻¹

➤ **Hexane :**

L'hexane, ou n-hexane, est un hydrocarbure saturé de la famille des alcanes, L'hexane est un solvant utilisé en chimie organique (notamment pour les réactions et les extractions)

❖ **Propriétés chimiques :**

Tableau 8 : propriétés chimiques d'hexane

Nom IUPAC	hexane
Synonyme	n-hexane
Apparence	liquide incolore, volatil, d'odeur caractéristique
Formule brute	C ₆ H ₁₄
Masse molaire	86,1754 ± 0,0058 g/mol

❖ **Propriétés physiques :**

Tableau 9: propriétés physique d'hexane

Température de fusion	-95,3 °C
Température d'ébullition	68,73 °C
Masse volumique	0,6594 g.cm ⁻³
Solubilité	Dans l'eau à 25°C

➤ **Acétone :**

L'acétone est en chimie le composé le plus simple de la famille des cétones c'est un solvant très utilisé dans l'industrie et en laboratoire car elle a l'avantage de solubiliser de nombreuses espèces organiques et parce qu'elle est miscible avec l'eau.

❖ **Propriété chimique :**

Tableau 10: propriétés chimiques de l'acétone

Nom IUPAC	Propan-2-one
Synonyme	β-cétopropane, Diméthyl cétone
Apparence	liquide transparent, inflammable, d'odeur caractéristique
Formule brute	C ₃ H ₆ O
Masse molaire	58,0791 ± 0,0031 g/mol

❖ **Propriétés physiques :**

Tableau 11: propriétés physiques de l'acétone

Température de fusion	-94,6 °C
Température d'ébullition	56,05 °C
Masse volumique	0,783g.cm ⁻³
Solubilité	miscible avec l'eau, l'éthanol, l'oxyde de diéthyle, les esters ¹ , le benzène, le diméthylformamide, le chloroforme, la plupart des huiles

➤ **Méthanol :**

Le méthanol est un composé chimique de formule : CH₃OH (souvent abrégé en MeOH). C'est le plus simple des alcools. C'est un liquide léger, volatil, incolore, inflammable, toxique avec une odeur caractéristique un peu dégoûtante.

❖ **Propriétés chimiques :**

Tableau 12: propriétés chimiques du méthanol

Nom IUPAC	méthanol
Synonyme	alcool méthylique
Apparence	liquide incolore, d'odeur caractéristique
Formule brute	CH ₄ O
Masse molaire	32,0419 ± 0,0014 g/mol

❖ **Propriétés physiques :**

Tableau 13: propriétés physique du méthanol

Température de fusion	-98°C
Température d'ébullition	65 °C
Masse volumique	0,7910 g·cm ⁻³
Miscibilité	miscible dans l'eau et dans l'acétone en toute proportion

➤ **Ethanol absolue :**

L'alcool absolu ou alcool déshydraté est de l'éthanol anhydre pur (C₂H₅OH) ne contenant pas plus de un pour cent d'eau.

❖ **Propriétés chimiques :**

Tableau 14: propriétés chimique de l'éthanol

Nom IUPAC	Éthanol
Apparence	liquide incolore, d'odeur caractéristique
Formule brute	C ₂ H ₆ O
Masse molaire	46,0684 ± 0,0023 g/mol

❖ **Propriétés physiques :**

Tableau 15: propriétés physiques de l'éthanol

Température de fusion	-117 °C
Température d'ébullition	79 °C
Masse volumique	0,789 g.cm ⁻³
Solubilité	Miscible dans l'eau

➤ **Acétonitrile pour HPLC :**

L'acétonitrile est le nitrile organique le plus simple, et très souvent utilisé en tant que solvant, il est aussi souvent utilisé dans les colonnes de chromatographie, et en chromatographie liquide à haute performance (HPLC), où il sert de phase mobile pour la séparation de molécules.

❖ **Propriétés chimiques :**

Tableau 16: propriétés chimiques d'acétonitrile

Nom IUPAC	Acétonitrile
Synonyme	Cyanure de méthyle, Cyanométhane, Ethanenitrile
Apparence	liquide incolore, d'odeur sucrée
Formule brute	C ₂ H ₃ N
Masse molaire	41,0519 ± 0,002 g/mol

❖ **Propriétés physiques :**

Tableau 17: propriétés physiques d'acétonitrile

Température de fusion	-46 °C
Température d'ébullition	82 °C
Masse volumique	0,8 g.cm ⁻³
Solubilité	Miscible avec l'acétone, l'acétate d'éthyle, l'acétate de méthyle, le benzène, le chloroforme, le chlorure d'éthylène, l'eau, l'éthanol, l'éther diéthylique, le méthanol, les solutions d'acétamide, le tétrachlorure de carbone, de nombreux hydrocarbures insaturés; immiscible avec les hydrocarbures saturés

➤ **Sulfate de sodium anhydre :**

Le sulfate de sodium est un composé chimique courant formé d'un ion sulfate et de deux ions sodium. Lorsqu'il est anhydre, il prend l'apparence d'un solide cristallin blanc de formule chimique Na_2SO_4 . Le sulfate de sodium anhydre est utilisé comme agent de séchage pour les solutions organiques.

❖ **Propriétés chimiques :**

Le sulfate de sodium est très stable chimiquement. Il ne se décompose pas même sous l'effet de la chaleur

Tableau 18: propriétés chimique de sulfate de sodium

Nom IUPAC	Sulfate de sodium
Apparence	solide cristallin blanc
Formule brute	Na_2SO_4
Masse molaire	$142,042 \pm 0,006 \text{ g/mol}$

❖ **Propriétés physiques :**

Tableau 19: propriétés physiques de sulfate de sodium

T° fusion	884 °C
Solubilité	$47,6 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (eau, 0 °C), $427 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (eau, 100 °C)
Masse volumique	$2.68 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$

➤ **Oxyde d'alumine basique :**

L'alumine ou oxyde d'aluminium de formule Al_2O_3 est le plus abondant oxyde métallique de la croûte ter-res-tre après la silice. C'est une poudre blanche très stable.

❖ **Propriétés chimiques :**

Tableau 20: propriétés chimiques d'oxyde d'alumine

Nom IUPAC	Alumine
Synonyme	oxyde d'aluminium, bauxite
Formule brute	Al_2O_3
Masse molaire	$101,9613 \pm 0,0009 \text{ g/mol}$

❖ **Propriétés physiques :**

Tableau 21: propriété physiques d'oxyde d'alumine

T° fusion	2 054 °C
T° ébullition	3 000 °C
Solubilité	lentement soluble dans les solutions aqueuses alcalines; pratiquement insoluble. Dans les solvants organiques non polaires, l'éther diéthylique, l'éthanol (95 %), l'eau
Masse volumique	3,97 g·cm ⁻³

➤ **Gel de silice :**

Le gel de silice est un hydroxyde de silicium Si(OH)₄. Le gel de silice pour chromatographie sur colonne est composé de gel de silice de qualité supérieure. Sa principale caractéristique est le fait que ce produit peut réaliser la séparation et la purification.

❖ **Propriétés chimiques :**

Tableau 22: propriété chimique de gel de silice

Nom IUPAC	hydroxyde de silicium
Apparence	Poudre blanche
Synonyme	Gel de silice
Formule brute	Si(OH) ₄

❖ **Propriétés physique :**

Tableau 23: propriété physique de gel de silice

T° fusion	1610-1728°C
T° ébullition	2230°C
Solubilité	Insoluble dans l'eau
Masse volumique	2.17-2.66 g.cm ⁻³

➤ **Chlorure de sodium :**

Le chlorure de sodium est un composé chimique de formule NaCl. On l'appelle plus communément sel de table.

❖ **Propriétés chimiques :**

Tableau 24: propriétés chimiques du chlorure de sodium

Nom IUPAC	Chlorure de sodium
Formule brute	NaCl
Masse molaire	58,443 ± 0,002 g/mol
Apparence	Poudre blanche ou cristaux cubiques transparents

❖ **Propriétés physiques :**

Tableau 25: propriétés physique du Chlorure de sodium

T° fusion	801 °C
T° ébullition	1 465 °C
Solubilité	357 g·l ⁻¹ (eau, 25 °C)
Masse volumique	2,17 g·cm ⁻³ (25 °C)

➤ **Hydroxyde de potassium**

L'hydroxyde de potassium, ou plus usuellement la potasse caustique ou simplement la potasse, a pour formule KOH, c'est un composé chimique corrosif, basique.

❖ **Propriétés chimiques :**

Tableau 26: propriétés chimiques de l'hydroxyde de potassium

Nom IUPAC	Hydroxyde de potassium
Formule brute	KOH
Masse molaire	56,1056 ± 0,0005 g/mol
Apparence	solide blanc, inodore

❖ **Propriétés physiques :**

Tableau 27: propriétés physiques de l'hydroxyde de potassium

T° fusion	380 °C
T° ébullition	1 324 °C
Solubilité	dans l'eau à 25 °C : 1 100 g·l ⁻¹
Masse volumique	2,04 g·cm ⁻³

I.2- Echantillonnage et conservation :

Les échantillons sont récoltés dans une zone foliaire (station d'essence) à proximité de Maghnia .



Fig : site choisis Maghniyya

S1 et S2 Sont à égales distances des pompes de distributions à élévations

S3 se trouve proche des bacs de stockage sous terrains

-Les prélèvements sont réalisés à près une période sans pluie.

-Les plantes (feuilles , racines) sont prélevées manuellement et coupées à environ 5 cm au-dessus du sol et ensuite placées dans un contenant de verre ambré, sont recouvertes avec du papier aluminium avant de les placer au réfrigérateur à environ 4°C.

- Les plantes utilisées durant ce travail sont : laurier rose et les Genévrier.

▪ Laurier rose :

Le Laurier rose (*Nerium oleander*) est un arbuste de la famille des Apocynacées originaire de la rive sud de la mer Méditerranée. Il s'agit de la seule espèce du genre *Nerium*. Il est parfois appelé Oléandre et plus rarement Rosage ou Nérion ou Lauraine.



Figure 7 : laurier rose

▪ **Genévrier :**

Le genre botanique des genévriers, nom scientifique *Juniperus*, famille des Cupressacées, comporte un grand nombre d'espèces, des variétés « rigides » aux aiguilles piquantes et des variétés « souples » au feuillage en écailles.

D'origine américaine, asiatique, africaine et européenne, cet arbre atteint couramment 4 à 15 m de haut dans la nature, et même 25 à 30 m pour certaines espèces. Il supporte les sols pauvres, éventuellement très calcaires (il est souvent associé aux coteaux calcaires en France), sablonneux et secs, jusqu'à 4 500 m d'altitude.



Figure 8 : Genévrier

I.3- Préparation d'échantillons :

La détermination de la concentration des HAP s'effectue principalement en 4 étapes :

- La première partie consiste à faire un prétraitement de notre échantillon (séchage, broyage, tamisage
- La seconde étape consiste à extraire les HAP à l'aide du dichlorométhane.
- Dans la troisième étape, il y a le transfert de solvant du dichlorométhane à l'hexane si les HAP sont purifiés sur une colonne de gel de silice/alumine.
- Finalement, l'extrait concentré puis analysé par chromatographie en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse (CPG-SM) ou par chromatographie en phase liquide haute performance associée à un détecteur UV-visible (HPLC-UV) ou à un détecteur fluorimétrie (HPLC-F).

I.3.1- Prétraitement des échantillons :

- Pour l'extraction soxhlet : Les échantillons (feuilles, racines) sont séchés à l'étuve à 45°C pendant 18h, puis broyés à l'aide d'un pilon en céramique.
- Pour la saponification : les feuilles sont coupées en petit morceau puis congelées

I.3.2-Extraction des hydrocarbures :

L'extraction permet d'isoler les composés à étudier de la matrice de prélèvement, et de les transférer dans un solvant approprié à la technique d'analyse. Deux techniques sont classiquement utilisées : l'extraction aux ultrasons et l'extraction par Soxhlet.

Les extractions de matrice solide par méthode de soxhlet a pour principe le partage des composés, entre la phase liquide et la matrice solide, qui se produit lorsque les analytes passent de la matrice d'échantillon vers le solvant judicieusement choisie. L'extraction de type soxhlet permet le traitement de solide de toute taille avec des solvants en phase liquide. La matrice solide est introduite dans une cartouche de cellulose fixé sur un réservoir de solvant qui est surmonté d'un réfrigérant. Le solvant chauffé est vaporisé puis condensé au niveau du réservoir et reste en contact avec le solide. Quand le volume de solvant condensé dans le réservoir atteint un certain niveau, le solvant repart dans le chauffe ballon par un phénomène de siphon pour être à nouveau décondensé tout en entraînant les composés d'intérêt dans le ballon où il seront finalement concentrés après plusieurs cycles d'extraction, cette méthode permet d'obtenir des rendements satisfaisantes pour de nombreuse composés.

