



## AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : [ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr](mailto:ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr)

## LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

[http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg\\_droi.php](http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php)

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

b149631

SIM<sub>3</sub> 99/15

**UNIVERSITE DE METZ**  
**UFR Sciences Fondamentales et Appliquées**  
**Laboratoire de Thermodynamique et d'Analyse Chimique**

**THESE**

présentée par

**Patrick HENRION**

pour l'obtention du titre de

**DOCTEUR**

**Discipline : Chimie Analytique**

BIBLIOTHEQUE UNIVERSITAIRE - METZ	
N° inv.	19990358
Cote	S/M <sub>3</sub> 99/15
Loc	Repaire

CONTRIBUTION A L'ETUDE ET A LA MISE AU POINT DE TECHNIQUES  
ANALYTIQUES PERMETTANT DE DOSER LES HYDROCARBURES  
TOTAUX DANS DES MATRICES SOLIDES OU LIQUIDES

**Soutenue le 04 Juin 1999**

Membres du Jury

<u>Président :</u>	Vicente CEBOLLA	Docteur à l'Institut de Carbochimie de SARAGOSSE ESPAGNE
<u>Rapporteurs :</u>	Dominique BRODZKY	Maître de Conférences à l'Université P. et M. Curie PARIS
	Patrick LANDAIS	Directeur de recherche CNRS UMR G2R NANCY- VANDOEUVRE
<u>Examineurs :</u>	René GRUBER	Professeur à l'Université de METZ
	Muriel MATT	Maître de Conférences à l'Université de METZ
	Jean-Victor WEBER	Professeur à l'Université de METZ
<u>Invité :</u>	Thierry LAFFONT	Chef de projet sols pollués ADEME Délégation régionale de METZ

**à Christel**

**à mes parents**

**à ma famille**

**à Roby**

**à ma grand-mère**

## AVANT - PROPOS

Ce travail a été réalisé au Laboratoire de Thermodynamique et d'Analyse Chimique (LTAC) de L'UFR SciFA de l'Université de Metz, ainsi qu'à l'Institut de Carbochimie du CSIC à Sarragosse en Espagne.

Je remercie Monsieur le professeur M. ROGALSKI de m'avoir accueilli au sein de son laboratoire.

Que Monsieur le professeur R. GRUBER trouve ici toute ma reconnaissance pour avoir accepté de diriger ce travail, pour la confiance qu'il m'a témoignée et son éternel optimisme.

Je remercie également Mademoiselle M. MATT, maître de conférences, et Madame D. CAGNIANT, professeur émérite pour leur aide et leurs conseils.

Que Mademoiselle P. FYDRYCH et Monsieur F. MUTELET veuillent bien recevoir ici l'expression de ma gratitude pour l'aide qu'ils m'ont apportée pour la réalisation de ce manuscrit.

Je remercie également tous les autres membres du laboratoire pour la sympathie qu'ils m'ont témoignée.

Je tiens à remercier vivement Messieurs V. CEBOLLA et L. MEMBRADO, docteurs de l'Institut de Carbochimie de Sarragosse, ainsi que les autres membres de leur équipe. Je leur exprime ma profonde gratitude pour avoir accepté de m'accueillir, pour m'avoir encadré et m'avoir beaucoup appris durant les six mois que j'ai passés à Sarragosse.

Je remercie également Monsieur P. LANDAIS, Directeur de recherche CNRS (UMR G2R) de l'Université Henri Poincaré de NANCY-VANDOEUVRE, Monsieur D. BRODZKY, Maître de Conférences, habilité à diriger la recherche, de l'Université Pierre et Marie Curie de

PARIS, et Monsieur J.V. WEBER, Professeur de l'Université de METZ, pour l'intérêt qu'ils ont porté à mon travail et pour avoir accepté de le juger.

J'exprime ici ma gratitude à Monsieur T. LAFFONT, Chef de projet sols pollués ADEME, Délégation régionale de METZ, pour avoir accepté d'être membre invité du jury de ma thèse.

Enfin, je tiens à exprimer ma reconnaissance à Monsieur J. SZERMANN de l'ADEME, Délégation régionale de METZ, pour l'intérêt qu'il a porté à mon travail et pour avoir soutenu, auprès de l'ADEME ma demande d'aide au financement de mon stage à Saragosse.