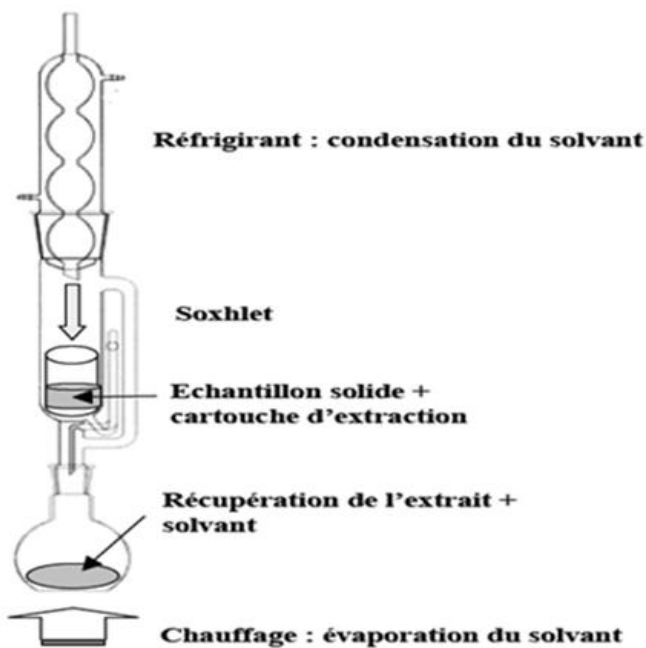


Figure 9: système d'extraction au soxhlet

I.3.3-Evaporation de solvant :

Pour l'évaporation du solvant utilisé lors de l'extraction on utilise un évaporateur rotatif

L'évaporateur rotatif (ou rotavap) est un appareil utilisé afin de distiller rapidement des solvants, dans le but de concentrer partiellement une solution ou pour concentrer à sec (on enlève tout le solvant) une solution ou une suspension. Le principe de cet appareil est basé sur la distillation sous vide (partiel). La solution est mise en rotation pour éviter des bulles d'ébullition trop grosses ou mousseuses, puis la pression est diminuée grâce, généralement, à une trompe à eau et la solution est chauffée-en fonction du solvant à éliminer- pour accélérer l'évaporation.

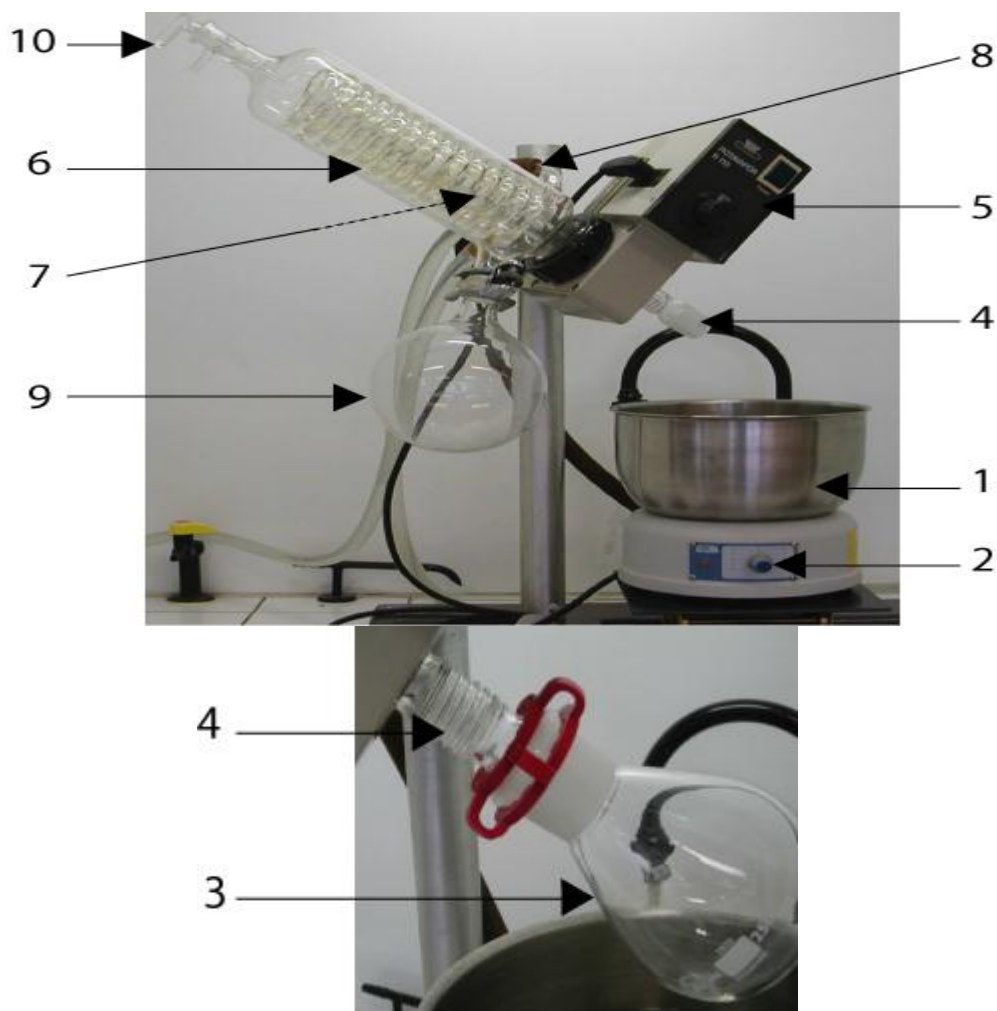


Figure 10 : évaporateur rotatif

1. Bain-marie d'eau distillée
2. Thermostat
3. Ballon contenant le solvant à extraire
4. Conduit de vapeur
5. Bouton pour le réglage de la vitesse de rotation du ballon
6. Réfrigérant
7. Entrée et sortie d'eau du réfrigérant
8. Connexion à la trompe à eau : notice trompe à eau
9. Ballon récepteur du solvant extrait
10. Robinet de mise sous vide

I.3.4- Purification :

L'étape de purification permet d'éliminer une partie des composés Co extraits pouvant représenter une source potentielle de bruit de fond lors de l'analyse. La méthode couramment utilisée pour les HAP est la purification sur cartouche dite Solid Phase Extraction (SPE).

L'extraction liquide-solide est basée sur la distribution des composés entre la phase liquide représentative de l'échantillon et la phase solide qui est un adsorbant. Elle s'apparente à un processus chromatographique dans lequel l'adsorbant joue le rôle de la phase stationnaire et l'échantillon percolé constitue la phase mobile.

En effet, si le soluté présente une forte affinité vis-à-vis l'adsorbant alors il y restera totalement fixé au cours de la percolation de l'échantillon. La matrice de l'échantillon peut alors être éliminée en partie ou totalement grâce à une étape de lavage. Les composés d'intérêt sont ensuite élués par un solvant de grande force éluante.

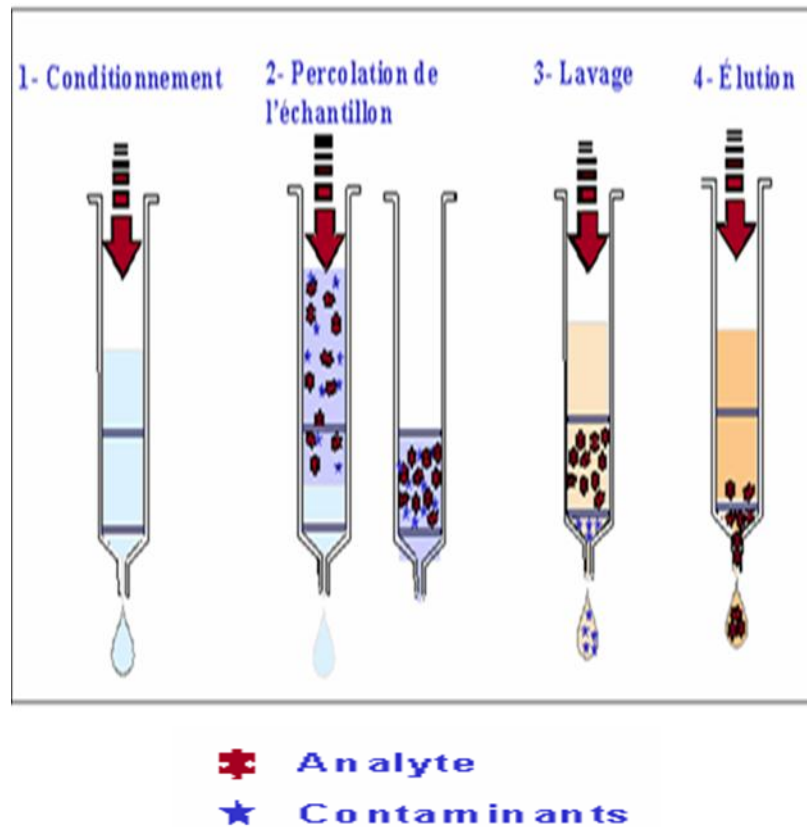


Figure 11: Principe d'extraction sur phase solide

I4- Analyse d'échantillons :

I.4.1- UV-Visible :

La détermination des longueurs d'onde des rayonnements électromagnétiques absorbés se fait grâce à l'utilisation d'un spectrophotomètre.

La spectrophotométrie est une méthode d'analytique quantitative qui consiste à mesurer l'absorbance ou la densité optique d'une substance chimique donnée en solution.

L'absorbance de chaque élément est proportionnel à son concentration, qui est liée par la loi de Beer-Lambert : Lorsqu'une lumière d'intensité I_0 passe à travers une solution, une partie de celle-ci est absorbée par le(s) soluté(s). L'intensité de la lumière I transmise est donc inférieure à I_0 . On définit l'absorbance de la solution comme :

$$A = \log \left(\frac{I_0}{I} \right)$$

La relation de Beer-Lambert décrit que, à une longueur d'onde λ donnée, l'absorbance d'une solution est proportionnelle à la concentration des espèces de la solution, et à la longueur du trajet optique :

$$A_{\lambda} = \epsilon_{\lambda} l c$$

A_{λ} : est l'absorbance ou la densité optique de la solution pour une longueur d'onde λ .

$(\text{mol.l}^{-1}.\text{m}^{-1})$: est la concentration de l'espèce absorbante.

(m) : est la longueur du trajet optique.

ϵ_{λ} ($\text{mol}^{-1}.\text{l}.\text{m}^2$) : est le coefficient d'extinction molaire de l'espèce absorbante en solution. Il rend compte de la capacité de cette espèce à absorber la lumière, à la longueur d'onde λ .

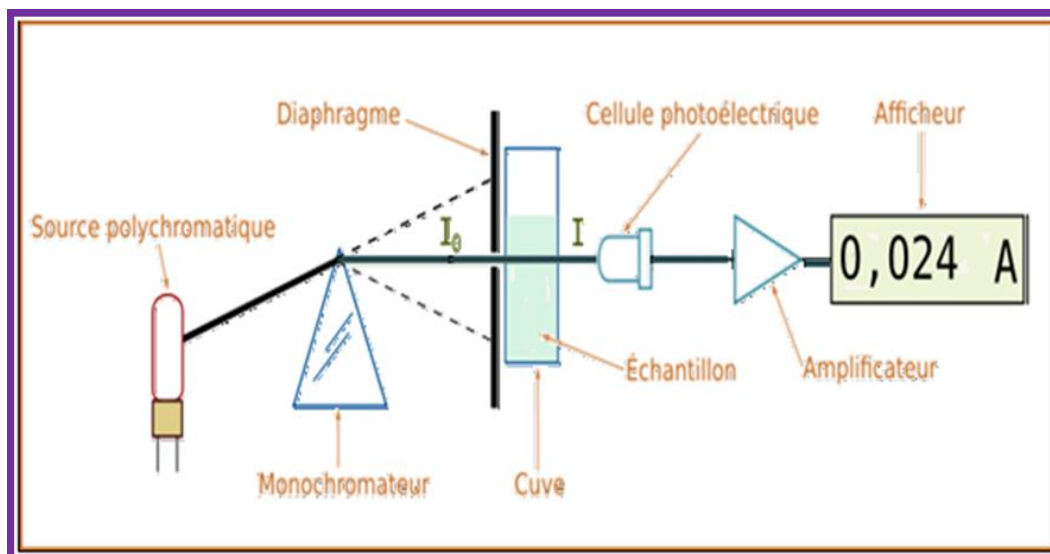


Figure 12: principe d'un spectrophotomètre

Tableau 28: Longueur d'onde maximale d'absorption des 16 HAP dans l'UV

Composé	λ_{max} (nm)	Composé	λ_{max} (nm)
Naphtalène	220	Benz[a]anthracène	287
Acénaphthylène	229	Chrysène	267
Acénaphthène	229	Benzo[b]fluoranthène	256
Fluorène	261	Benzo[k]fluoranthène	307
Phénanthrène	251	Benzo[a]pyrène	296
Anthracène	252	Benzo[ghi]pérylène	300
Fluoranthène	236	Dibenz[a,h]anthracène	297
Pyrène	240	Indéno[1,2,3-cd]pyrène	250



Figure 13: Un spectrophotomètre UV-Vis

I.4.2-HPLC :

Plusieurs méthodes couplées sont couramment utilisées pour l'analyse quantitative et qualitative des HAP. On peut distinguer les méthodes basées sur la séparation des HAP en phase liquide (chromatographie en phase liquide couplée à un détecteur UV (HPLC-UV), ou couplée à un fluorimètre (HPLC-FLUO)) de celles basées sur la séparation des HAP en phase gazeuse (chromatographie gazeuse couplée à un détecteur spectromètre de masse (GC-MS) ou à un détecteur à ionisation de flamme (GC-FID)). Dans notre travail on va utiliser HPLC-UV.

Le principe de telle analyse est le suivant : l'échantillon à doser est injecté dans une colonne remplie d'une phase stationnaire de fine granulométrie puis il est poussé dans la colonne à l'aide d'un mélange de solvant.

Les différents constituants du mélange sont inégalement retenus par la colonne en raison de différences d'affinité avec la phase solide. Il en résulte que les constituants du mélange injecté se déplacent tous moins vite que la phase mobile et avec les vitesses de déplacement différentes, ils sont ainsi élués de la colonne les uns après les autres et donc séparés, un détecteur placé en sortie de colonne permet d'obtenir un chromatogramme.