# SOMMAIRE

Pages

## **LISTE DES ABREVIATIONS**

## **LISTE DES TABLEAUX**

## **LISTE DES FIGURES**

## **INTRODUCTION GENERALE**

1

## **CHAPITRE I: REVUE BIBLIOGRAPHIQUE**

5

### **I.1. Les techniques modernes d'extraction**

5

#### **I.1.1. L'extraction par les fluides supercritiques**

5

##### **I.1.1.1. Les propriétés des fluides supercritiques**

6

##### **I.1.1.2. Instrumentation**

11

##### **I.1.1.3. Facteurs influençant l'extraction**

12

###### **a) Influence de la pression**

12

###### **b) Influence de la température**

14

###### **c) Influence du cosolvant**

14

###### **d) Influence du débit du fluide**

16

###### **e) Influence de la géométrie de la cellule**

17

###### **f) Influence des méthodes de récupération des solutés**

17

###### **g) Influence de la matrice**

20

##### **I.1.1.4. Applications**

22

##### **I.1.1.5. Conclusion**

23

#### **I.1.2. L'extraction par solvants accélérée (ASE)**

24

##### **I.1.2.1. Principe**

24

##### **I.1.2.2. Instrumentation**

25

##### **I.1.2.3. Facteurs influençant l'extraction**

27

##### **I.1.2.4. Applications**

28

##### **I.1.2.5. Conclusion**

28

#### **I.1.3. L'extraction par Soxhlet automatisé**

29

##### **I.1.3.1. Principe et appareillage**

30

##### **I.1.3.2. Avantages de la méthode et comparaison avec le Soxhlet classique**

31

##### **I.1.3.3. Applications**

32

#### **I.1.4. L'extraction assistée par micro-ondes (MAE)**

32

##### **I.1.4.1. Introduction**

32

##### **I.1.4.2. Principes: Théorie de l'extraction assistée par micro-ondes**

33

##### **I.1.4.3. Instrumentation**

36

##### **I.1.4.4. Applications**

39

##### **I.1.4.5. Conclusion**

39

#### **I.1.5. La microextraction en phase solide (MEPS)**

40

I.1.5.1. Introduction	40
I.1.5.2. Rappels sur les techniques d'extraction sans solvant, autres que la SPME	40
a) Extraction en phase gazeuse	40
b) Extraction par membrane	41
c) Extraction en phase solide utilisant des adsorbants	41
I.1.5.3. Etude de la MEPS	42
a) Principe	42
b) Aspects théoriques	42
c) Maîtrise des paramètres influençant l'extraction et la séparation après adsorption	44
d) Sensibilité	44
e) Justesse et précision	45
f) Efficacité de la désorption	46
I.1.5.4. Applications de la MEPS	46
I.1.5.5. Conclusion	47
<b>I.1.6. Conclusion</b>	48
<b>I.2. La détection et l'analyse des hydrocarbures pétroliers: les techniques basées sur la chromatographie sur couche mince (CCM)</b>	48
I.2.1. Introduction	48
I.2.2. Le couplage de la CCM avec le détecteur à ionisation de flamme (CCM-FID): Iatroscan	52
I.2.3. Le couplage de la CCM à la détection par balayage UV/Visible	55
I.2.4. Comparaison des techniques Iatroscan et CCM-UV/Visible	56
I.2.5. Conclusion	58
<b>CHAPITRE II: EXTRACTION ET ANALYSE DE MELANGES COMPLEXES D'HYDROCARBURES D'ORIGINE PETROLIERE</b>	60
<b>II.1. INTRODUCTION</b>	60
<b>II.2. ANALYSE D'ECHANTILLONS POLLUES PAR DES HYDROCARBURES PETROLIERS BASEE SUR L'EXTRACTION LIQUIDE-LIQUIDE OU LIQUIDE-SOLIDE</b>	62
<b>II.2.1. MATERIEL ET METHODES</b>	62
II.2.1.1. Extraction couplée à la détection par Infrarouge	62
II.2.1.1.1. Préparation des échantillons surchargés par des hydrocarbures étalons	62

II.2.1.1.2. Méthode de préparation des échantillons	63
a) Echantillons aqueux	63
b) Echantillons solides	64
II.2.1.1.3 Extraction des hydrocarbures et détermination des rendements d'extraction par IRFT- Optimisation des conditions opératoires	65
II.2.1.1.3.1. Réactifs et matériel	65
II.2.1.1.3.2. Extraction des hydrocarbures dans les échantillons aqueux : étude de l'influence de la concentration en hydrocarbures	66
II.2.1.1.3.3. Extraction des hydrocarbures dans les échantillons solides	69
a) Etude de l'influence de la concentration en hydrocarbures	69
b) Influence de l'humidité des échantillons	71
II.2.1.1.3.4. Dosage par infrarouge à transformée de Fourier et traitement des données	72
a) Etalonnage	72
b) Dosage des hydrocarbures extraits	74
II.2.1.2. Extraction liquide-solide par la méthode Soxtec - Dosages par gravimétrie	76
II.2.1.2.1. Préparation des échantillons surchargés	77
II.2.1.2.2. Méthode de préparation des échantillons surchargés	77
II.2.1.2.3. Extraction du gasoil. Paramètres d'extraction	77
<b>II.2.2. RESULTATS ET DISCUSSION</b>	79
II.2.2.1. Utilisation d'étalons de surcharge	79
II.2.2.2. Détermination des rendements d'extraction par dosage en IRTF	80
II.2.2.2.1. Courbes d'étalonnage	80
II.2.2.2.2. Rendements d'extraction des hydrocarbures issus des échantillons aqueux	85
II.2.2.2.3. Rendements d'extraction des hydrocarbures issus des échantillons solides	96
a) Influence de la concentration	96
b) Influence de l'humidité des échantillons	101
II.2.2.2.4. Conclusion	104

II.2.2.3. Rendements d'extraction par la méthode Soxtec	104
<b>II.3. ANALYSE D'HYDROCARBURES D'ORIGINE PETROLIERE PAR CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE COUPLEE A UN DENSITOMETRE UV/FLUORESCENCE</b>	108
<b>II.3.1. Introduction</b>	108
<b>II.3.2. Matériels et méthodes</b>	112
II.3.2.1. Echantillons utilisés	112
II.3.2.2. La séparation par Chromatographie sur Couche Mince	113
II.3.2.3 Détection des fractions par densitométrie UV/Fluorescence	115
II.3.2.4 Chromatographie sur Couche Mince préparative	116
II.3.2.5. Etude de la réponse en fluorescence du détecteur en fonction de la nature des alcanes et de la masse injectée	117
II.3.2.6. Influence des conditions opératoires	117
a) Méthodes de dépôt des échantillons	118
b) Taille du faisceau de balayage lors de la détection en fluorescence	119
c) Conditions d'imprégnation	119
II.3.2.7. Etalonnage du détecteur	120
<b>II.3.3. Résultats et discussion</b>	122
II.3.3.1. Etude de la réponse en fluorescence du détecteur en fonction de la nature des alcanes et de la masse injectée	123
II.3.3.2. Influence des conditions opératoires	125
a) Méthodes de dépôt des échantillons	125
b) Taille du faisceau de balayage	129
c) Conditions d'imprégnation	130
II.3.3.3. Etalonnage du détecteur	131
II.3.3.4. Rôle de la berbérine dans la détection des hydrocarbures	137
II.3.3.5. Optimisation de la détection des composés saturés en fluorescence et application aux composés aromatiques	141
II.3.3.6. Conclusion	146
<b>CONCLUSION GENERALE</b>	150

**REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

**RESUME**

## ABREVIATIONS UTILISEES

AFNOR	Associaton Française de Normalisation
ASE	Extraction Assistée par Solvants
ASTM	American Society for Testing Materials
CCl <sub>4</sub>	Tétrachlorure de carbone
CCM	Chromatographie sur Couche Mince
CCM-FID	Chromatographie sur Couche Mince couplée au Détecteur à Ionisation de Flamme
CCM-fluorescence	Chromatographie sur Couche Mince couplée au Détecteur de fluorescence
CCM-UV	Chromatographie sur Couche Mince couplée au Détecteur Ultraviolet
COV	Composés Organiques Volatils
CPG	Chromatographie en phase gazeuse
CPG/SM	Chromatographie en phase gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse
HGTA	Analyse par Groupes d'Hydrocarbures
CLHP	Chromatographie Liquide Haute Performance
CLHP-RI	Chromatographie Liquide Haute Performance couplée au détecteur à Indice de Réfraction
HPTLC	Chromatographie sur Couche Mince Haute Performance
IRTF	Spectrométrie Infrarouge, Spectrométrie Infrarouge à Transformée de Fourier
LC	Chromatographie Liquide
LCO	Huile Légère
MAE	Extraction Assistée par les Microondes
MEPS	Microextraction en Phase Solide
MW	Micro-ondes
ND	Non Déterminé ou Non calculable
HAP	Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques
PCB	Polychlorobiphényl
PDMS	Polydiméthylsiloxane
PEI	Polyétherimide

<b>PFA</b>	<b>Perfluoroalkoxy</b>
<b>PTFE</b>	<b>Polytétrafluoroéthylène</b>
<b>IR</b>	<b>Détecteur à Indice de Réfraction</b>
<b>SFE</b>	<b>Extraction par les Fluides Supercritiques</b>
<b>SPE</b>	<b>Extraction en Phase Solide</b>
<b>TNF</b>	<b>Tétranitrofluorénone</b>
<b>US EPA</b>	<b>Agence Américaine pour la Protection de l'Environnement</b>
<b>UV</b>	<b>Détecteur Ultraviolet</b>
<b>VB</b>	<b>Fuel de Visbreaking</b>

## LISTE DES TABLEAUX

N° du tableau	TITRE	PAGE
I	Ordres de grandeur de la viscosité $\eta$ , de la densité $\rho$	7
II	Solvants pouvant être utilisés comme fluides supercritiques	8
III	Les cosolvants utilisés avec le dioxyde de carbone	10
IV	Applications de l'extraction par les fluides supercritiques dans le domaine de l'environnement	23
V	Applications de l'ASE	28
VI	Moment dipolaire et constante diélectrique de solvants organiques	34
VII	Températures (°C) d'ébullition de solvants à pression atmosphérique et en système clos (à 11.9 bars)	35
VIII	Applications de l'extraction assistée par micro-ondes	39
IX	Rendements d'extraction d'hydrocarbures adsorbés par des fibres de MEPS, à partir d'argile, selon diverses conditions d'extraction	45
X	Tableau comparatif des techniques IATROSCAN et CCM-UV/Visible	57
XI	Exemples de préparation d'échantillons d'eau surchargés par des hydrocarbures	64
XII	Préparation des échantillons	65
XIII	Conditions d'extraction des échantillons de concentration inférieure à 50 mg/l	67
XIV	Conditions d'extraction des échantillons de concentration supérieure à 50 mg/l	68
XV	Echantillons de concentration inférieure à 200 mg/kg	69
XVI	Echantillons de concentration proche de 200 mg/kg	70
XVII	Echantillons de concentration proche de 400 mg/kg	70

N° du tableau	TITRE	PAGE
XVIII	Echantillons de concentration proche de 1000 mg/kg	71
XIX	Echantillons humidifiés avant la surcharge	71
XX	Echantillons humidifiés après la surcharge	72
XXI	Solutions utilisées pour la préparation des gammes d'étalonnage	72
XXII	Solutions utilisées les gammes d'étalonnage dans le CCl <sub>4</sub>	73
XXIII	Solutions utilisées les gammes d'étalonnage dans le CCl <sub>4</sub>	78
XXIV	Composition massique des produits utilisés	112
XXV	Conditions de balayage appliquées pour l'obtention des chromatogrammes	116
XXVI	Conditions d'imprégnation des plaques par la berbérine	120
XXVII	Droites d'étalonnage pour la fraction saturée	133
XXVIII	Droites d'étalonnage pour la fraction aromatique	134
XXIX	Réponse du n C <sub>24</sub> en fonction de l'agent d'imprégnation	140
XXX	Données et précision de l'étalonnage du détecteur en fluorescence, pour l'analyse de produits pétroliers (fraction saturée)	142
XXXI	Pourcentages massiques en saturés de différents produits pétroliers, déterminés par CCM-fluorescence et par d'autres techniques	142
XXXII	Etalonnage du détecteur en fluorescence, pour l'analyse de produits pétroliers (fraction aromatique)	143
XXXIII	Pourcentages massiques en aromatiques de différents produits pétroliers, déterminés par CCM-fluorescence et par d'autres techniques	144
XXXIV	Comparaison entre les contenus en aromatiques (% en masse) déterminés en fluorescence et en UV	145