En HPLC, les détecteurs les plus souvent utilisés pour l'analyse des HAP sont le détecteur à fluorescence, le détecteur UV-Visible et le détecteur UV à barre de diode. Les détecteurs UV-Visible sont les détecteurs les plus employés en chromatographie liquide en raison de leur caractère universel, de la relative transparence dans l'UV de

nombreux solvants, et de la simplicité de la méthode. Toutefois, pour l'analyse de HAP présents à l'état de traces, l'utilisation de ce détecteur peut être réduite par ses limites de détection médiocre (de l'ordre du dixième de ng injectés, selon Chiu et al.,1997). Le détecteur UV à barette de diode fournit en plus le spectre d'absorption de chaque composé. Les spectres des composés obtenus en temps réel et leur rapprochement avec les spectres disponibles en bibliothèque permettent l'identification des composés. Toutefois, les limites de détection atteintes par ce type de détecteur restent du même ordre de grandeur que le détecteur UV.

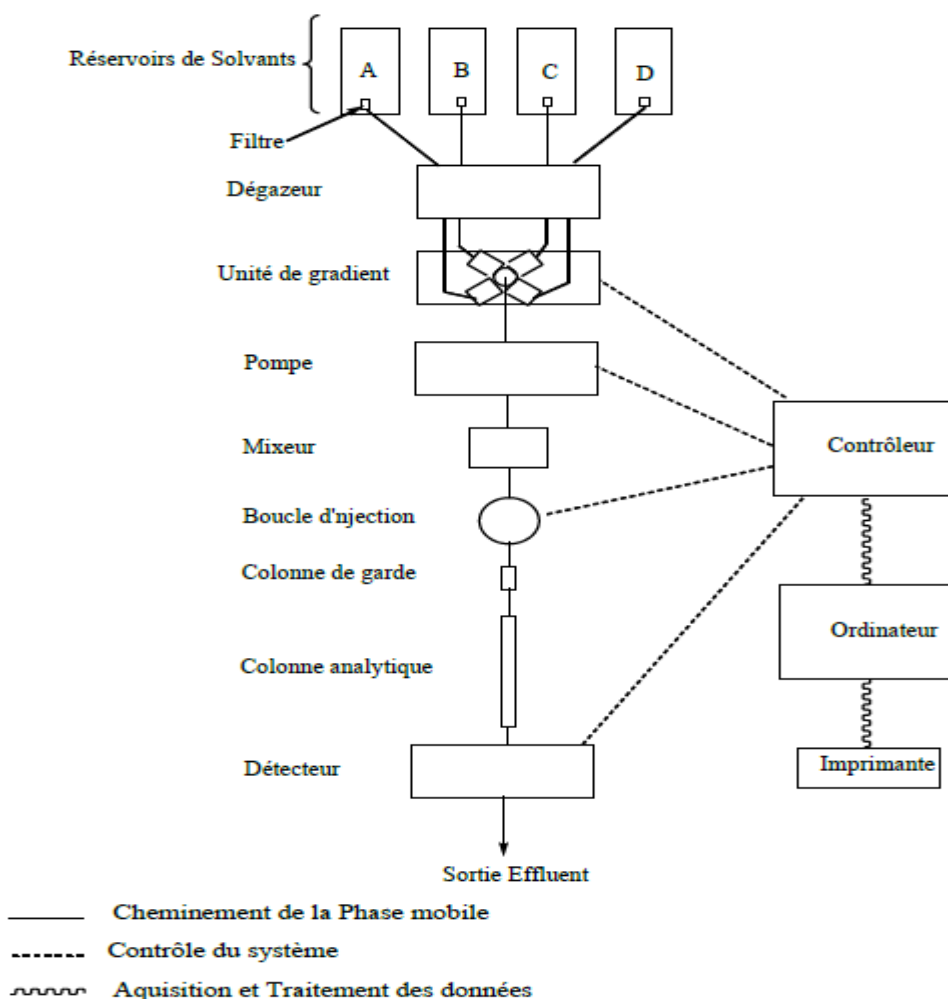


Figure 14: Diagramme du système HPLC utilisé

✓ Condition chromatographique

- **méthode :**
Chromatographie liquide haute performance, phase inverse (RP-HPLC).
Détection UV.
- **Colonne RP-HPLC :**
Silice greffé C18.
Longueur = 25 cm.
Diamètre interne = 4,6 mm.
Diamètre des particules = 5 μ m.
- **Eluant :**
Méthanol, acétonitrile, avec un mode gradient.

Tableau 29: mode gradient utilisé lors de l'analyse

Temps (min)	% méthanol
2	60
20	0
30	0
31	60

- **Temps d'analyse :** 31 minutes.
- **Température :** 25-26°C.
- **Débit d'éluant :** de l'ordre de 1 ml/min.
- **Volume injecté :** 20 μ l.
- **Etalonnage :** externe avec une solution commerciale des HAP.
- **Longueur d'onde optimale pour l'absorption UV :** 254nm.



Figure 15 : Système HPLC du Laboratoire de Recherche

II. Modes opératoire :

❖ Désactivation de certains produits :

Généralement, le gel de silice, l'oxyde d'alumine et le sulfate de sodium peuvent être utilisés directement à partir du récipient d'origine, sans aucun traitement. Toutefois, des lots de silice et d'alumine peuvent présenter une faible activité se traduisant par de mauvaises séparations chromatographiques. Dans de telles circonstances, ces deux doivent faire l'objet du traitement suivant :

+ Désactivation de l'oxyde d'alumine :

- On prend 89g d'alumine basique, on le chauffe dans l'étuve pendant 8h à 150°C.
- On le laisse refroidir dans le dessiccateur.
- On pèse 11g d'eau distillé et on l'ajoute à l'alumine activé, on agite et on le laisse reposer désactivé au moins 16h avant l'emploi.

+ Désactivation du gel de silice :

- Dans un bécher de 100ml, on pèse 50g de gel de silice on ajoute 60ml d'un mélange dichlorométhane- méthanol (50 :50).
- On laisse le bécher sous la hotte jusqu'à séchage du produit, puis on le met dans l'étuve pendant une nuit à 135°C.

- On laisse le bécher refroidir puis on ajoute une masse de 5% en eau distillé, on agite pour assurer l'élimination complète des grumeaux et l'écoulement normal de la poudre.

Désactivation du Sulfate de sodium anhydre :

On met une quantité de sulfate de sodium dans un bécher et on le place dans le four pendant 6h à 600°C, puis on le place dans un dessiccateur.

❖ 1ere méthode d'extraction (extraction soxhelt) :

▪ Extraction :

- On pèse 10g d'échantillon déjà séché, on ajoute 10g de Na_2SO_4 désactivé et on mélange bien.
- On transvase le tout dans l'extracteur soxhlet préalablement cotonné puis on ajoute du coton en dessus.
- On ajoute 250ml du dichlorométhane dans un ballon à fond plat et on effectue le montage soxhlet, on chauffe jusqu'à l'obtention d'un rythme de 20cycle/heure pendant 3h.

▪ Evaporation :

- On laisse l'extrait refroidir et on transfère tout le dichlorométhane rester dans l'extracteur au ballon et on rince avec le dichlorométhane et on le transfère au ballon.
- On évapore le ballon sous vide à 40°C jusqu'à l'obtention d'un volume de 2ml puis on ajoute 20ml d'hexane et on évapore à nouveau jusqu'à l'obtention d'environ 2ml d'extrait.

▪ Purification :

- On pèse 6g de silice et 3g d'alumine désactivé on les mélange et on les introduit dans une burette préalablement cotonné, puis on ajoute 1cm de sulfate de sodium, on conditionne la colonne avec 20ml d'hexane.
- Lorsque l'hexane s'écoule complètement, on met l'extrait sur la surface de sulfate de sodium et on élue 30ml d'hexane, on ferme le robinet lorsque l'hexane

arrive à environ 0.5cm de la surface de Na_2SO_4 , cette fraction peut être jeté car elle ne contient pas les HAP.

- On ajoute à la colonne 70ml de dichlorométhane, on ouvre le robinet et on laisse la colonne s'égoutter complètement, c'est cette dernière fraction qui contient les HAP.
- **Evaporation :**
- On évapore la dernière fraction jusqu'à un volume approximative de 2ml à l'aide d'un rota vapeur dans la température du bain ne dépasse pas 40°C.
- L'extrait est prêt pour l'analyse.

❖ 2eme méthode d'extraction (saponification) :

- **Saponification :**
- On met les feuilles congeler dans un ballon de 250ml, on ajoute 40ml l'éthanol absolue et 2g de KOH, on place le réfrigérant on met le tout dans un bain marie à température entre 60 et 80°C pendant 3h.
- **Décantation :**
- On laisse le mélange refroidir puis on filtre.
- On ajoute au mélange filtré 30ml d'hexane et 30ml d'eau distillé, on met le tout dans une ampoule à décanté, on agite bien et on ouvre le robinet pour le dégazage, on laisse le mélange décanter jusqu'à l'obtention de deux phases.
- On récolte la fraction organique et on ajoute à cette dernière 1g de NaCl.
- **Purification :**
- On remplit une colonne préalablement cotonné avec 10g d'un mélange silice alumine d'une fraction 2 :1 , et 1 cm de Na_2SO_4 on la conditionne avec 20ml d'hexane.
- 20ml d'extrait est élué avec 20ml d'hexane puis 10ml d'hexane-dichlorométhane (5 :5) et enfin avec 10ml de dichlorométhane-éthanol (5 :5).
- A la fin on ajoute 150µl de dichlorométhane.
- **Evaporation :**
- On évapore l'extrait purifiés dans un rota vapeur dans la température du bain ne dépasse pas 40°C jusqu'à l'obtention d'un volume de 2ml.

Chapitre 3 : Résultats et discussion

I-Analyse par UV-VI :

I.1- préparation des solutions étalons :

A partir de la solution mère commerciale on a préparé 5 solutions avec un prélèvement de 100µl et 50µl respectivement.

$$C' = (0.1 * C_0) / 10$$

$$C'' = (0.05 * C_0) / 10$$

La dilution est faite dans une solution méthanol-acétonitrile(90 :10).

Les concentrations (µg/ml) sont regroupées dans le tableau suivant :

Tableau 30: Concentration des solutions étalons

composés	C ₀	C'	C''	C''1	C''2	C''3
Naphtalène	500	5	2.5	0.05	0.025	2.5.10 ⁻³
Acénaphthylène	500	5	2.5	0.05	0.025	2.5.10 ⁻³
Acénaphthène	1000	10	5	0.1	0.05	5.10 ⁻²
Fluorène	100	1	0.5	0.01	5.10 ⁻³	5.10 ⁻⁴
Phénanthrène	40	0.4	0.2	4.10 ⁻³	2.10 ⁻³	2.10 ⁻⁴
Anthracène	20	0.2	0.1	2.10 ⁻³	1.10 ⁻³	4.10 ⁻⁴
Fluoranthène	50	0.5	0.25	5.10 ⁻³	2.5.10 ⁻³	2.5.10 ⁻⁴
Pyrène	100	1	0.5	0.01	5.10 ⁻³	5.10 ⁻⁴
Benz[a]anthracène	50	0.5	0.25	5.10 ⁻³	2.5.10 ⁻³	2.5.10 ⁻⁴
Chrysène	50	0.5	0.25	5.10 ⁻³	2.5.10 ⁻³	2.5.10 ⁻⁴
Benzo[b]fluoranthène	20	0.2	0.1	2.10 ⁻³	1.10 ⁻³	1.10 ⁻⁴
Benzo[k]fluoranthène	20	0.2	0.1	2.10 ⁻³	1.10 ⁻³	1.10 ⁻⁴
Benzo[a]pyrène	50	0.5	0.25	5.10 ⁻³	2.5.10 ⁻³	2.5.10 ⁻⁴
Dibenz[a,h]anthracène	200	2	1	0.02	1.10 ⁻²	1.10 ⁻²

Benzo[ghi]pérylène	80	0.8	0.4	8.10^{-3}	4.10^{-3}	4.10^{-4}
Indéno[1,2,3-cd]pyrène	50	0.5	0.25	5.10^{-3}	$2.5.10^{-3}$	$2.5.10^{-4}$

I.2- Courbes d'étalonnages :

Dans une étude qualitative par UV-visible, il faut tracer les courbes d'étalonnage pour chaque molécule qu'on veut identifier dans notre extrait et voir les absorbances correspondant à la longueur d'onde maximale. Dans notre cas on doit identifier 16 HAP ce qui revient à tracer 16 courbes.

On a une solution étalon qui contient les 16 HAP avec des concentrations différentes pour chacune, donc on aura 16 courbes mais avec des même absorbance du mélange.