## LISTE DES FIGURES

N° de la figure	TITRE	PAGE
1	Diagramme température pression des états d'une substance	6
2	Domaine d'utilisation du CO <sub>2</sub>	9
3	Schéma de l'appareillage d'extraction par les fluides supercritiques	11
4	Variation de la solubilité du naphthalène avec la pression du CO <sub>2</sub> supercritique à 45°C	13
5	Variation de la pression et de la température critiques du mélange CO <sub>2</sub> /méthanol en fonction de la fraction molaire du méthanol	16
6	Appareillage mis en oeuvre pour l'extraction par solvants accélérée	25
7	Etapas de l'extraction au Soxtec	30
8	Enceinte d'extraction	37
9	Schéma du carrousel à 12 cellules	38
10	Schéma des cellules d'extraction	38
11	Le détecteur FID utilisé en CCM	53
12	Droite d'étalonnage obtenue par régression linéaire	81
13	Droite d'étalonnage obtenue par régression logarithmique	81
14	Droite d'étalonnage obtenue par régression linéaire	82
15	Droite d'étalonnage obtenue par régression logarithmique	83
16	Droite d'étalonnage obtenue par régression linéaire	83
17	Droite d'étalonnage obtenue par régression logarithmique	84
18	Rendements d'extraction pour des échantillons de concentration voisine de 5 mg/l	85
19	Rendements d'extraction pour des échantillons de concentration voisine de 5 mg/l	86
20	Rendements d'extraction pour des échantillons de concentration inférieure à 5 mg/l	88
21	Rendements d'extraction pour des échantillons de concentration 10 et 25 mg/l	89

N° de la Figure	TITRE	Page
22	Rendements d'extraction pour des échantillons de concentration 50 mg/l	91
23	Rendements d'extraction pour des échantillons de concentration 100 mg/l	92
24	Rendements d'extraction pour des échantillons de concentration 200 mg/l	94
25	Influence de la concentration en polluant organique sur le rendement d'extraction	95
26	Rendements obtenus pour des échantillons de concentration inférieure à 200 mg/kg	96
27	Rendements obtenus pour des échantillons de concentration proche de 200 mg/kg	97
28	Rendements d'extraction obtenus pour des échantillons de concentration proche de 400 mg/kg	98
29	Rendements d'extractions obtenus pour des échantillons de concentration proche de 1000 mg/kg	99
30	Influence de la concentration des échantillons sur les rendements d'extraction	101
31	Rendements obtenus pour des échantillons humidifiés avant la surcharge	102
32	Rendements obtenus pour des échantillons humidifiés après la surcharge	103
33	Influence des conditions d'extraction au Soxtec	105
34	Structure de la berbérine (forme cationique)	111
35	Modes de balayages utilisés pour la détection des fractions	115
36	Chromatogrammes UV et Fluorescence de produits pétroliers	123
37	Réponse en fluorescence d'alcane purs et de fractions saturées de produits pétroliers	124
38	Influence de l'injection manuelle sur la répétabilité de la détection	126

N° de la Figure	TITRE	Page
39	Influence de l'injection automatique sur la répétabilité de la détection de la fraction saturée	127
40	Influence de l'injection automatique sur la répétabilité de la détection de la fraction aromatique	128
41	Influence de la taille de faisceau sur la réponse du détecteur en fluorescence	129
42	Influence des conditions d'imprégnation sur la sensibilité de la détection	130
43	Droites d'étalonnage direct des fractions aromatiques et saturées pour un intervalle de 3 à 30 µg de gasoil 1	131
44	Droites d'étalonnage direct des fractions aromatiques et saturées pour un intervalle de 40 à 140 µg de gasoil 1	132
45	Pourcentages massiques de fraction saturée déterminés pour différentes quantités de gasoil 1	135
46	Pourcentages pondéraux de fraction aromatique déterminés pour différentes quantités de gasoil 1	136
47	Géométrie de la berbérine (A) et du complexe pentane-berbérine (B)	138
48	Structure de quelques molécules pouvant sonner lieu à une exaltation de la fluorescence de la berbérine	139
49	Réponse en UV et en fluorescence en fonction de la masse de fraction aromatique pour le lubrifiant et le gasoil 2	146