On a pris 150µl de l'extrait et on a complété jusqu'à 5ml par un mélange de méthanol-acétonitrile (90-10)

• Courbe d'étalonnage du naphthalène :

Concentration µg/ml	Absorbance
5	3,732
0.05	0,236
0.025	0,167

Tableau 31 : Variation de l'Absorbance en fonction de la concentration du naphthalène

0.0025	0,136
--------	-------

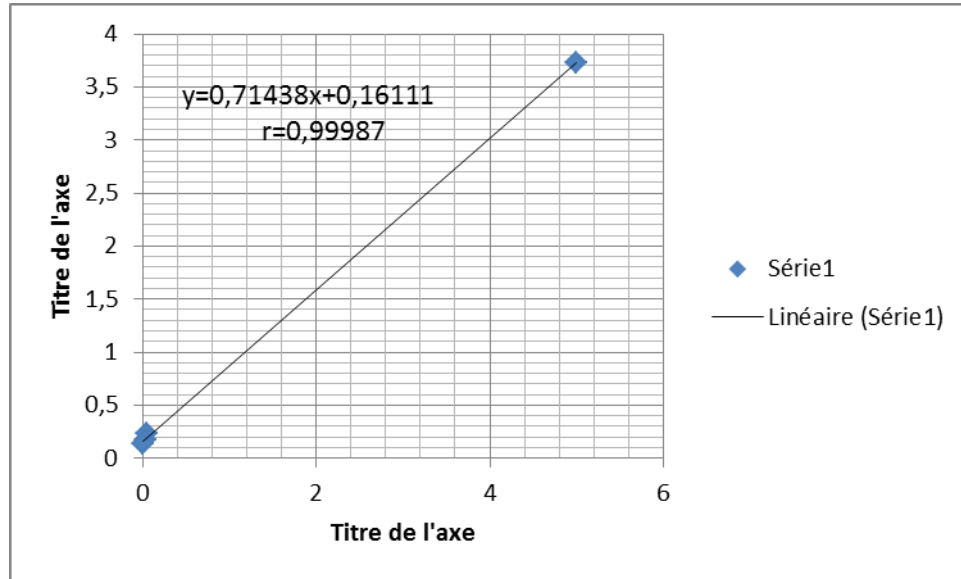


Figure 16: Courbe d'étalonnage du naphtalène

Tableau 32: Concentration du naphtalène dans nos échantillons :

échantillons	Longueur d'onde	absorbance	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)
R1 SOX	219	0.5264	2.5183
F1 SOX	207	0.5829	9.8400
F1 SAP	/	/	/
R2 SOX	200	0.5797	9.7650
F2 SOX	207	0.2293	1.5900
F2 SAP	222	0.2373	5.5350
R3 SOX	206	0.7337	13.4450
F3 SOX	216	0.3979	5.5233
F3 SAP	201	0.4183	6.0000

Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbance
0.4	3,732
$4 \cdot 10^{-3}$	0,236
$2 \cdot 10^{-3}$	0,167
$2 \cdot 10^{-4}$	0,136

• Courbe d'étalonnage du phénanthrène :

Tableau 33 : Variation de l'Absorbance en fonction de la concentration du phénanthrène

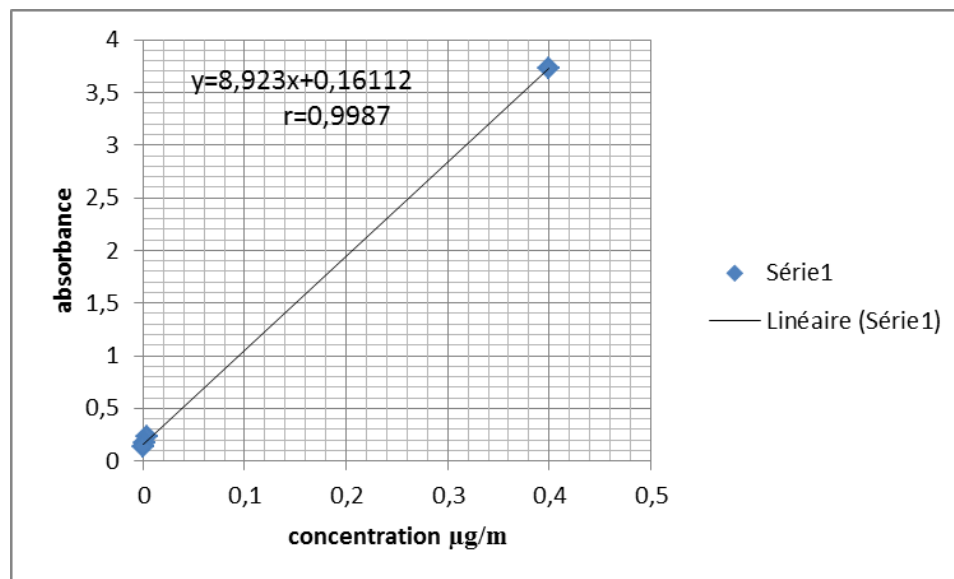


Figure 17: Courbe d'étalonnage du phénanthrène

Tableau 34: Concentration du phénanthrène dans nos échantillons :

échantillons	Longueur d'onde	absorbance	Concentration (µg/ml)
R1 SOX	244	3.7112	6.6300
F1 SOX	244	3.3054	5.8716
F2 SAP	243	3.1331	5.5500
R2 SOX	247	3.4908	6.2183
F2 SOX	/	/	/
F2 SAP	/	/	/
R3 SOX	247	3.5867	6.3983
F3 SOX	245	3.3947	6.0383
F3 SAP	244	3.1463	5.5750

Concentration (µg/ml)	Absorbance
0.2	3,732
2.10-3	0,236
1.10-3	0,167
4.10-4	0,136

- **Courbe d'étalonnage d'anthracène :**

Tableau 35: Variation de l'Absorbance en fonction de la concentration d'anthracène

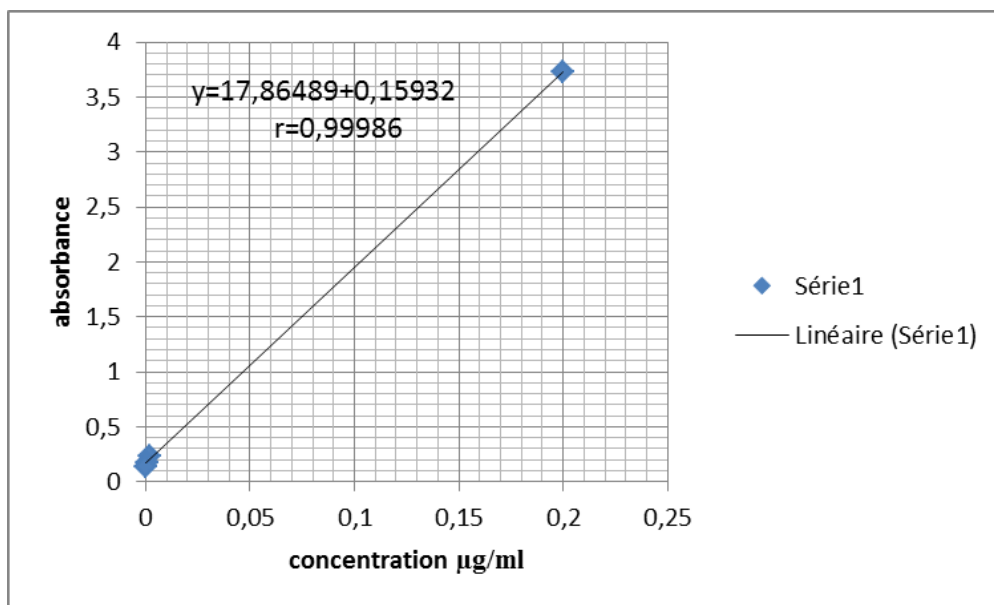


Figure 18 : Courbe d'étalonnage d'anthracène

Tableau 36: Concentration d'anthracène dans nos échantillons :

échantillons	Longueur d'onde	absorbance	Concentration (µg/ml)
R1 SOX	252	3.4191	3.0400
F1 SOX	/	/	/
F2 SAP	/	/	/
R2 SOX	/	/	/
F2 SOX	/	/	/
F2 SAP	/	/	/
R3 SOX	/	/	/
F3 SOX	/	/	/
F3 SAP	/	/	/

• Courbe d'étalonnage du fluorène :

Tableau 37: Variation de l'Absorbance en fonction de la concentration du fluorène

Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbance
1	3,732
0.01	0,236
$5 \cdot 10^{-3}$	0,167
$5 \cdot 10^{-4}$	0,136

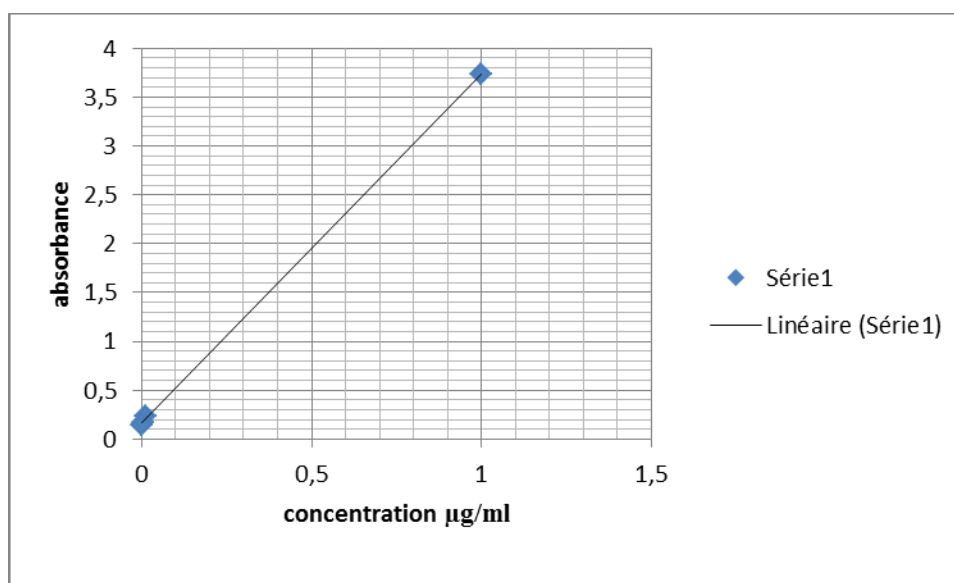


Figure 19: Courbe d'étalonnage du fluorène.

Tableau 38: Concentration du fluorène dans nos échantillons :

Echantillons	Longueur d'onde	absorbance	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)
R1 SOX	262	3.4123	15.1716
F1 SOX	/	/	/
F2 SAP	/	/	/
R2 SOX	/	/	/
F2 SOX	/	/	/
F2 SAP	/	/	/
R3 SOX	258	3.5513	15.8216
F3 SOX	/	/	/
F3 SAP	/	/	/

• **Courbe d'étalonnage du crysène :**

Tableau 39: Variation de l'Absorbance en fonction de la concentration du crysène

Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbance
0.5	3,732
$5 \cdot 10^{-3}$	0,236
$2.5 \cdot 10^{-3}$	0,167
$2.5 \cdot 10^{-4}$	0,136

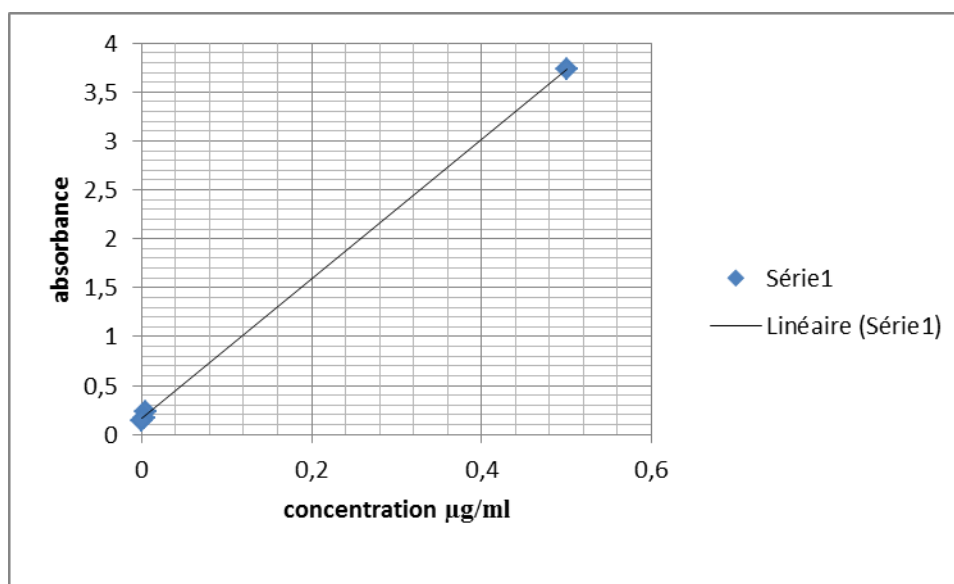


Figure 20 : Courbe d'étalonnage du chrysène

Tableau 40: Concentration du chrysène dans nos échantillons :

Echantillons	Longueur d'onde	absorbance	Concentration (µg/ml)
R1 SOX	274	3.3727	7.4933
F1 SOX	/	/	/
F2 SAP	/	/	/
R2 SOX	271	3.5623	7.9350
F2 SOX	/	/	/
F2 SAP	/	/	/
R3 SOX	269	3.5884	8.0001
F3 SOX	266	3.2757	7.2666
F3 SAP	/	/	/

• Courbe d'étalonnage du pyrène :

Tableau 41: Variation de l'Absorbance en fonction de la concentration du pyrène

Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbance
1	3,732
0,01	0,236
$5 \cdot 10^{-3}$	0,167
$5 \cdot 10^{-4}$	0,136

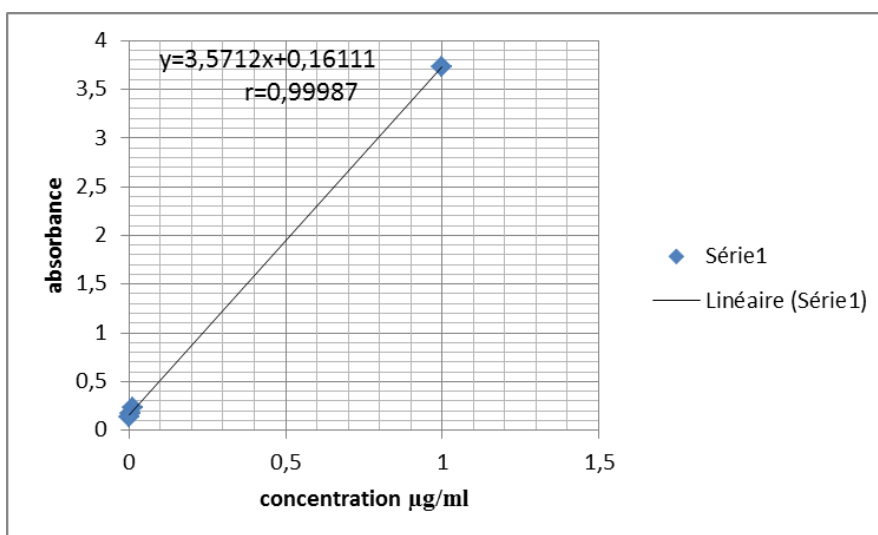


Figure 21: Courbe d'étalonnage du pyrène

Tableau 42: Concentration du pyrène dans nos échantillons :

Echantillons	Longueur d'onde	absorbance	Concentration (µg/ml)
R1 SOX	/	/	/
F1 SOX	/	/	/
F2 SAP	/	/	/
R2 SOX	/	/	/
F2 SOX	/	/	/
F2 SAP	237	2.6789	11.7500
R3 SOX	/	/	/
F3 SOX	/	/	/
F3 SAP	/	/	/

•Courbe d'étalonnage du fluoranthène :

Tableau 43: Variation de l'Absorbance en fonction de la concentration du fluoranthène

Concentration (µg/ml)	Absorbance
0.5	3,732
5.10-3	0,236
2.5.10-3	0,167
2.5.10-4	0,136

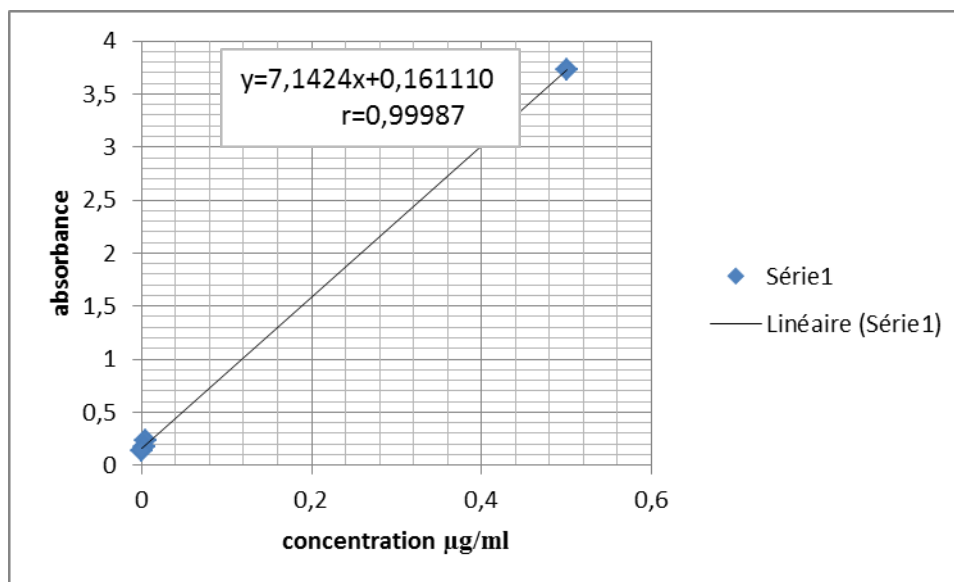


Figure 22 : Courbe d'étalonnage du fluoranthène

Tableau 44: Concentration du fluoranthène dans nos échantillons :

échantillons	Longueur d'onde	absorbance	Concentration (µg/ml)
R1 SOX	/	/	/
F1 SOX	/	/	/
F2 SAP	/	/	/
R2 SOX	/	/	/
F2 SOX	233	1.5981	3.3650
F2 SAP	/	/	/
R3 SOX	/	/	/
F3 SOX	/	/	/
F3 SAP	/	/	/

• Courbe d'étalonnage du Benzo[a] anthracène :

Tableau 45: Variation de l'Absorbance en fonction de la concentration du Benzo[a] anthracène

Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbance
2	3,732
0.02	0,236
0.01	0,167
0.0001	0,136

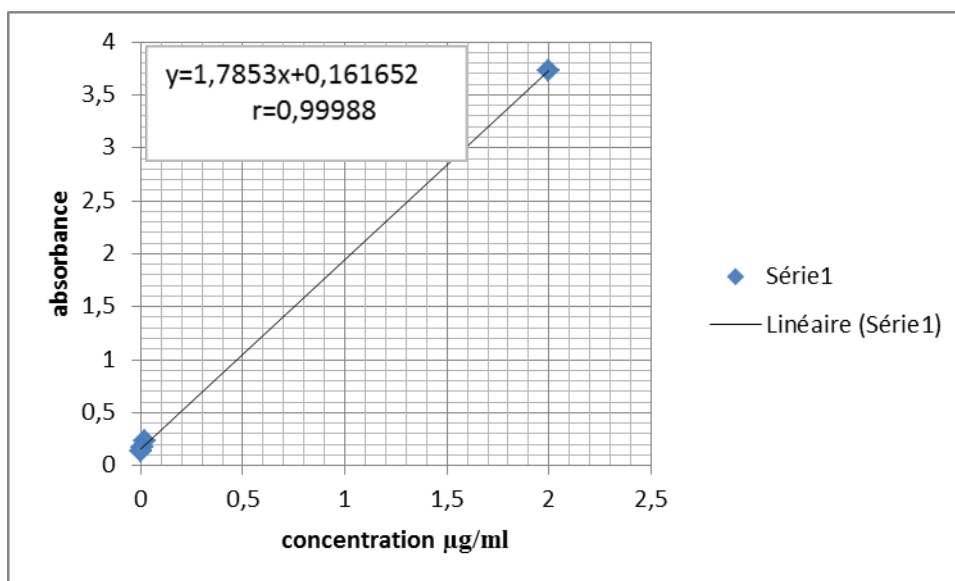


Figure 23: Courbe d'étalonnage du Benzo[a] anthracène

Tableau 46: Concentration du Benzo[a] anthracène dans nos échantillons :

échantillons	Longueur d'onde	absorbance	Concentration (µg/ml)
R1 SOX	/	/	/
F1 SOX	/	/	/
F2 SAP	/	/	/
R2 SOX	286	3.5735	31.8500
F2 SOX	/	/	/
F2 SAP	/	/	/
R3 SOX	274	3.5719	31.8350
F3 SOX	287	3.1681	28.0666
F3 SAP	/	/	/

• **Courbe d'étalonnage du Benzo[a]pyrène :**

Tableau 47: Variation de l'Absorbance en fonction de la concentration du Benzo[a]pyrène

Concentration (µg/ml)	Absorbance
0.5	3,732
0.005	0,236
0.0025	0,167
0.00025	0,136

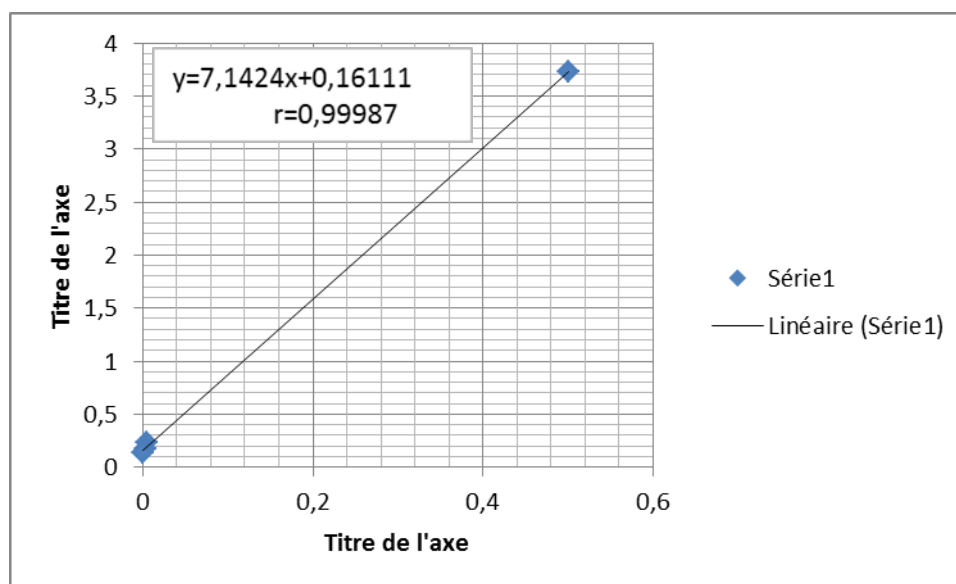


Figure 24 : Courbe d'étalonnage du Benzo[a] pyrène

Tableau 48: Concentration du Benzo[a] pyrène dans nos échantillons :

échantillons	Longueur d'onde	absorbance	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)
R1 SOX	/	/	/
F1 SOX	/	/	/
F2 SAP	/	/	/
R2 SOX	290	3.5851	1.3500
F2 SOX	/	/	/
F2 SAP	/	/	/
R3 SOX	/	/	/
F3 SOX	/	/	/
F3 SAP	/	/	/

• Courbe d'étalonnage du Benzo[k]fluoranthène :

Tableau 49: Variation de l'Absorbance en fonction de la concentration du Benzo[k]fluoranthène

Concentration (µg/ml)	Absorbance
0.2	3,732
0.002	0,236
0.001	0,167
0.0001	0,136

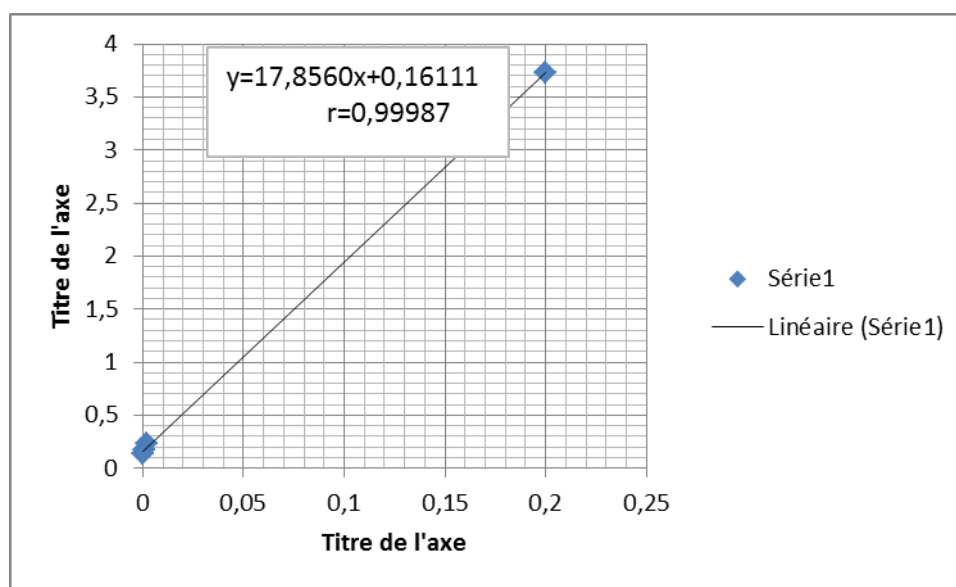


Figure 25: Courbe d'étalonnage Benzo[k]fluoranthène

Tableau 50 : Concentration du Benzo[k]fluoranthène dans nos échantillons :

échantillons	Longueur d'onde	absorbance	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)
R1 SOX	/	/	/
F1 SOX	/	/	/
F2 SAP	/	/	/
R2 SOX	/	/	/
F2 SOX	/	/	/
F2 SAP	/	/	/
R3 SOX	305	3.6108	3.2183
F3 SOX	/	/	/
F3 SAP	/	/	/

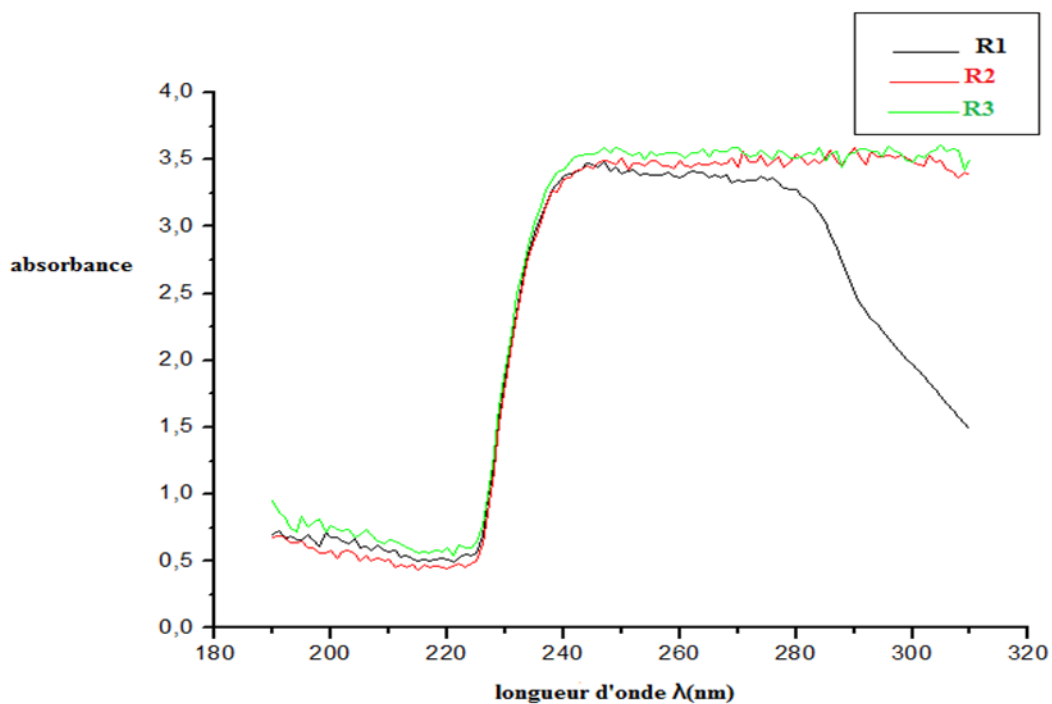


Figure 26: comparaison entre nos échantillons de racine extraite par soxhlet

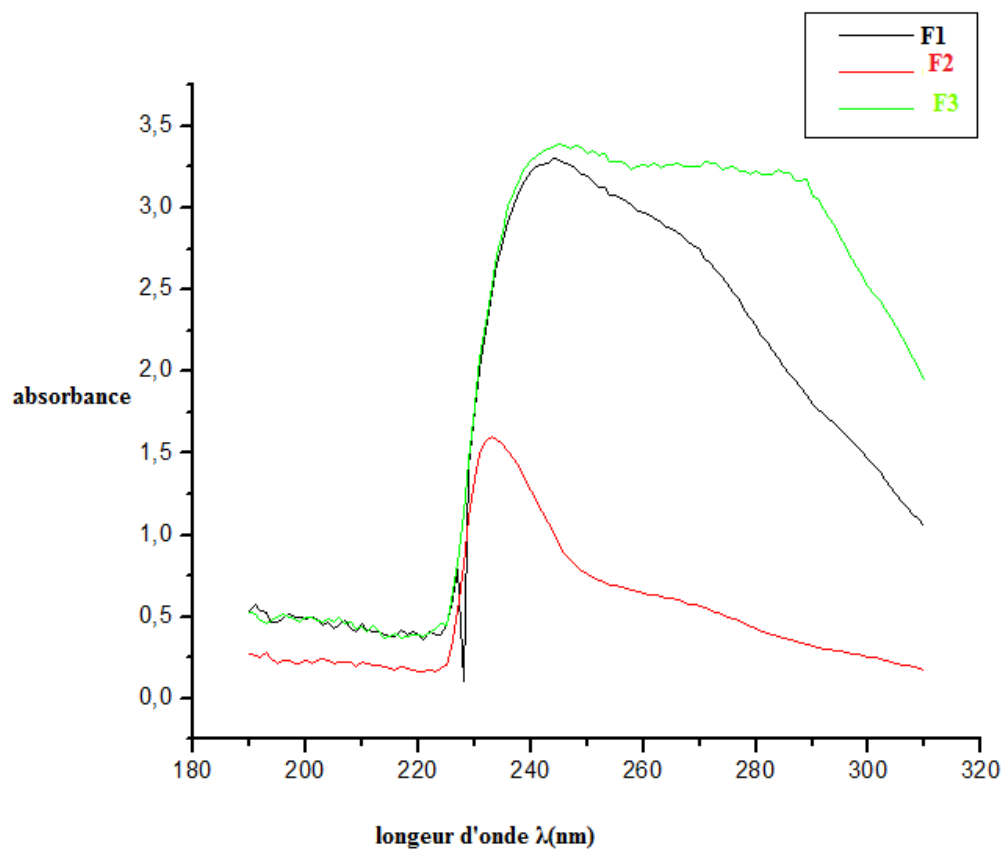


Figure 27 : comparaison entre nos échantillons de feuilles extraite par soxhlet

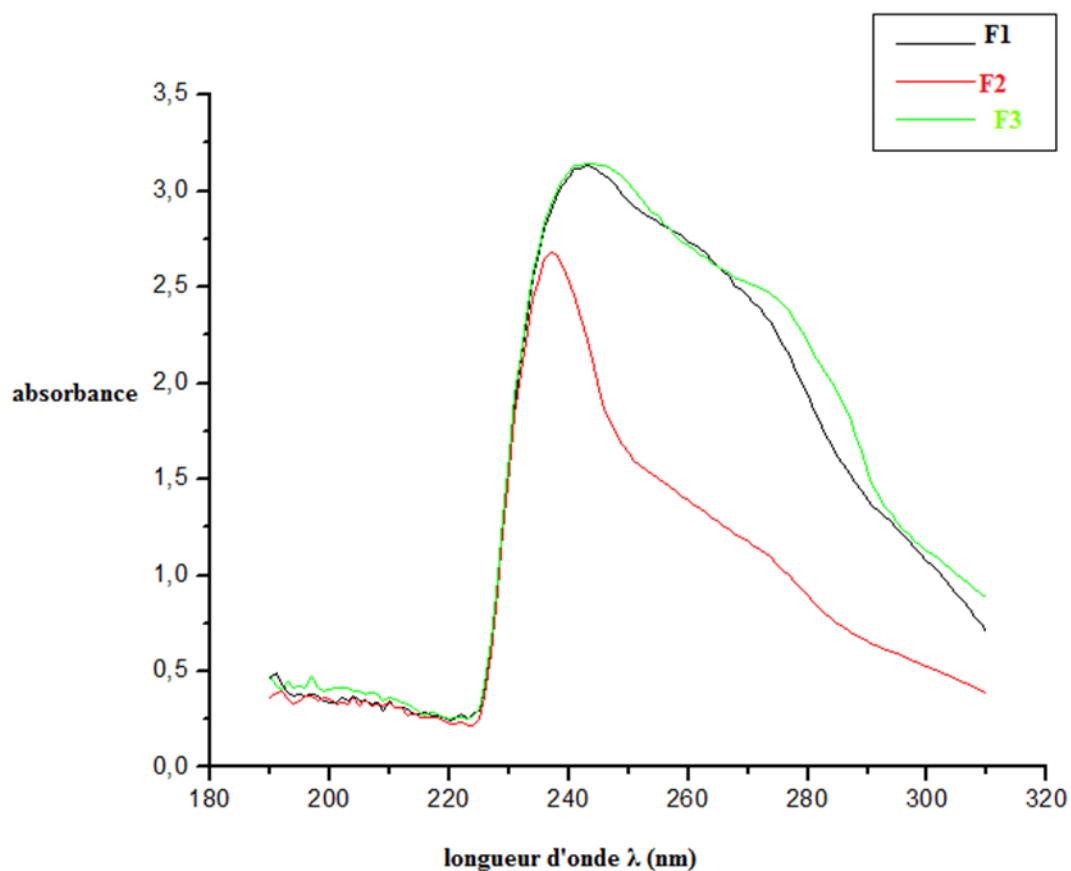


Figure 28: Comparaison entre nos échantillons de feuilles extraite par saponification

II. Analyses par HPLC:

- Les conditions d'analyse sont décrites dans le chapitre précédent, après l'injection de l'étalon pure (solution commerciale), on a obtenu le chromatogramme suivant :

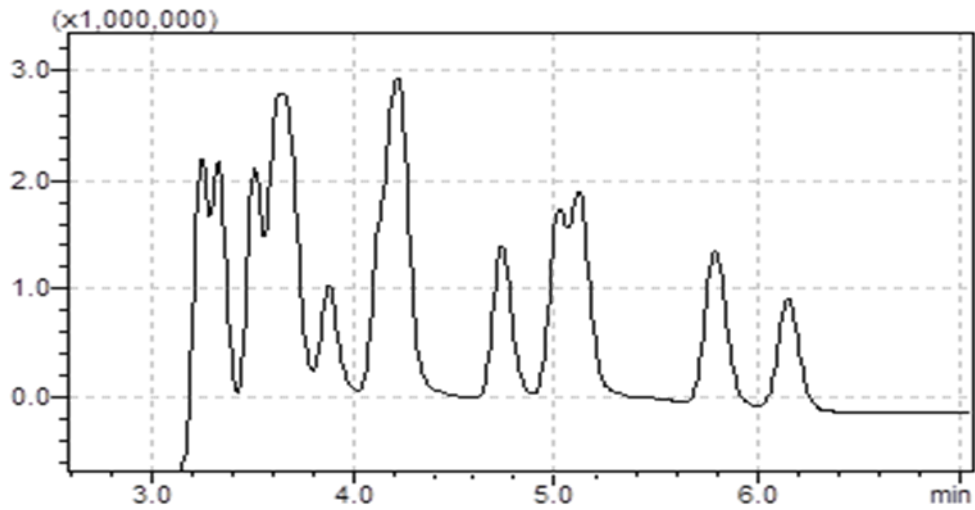


Figure 29: Chromatogramme obtenu par injection de l'étalon pure

- on n'a pas obtenu les 16 pics correspondant aux 16 hydrocarbures.
- on a une mauvaise résolution.
- le temps d'analyse est plus court que celui décrit dans le spectre de la solution commerciale.
- Le chromatogramme de la solution commerciale est le suivant :

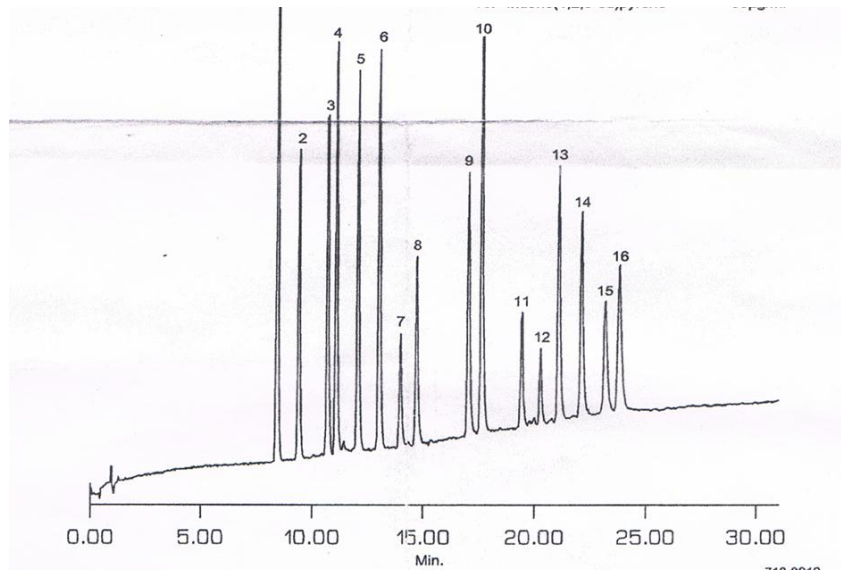


Figure 30: chromatogramme livré avec la solution commerciale

- 1-naphtalène
- 2-acenaphthylène
- 3-acenaphthène
- 4-fluorène
- 5-phenanthrène
- 6-anthracène
- 7-fluoranthène
- 8-pyrène
- 9-benzo[a]anthracène
- 10-chrysène
- 11-benzo[b]fluoranthène
- 12- benzo[k]fluoranthène
- 13-benzo[a]pyrène
- 14-dibenzo[a,h]anthracène
- 15-benzo[g,h,i]perylène
- 16-indeno[1,2,3-cd]pyrène

- on n'a pas obtenu le même chromatogramme à cause de :

- 1- on a changé l'eau de la phase mobile par le méthanol en gardant le même gradient.
- 2- on n'a pas travaillé avec la même phase stationnaire, notre phase stationnaire est le C18 et celle du utilisé par le fabricant de l'étalon est (SUPELCOSIL TM LC-PHA), c'est une phase stationnaire spécial pour l'analyse des HAP.

➤ Donc on ne peut pas faire une étude quantitative avec ce spectre alors, on va se limités à l'étude qualitative qui est basé sur la comparaison entre les pic du chromatogramme du l'étalon pure et les pics de nos solutions injecté.

- Après l'injection de nos échantillons on a obtenu les chromatogrammes suivant :

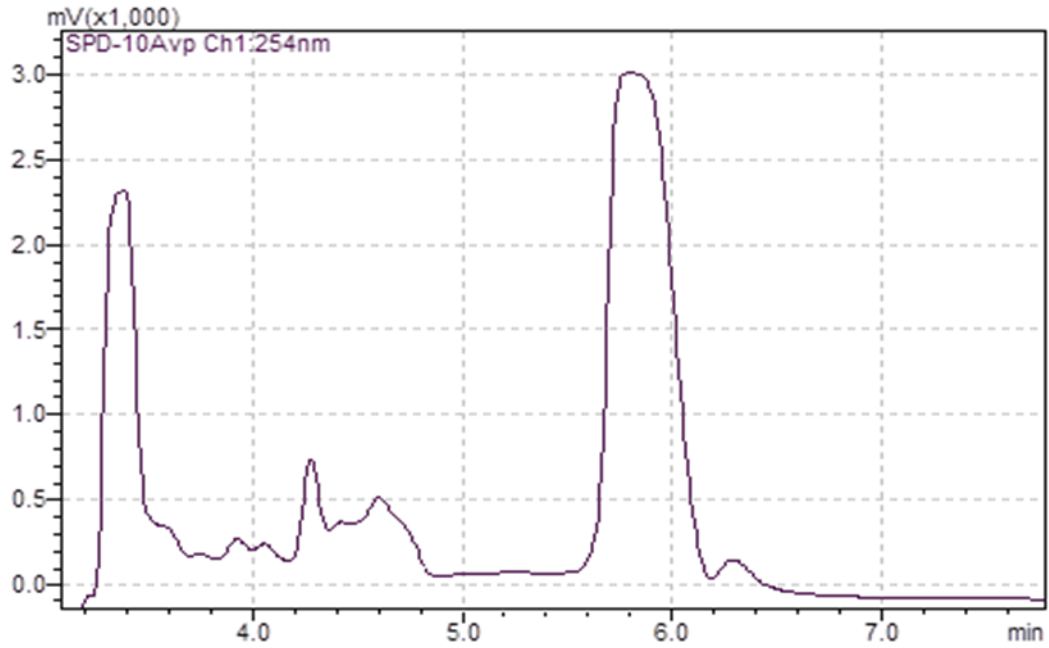


Figure 31 : chromatogramme de l'échantillon R₁

Tableau 51: comparaison entre les temps de rétention des pics de l'étalon et l'échantillon R₁

Temps de rétention des pics d'étalon (min)	3.2	3.3	3.5	3.7	3.9	4.2	4.8	5	5.1	5.8	6.2
Temps de rétention d'échantillon R ₁	p	/	/	/	p	p	p	/	/	p	p

P : présent

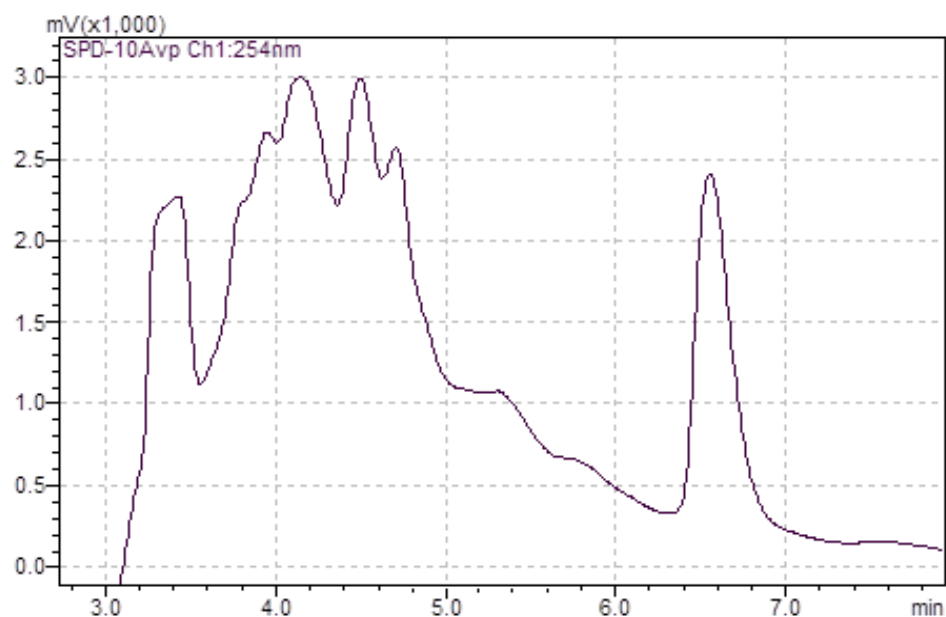


Figure 32 : chromatogramme de l'échantillon R₂

Tableau 52: comparaison entre les temps de rétention des pics de l'étalon et l'échantillon R₂

Temps de rétention des pics d'étalon (min)	3.2	3.3	3.5	3.7	3.9	4.2	4.8	5	5.1	5.8	6.2
Temps de rétention d'échantillon R ₂	/	p	/	/	p	p	p	/	/	/	p

- On remarque que le pic sorti à 6.2min dans le chromatogramme de l'étalon, est sorti à 6.6min dans le chromatogramme de notre échantillon de racine.

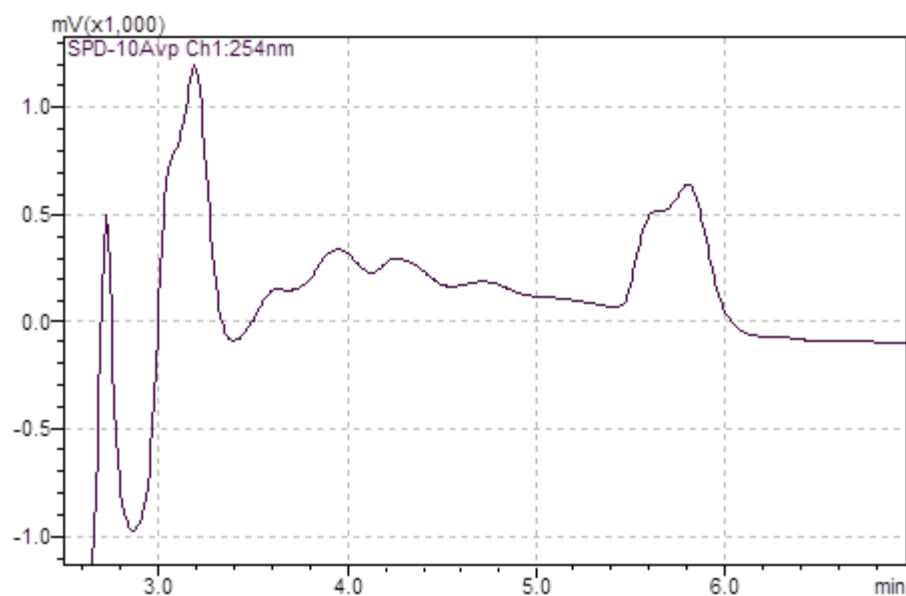


Figure 32: chromatogramme de l'échantillon R₃

Tableau 53: comparaison entre les temps de rétention des pics de l'étalon et l'échantillon R₃

Temps de rétention des pics d'étalon (min)	3.2	3.3	3.5	3.7	3.9	4.2	4.8	5	5.1	5.8	6.2
Temps de rétention d'échantillon R ₃	/	p	/	/	p	p	/	/	/	p	/

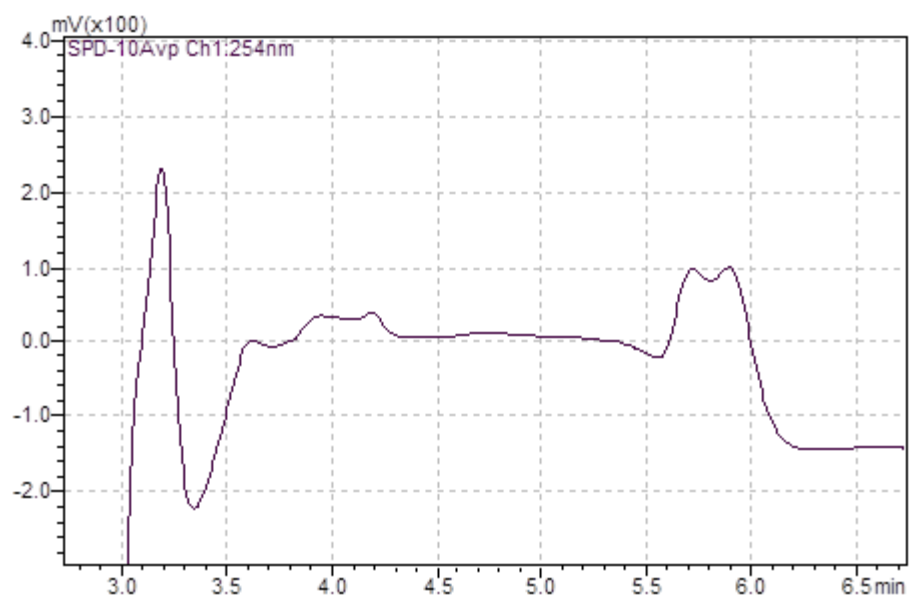


Figure 33: chromatogramme de l'échantillon F₁ sox

Tableau 54: comparaison entre les temps de rétention des pics de l'étalon et l'échantillon
F₁ sox

Temps de rétention des pics d'étalon (min)	3.2	3.3	3.5	3.7	3.9	4.2	4.8	5	5.1	5.8	6.2
Temps de rétention d'échantillon R ₃	/	p	/	/	/	/	/	/	/	p	/

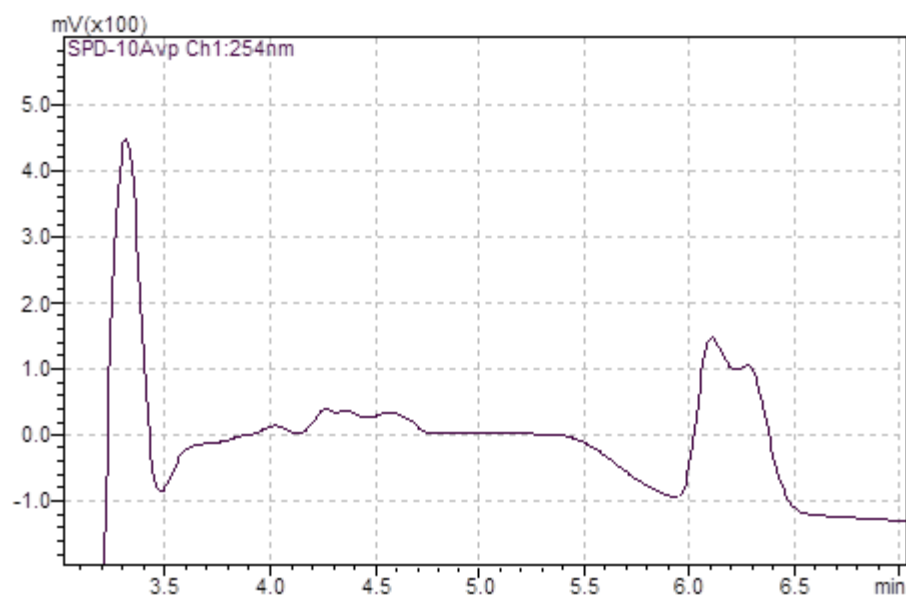


Figure 34: chromatogramme de l'échantillon F₂ sox

Tableau 55: comparaison entre les temps de rétention des pics de l'étalon et l'échantillon
F₂ sox

Temps de rétention des pics d'étalon (min)	3.2	3.3	3.5	3.7	3.9	4.2	4.8	5	5.1	5.8	6.2
Temps de rétention d'échantillon R ₃	/	p	/	/	/	/	/	/	/	/	p

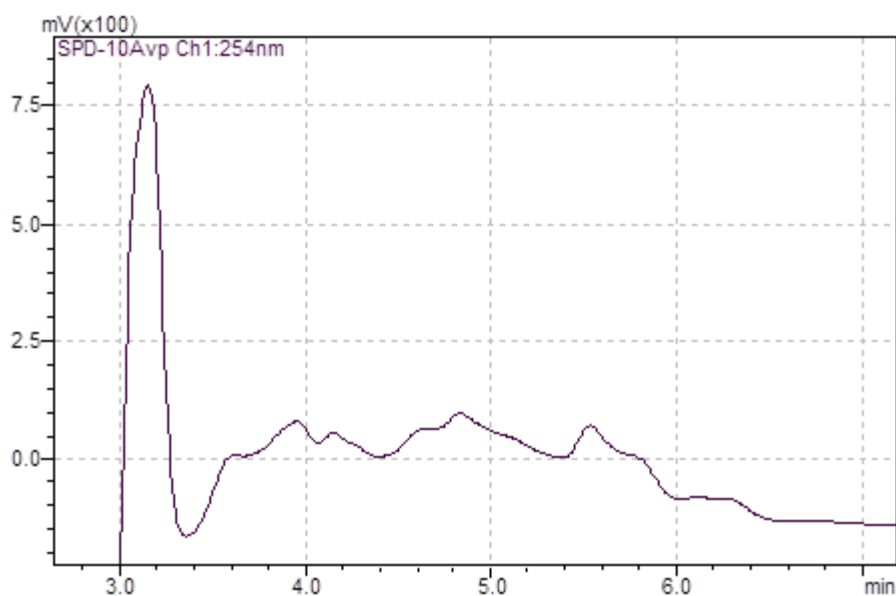


Figure 35: chromatogramme de l'échantillon F₂ sap

Tableau 56: comparaison entre les temps de rétention des pics de l'étalon et l'échantillon F₂ sap

Temps de rétention des pics d'étalon (min)	3.2	3.3	3.5	3.7	3.9	4.2	4.8	5	5.1	5.8	6.2
Temps de rétention d'échantillon R ₃	p	/	/	/	p	p	/	/	/	/	/

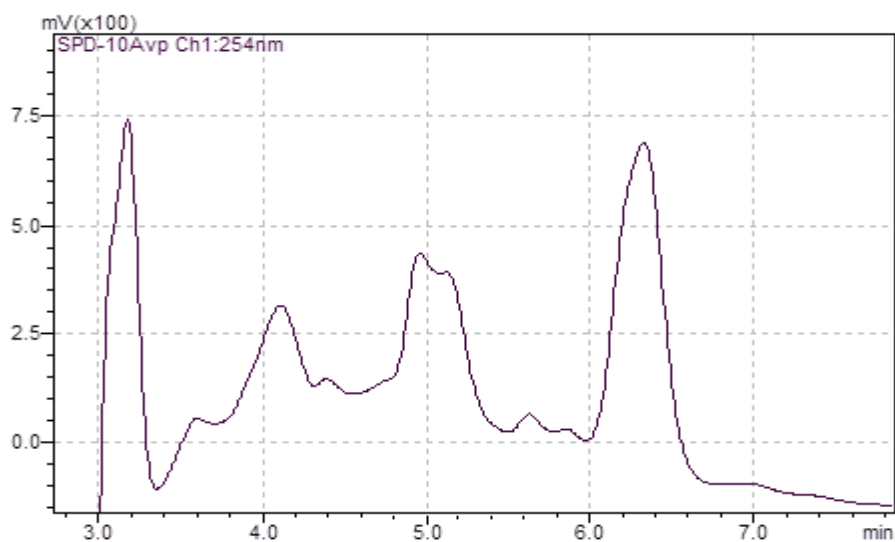


Figure 36: chromatogramme de l'échantillon F₃ sox

Tableau 57: comparaison entre les temps de rétention des pics de l'étalon et l'échantillon F₃ sox

Temps de rétention des pics d'étalon (min)	3.2	3.3	3.5	3.7	3.9	4.2	4.8	5	5.1	5.8	6.2
Temps de rétention d'échantillon R ₃	p	/	/	/	/	p	/	p	p	/	p

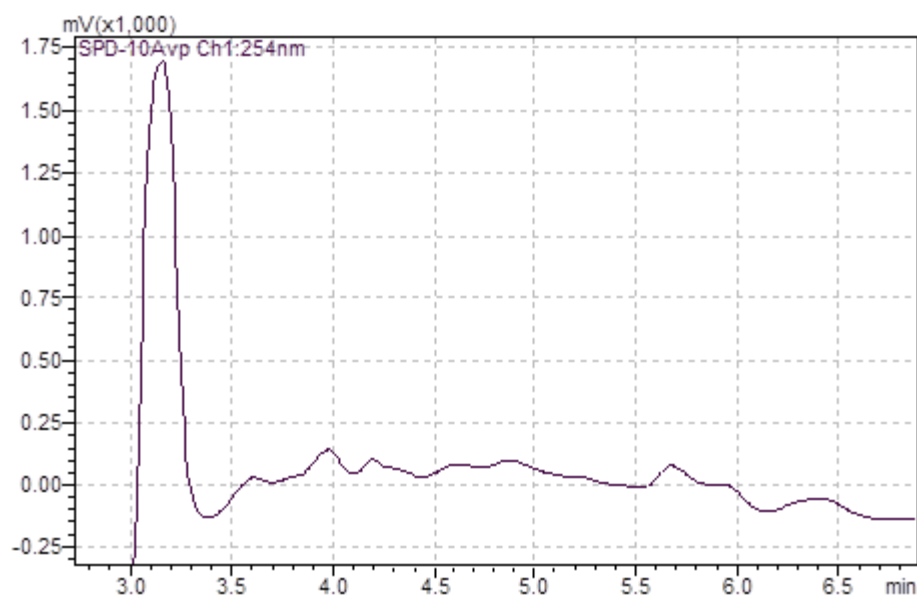


Figure 37: chromatogramme de l'échantillon F₃ sap

Tableau 58: comparaison entre les temps de rétention des pics de l'étalon et l'échantillon F₃ sap

Temps de rétention des pics d'étalon (min)	3.2	3.3	3.5	3.7	3.9	4.2	4.8	5	5.1	5.8	6.2
Temps de rétention d'échantillon R ₃	p	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/

III. Résultats et discussions :

Après l'analyse de nos extraits par UV-VIS, on est arrivé aux résultats suivants :

- On a trouvé dix HAP dans l'ensemble de nos échantillons.
- Le naphthalène et le phénanthrène sont présents dans tous nos échantillons, le benzo[k]fluoranthène est présent seulement dans l'échantillon R3, le benzo[a]pyrène, on le trouve dans l'échantillon R2, le fluoranthène et le pyrène existe dans l'échantillon F2.
- la concentration des HAP varie entre 1.3500 $\mu\text{g/ml}$ pour le Benzo[a] pyrène contenue dans l'échantillon R2 et 31,8350 $\mu\text{g/ml}$ pour l Benzo[a] anthracène contenue dans l'échantillon R2 aussi.
- D'après les spectres UV des trois échantillons $\text{abs}=\text{f}(\lambda)$, on remarque que les échantillons récolté de la 3eme région sont les plus pollués.
- On remarque que l'extraction par soxhlet est plus efficace, car elle extrait les HAP légers et lourds, par contre l'extraction par saponification n'extrait pas les HAP lourds.
- On aperçoit que les racines contiennent les HAP lourds et légers et la majorité des échantillons de types feuilles contiennent que les HAP légers (de 2 à 3 cycles).
- Les concentrations calculées ne sont pas les concentrations réelles elle nous donne juste une idée sur l'ordre de grandeurs du taux des HAP dans nos extraits.

Après l'analyse de nos extraits par HPLC, on est arrivé aux résultats suivants :

- On ne peut pas identifier les pics du chromatogramme de l'étalon et de nos échantillons, tout ce qu'on peut dire c'est qu'on peut relever la présence des HAP dans nos extraits.
- Dans l'analyse par UV-VIS, on a détecté plus de molécules de HAP par échantillon que dans l'analyse par HPLC, cela est dû à l'effet de dégradation car les extraits sont restés conservés une semaine avant l'injection.

- On constate qu'il y a une pollution au niveau des zones de prélèvements mais avec cette étude, on ne peut pas savoir le taux ou bien savoir si elle dépasse les normes.

Conclusion et perspective

Notre travail avait pour objectif d'évaluer la disponibilité des HAP dans les matrices végétales, les résultats obtenus dans cette étude doivent maintenant être approfondis et précisés.

La contamination du système végétal par les HAP peut avoir un impact sur les chaînes alimentaires qui pose des problèmes sanitaire et/ou environnemental.

Le transfert des HAP peut avoir lieu directement dans les chaînes alimentaires par ingestion des végétaux contaminés par les animaux et le transfert dans les produits animaux.

Par exemple dans les ruminants laitiers, les HAP sont stockées dans les graisses, le foie et les reins mais aussi dans le lait, dans ce cas le consommateur est exposé au risque via l'ingestion de viande ou de lait.

La prise en compte des mécanismes de transfert de telles molécules dans des différents compartiments des écosystèmes en relation avec les pratiques humaines reste une étape essentielle dans l'évaluation des risques sanitaires et environnementaux associés à ces polluants.

Bibliographie et référence

A

A-Beyer, M. Biziuk, *Food Chem*, 2008, 108, 669-680

Abdourahmane Tankari Dan-Badjo .2007- Modalité de contamination du ray-grass par les éléments du groupe platine et les HAP à proximité des voies routière.

Alcayde G, Beraud JF, Costes JM, Gatellier C 2000. Mécanismes et Phénomènes de Transport et d'évolution des Hydrocarbures et des Solvants Chlorés dans le milieu Souterrain. In: F. Colin ed. *Rapports De L'académie Des Sciences N°44 : Pollution Localisée des Sols et des Sous-Sols par les Hydrocarbures et par les Solvants Chlorés*. Paris, 81-117.

Angela Pulgarin.2012-Méthodes de la datation des hydrocarbures déversés dans l'environnement.

B

Baek S.O., Field R.A., Goldstone M.E., Kirk P.W., Lester J.N. (1991) A review of atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons : sources, fate and behavior. *Water, air, and soil pollution*.

Brice Temime –Roussel. 2002-Contribution de l'étude de la partition des HAP entre la phase gazeuse et particulaire : validation de la technique de prélèvement par tube Denuder Annulaire.

C

C.Hébrad-Labit, L.Meffray.2004-Comparaison des méthodes d'analyses des éléments traces métalliques (ETM) et les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) sur les sols et les végétaux.

CCME, 2008. Canadian soil quality guidelines - Carcinogenic and other polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) (Environmental and Human Health Effects) - Scientific supporting Document. Canadian Council of Ministers of the Environment. 210 pages, www.ccme.ca/assets/pdf/pah_soqg_ssd_1401.pdf.

Centre d'expertise en analyse environnemental du Québec .Détermination des hydrocarbures aromatiques polycycliques : dosage par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse. MA. 400 – HAP 1.1, Rév. 4, **Ministère** du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec, 2011, 27 p.

D

Dabestani, R., Ivanov, I.N., 1999. A Compilation of Physical, Spectroscopic and Photophysical Properties of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. Photochemistry and Photobiology 70 (1), 10-34.

Denissenko M.F., Pao A., Tang M., Pfeifer G.P. (1996) Preferential formation of benzo[a]pyrene adducts at lung cancer mutational hotspots in P53. Science, 274, 430-432.

Délivrables 2.1, 2.2, 2.3 et 2.4 -Recueil des méthodes d'analyse, modalités de prélèvement des échantillons végétaux, protocoles de traitement et de conservation des échantillons.

Direction de santé publique –Agence de la santé et de service sociaux de Montréal – concentration de Plomb et de HAP mesurée dans les légumes de certains jardins communautaires de Montréal.

Dorine DESALME.2011-Contamination atmosphérique par les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) Toxicité et devenir du phénanthrène dans des systèmes sol-plante-microorganismes.

F

Fismes, J., Perrin-Ganier, C., Empereur-Bissonnet, P., et Morel, J. L., 2002. Soil-to-root transfer and translocation of polycyclic aromatic hydrocarbons by vegetables grown on industrial contaminated soils. J. Environ. Qual.

G

G.Romanik, E.Gilgenast, A.Przyjazny, M.Kaminski.2007- techniques of preparing plant material for chromatographic separation and analysis.

I

IARC (1987) An Updating of the IARC Monographs. IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. Overall Evaluations of Carcinogenicity (volumes 1 to 42), Supplement 7. Ed. International Agency for Research on Cancer, Lyon, France.

IARC (2002) [http.iarc.fr](http://www.iarc.fr). Site internet.

INSERM, 2001. Métabolisme et mécanisme d'action des principales substances cancérigènes d'origine professionnelle. Susceptibilités génétiques et expositions professionnelles, Institut National de la Santé Et de la Recherche Médicale, pp. 147. http://www.inserm.fr/content/download/8523/63786/file/susceptibilites_genetiques_expo_prof_2001.pdf (29/12/2011).

INERIS.2001 "fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques " <http://www.ineris.fr>.

INERIS (2005). "Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques". <http://www.ineris.fr> Site consulté le: 31 octobre 2006

ISO 11338-2 -Émissions de sources fixes : Détermination des hydrocarbures aromatiques polycycliques sous forme gazeuse et particulaire-Préparation des échantillons, purification et détermination.

ISSep.2010-DOSAGE DES HYDROCARBURES AROMATIQUES POLYCYCLIQUES (HAP) PAR HPLC DANS LES SOLS.10p

J

Jean-Pierre Faccendini.1995-Characterisation d'une pollution de sols granulaires par hydrocarbures issus de la pyrolyse de Houille.

Jean-Michel B E R G U E, Danielle M É R I E N N E, Bull, liaison Labo P. et Ch. - 146 - n o v . - d é c . 1986 - R é f . 3141 –la pollution des sols par les hydrocarbures.

Julien Michel.2009-transport d'hydrocarbures aromatiques polycycliques et des métaux dans les sols non saturés.

L

Laurence BOURCEREAU-Accumulation des Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) dans les sédiments de la rivière Doubs Rapport Final.54P

L'Office fédéral de l'environnement, des forêts et du paysage OFEFP.2001-Analyse des hydrocarbures aromatiques polycycliques dans les sols par GC/MS.29p

Louise Marie FOAN.2012-Biosurveillance des retombées atmosphériques à l'aide de bryophytes : Suivi des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) à diverses échelles spatio-temporelles.

M

Marie-Paule Norini.2007-Ecodynamique des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) et des communautés microbiennes dans des sols à pollution mixte (HAP,métaux) avant et après traitement par biopile et par désorption thermique : influence de la rhizosphère et de mycorhization .

Marinella FARRÉ,Elena MARTÍNEZ,Damià BARCELÓ,CID-CSIC, Barcelone.2008-Techniques de détermination de composés organiques dans l'environnement.23p

Marie le dû Lacoste .2008-etude des phénomènes de biotransformation des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) par les organismes aquatiques (poisson). Relation exposition – genotoxicité

N

Nuno Ratola a, Sílvia Lacorte b,* ,Arminda Alves a, Damià Barceló b.2006-Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in pine needles by gas chromatography–mass spectrometry Comparison of different extraction and clean-up procedures.7p

P

Partenariat 2011.Domaine Ecotechnologie et pollutions Action 25-3-Protocole de prélèvement pour l'échantillonnage des boues dans les lits de séchage plantés de roseaux en vue de leur qualification agricole.

Pickering R.W., Phil M., Biol F.I. (1999) A toxicological review of polycyclic aromatic hydrocarbons. J. Toxicol. Cut & ocular Toxicol.

S

S. Denys (INERIS) et F. Marot (ADEME)- Guide d'échantillonnage de plantes potagères dans le cadre de diagnostics environnementaux (2007).

Sandrine Vessigaud . 2007-Re-mobilisation des hydrocarbures aromatiques polycycliques de terres industrielles de cokerie et mécanismes impliqués dans le "vieillissement" du fluoranthène.

Soclo, H. H., Etude De La Distribution Des Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques Dans les Sédiments Récents. Identification Des Sources., in Sciences Chimiques. 1986, Université Bordeaux1: Bordeaux. p. 158 pp.

Sophie Gabet.2004-Remobilisation des HAP présents dans les sols contaminés à l'aide d'un tensioactif d'origine biologique.

T

Tecslut Inc. Rapport préliminaire 05-16660- ville de Montréal -Étude géotechnique et de caractérisation environnementale complémentaire.

Tobiszewski, M., Namiesnik, J., 2012. PAH diagnostic ratios for the identification of pollution emission sources. Environmental Pollution 162 (0), 110-119.

V

Verkleij JAC, Golan-Goldhirsh A, Antosiewicz DM, Schwitzguebel JP, Schroder P. 2009. Dualities in Plant Tolerance to Pollutants and Their Uptake and Translocation to the Upper Plant Parts. Environmental and Experimental Botany 67(1): 10-22.

W

W.H.O.Ernst .1995-Sampling of plante material for chemical analysis .10p

Wilson, S.C. et Jones, K.C. (1993). "Bioremediation of soil contaminated with polynuclear aromatic hydrocarbons (PAHs) : a review." Environmental Pollution.

Wild S.R.,Jones K.C.,1992.Organique chemical entering agricultural soils in sewage sludges screening for their potential to transfer to crop plant and livestock. SCI.TOT.environ .

Z

Zakia D. Parrish ^a, Jason C. White ^{a,*}, Mehmet Isleyen ^b, Martin P.N. Gent ^c,William Iannucci-Berger ^b, Brian D. Eitzer ^b, Jason W. Kelsey ^d,Maryjane Incorvia Mattina ^b.2006-Accumulation of weathered polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by plant and earthworm species.10p

ZHOU Xiaobai.2010-Etude expérimentale de quelques paramètres affectant la dissipation des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) dans la rhizosphère de plantes mycorhizées.

Zmirou, D., Aubier, M., Bonnaud, F., Charpin, D., Blay de Gaix, F., Duriez, M., Geiger, P., Goldberg, M., Grzegorzulka, O., Koppel, A., Lameloise, P., Masse, R., Momas, I., Potelon, J.L., Quenel, P., Roussel, I., 2000. Politiques publiques, pollution atmosphérique et santé : poursuivre la réduction des risques - Rapport de juin 2000. Haut comité de la santé publique, Paris, France, pp. 165. www.ladocumentationfrancaise.fr/var/storage/rapportspublics//004001641/0000.pdf (29/12/2011).