## INTRODUCTION GENERALE

L'objectif de cette étude concerne la mise au point d'une méthodologie simple et fiable combinant l'extraction et l'analyse de polluants organiques en solutions aqueuses et dans les sols. Les polluants auxquels nous nous sommes intéressés sont des mélanges d'hydrocarbures standards d'une part et des produits d'origine pétrolière (gasoil, lubrifiants, fuels de vis-breaking) d'autre part.

En ce qui concerne les polluants dans les sols, leur extraction peut être difficile, essentiellement à cause de la nature complexe de ces sols, donnant lieu à des phénomènes d'interactions physico-chimiques. Ces interactions rendent souvent les molécules organiques inaccessibles à l'extraction par des solvants.

Les méthodes actuellement utilisées pour l'extraction (extraction par les fluides supercritiques, extraction par solvant accélérée, extraction assistée par les microondes etc...), bien qu'automatisées et rapides, présentent un certain nombre de désavantages :

- coût de l'appareillage
- utilisation de solvants destinés à être frappés d'interdiction pour des raisons de toxicité et de protection de l'environnement ( fréons, CCl<sub>4</sub>...)
- mise au point difficile due à l'influence de nombreux paramètres expérimentaux

Dans notre travail, nous avons d'abord envisagé une étude bibliographique exhaustive décrivant les techniques d'extraction et d'analyse développées ces dix dernières années. Une analyse critique comparative est proposée aussi bien au niveau des différentes méthodes d'extraction que de la problématique de la détection et du dosage des mélanges de polluants organiques.

Par la suite, nous présentons les principaux résultats obtenus en utilisant une technique d'analyse basée sur la détection par spectrométrie infrarouge et recommandée dans le cadre d'une norme AFNOR (Association Française de Normalisation). Cette technique, nécessitant évidemment une extraction préalable des polluants, a été appliquée à des échantillons aqueux et solides. Dans ce dernier cas, l'extraction a été assistée et améliorée au moyen des ultrasons. Cette technique a fait l'objet d'une analyse systématique des paramètres déterminants par rapport aux rendements d'extraction et aux seuils de détection (concentration, influence de l'humidité, longueur des cellules d'analyse infrarouge, méthode d'étalonnage).

Par rapport aux limitations de la technique utilisant l'infrarouge en termes d'efficacité (les rendements d'extractions sont faibles pour des concentrations en hydrocarbures inférieures à 50 mg/l, pour les échantillons aqueux et inférieures à 200 mg/kg pour les échantillons solides), nous nous sommes intéressés à une méthode d'extraction récente, le SOXTEC. Elle correspond à une amélioration de la méthode de référence SOXHLET. Les rendements d'extraction sont déterminés par gravimétrie, après optimisation des conditions opératoires.

Prenant en compte les limites constatées, dans une approche liée à un objectif de précision de fiabilité et de facilité de mise en oeuvre, nous avons développé une méthode d'analyse par Chromatographie sur Couche Mince (CCM), couplée à une détection basée soit sur l'ultraviolet soit sur la fluorescence.

La CCM permet de séparer par familles chimiques les mélanges de polluants. La détection UV est utilisée pour les composés aromatiques et polaires. Au niveau de la fluorescence, nous proposons une méthodologie originale basée sur les capacités spectrales de la berberine donnant lieu à une augmentation d'intensité d'émission de fluorescence en présence de composés possédant une chaîne alkyle.

Enfin, l'influence de différents paramètres chimiques et instrumentaux sur la précision de la méthode au niveau de la quantification est développée :

- conditions d'imprégnation de la phase stationnaire par la berbérine
- incidence de la taille du faisceau et du mode de balayage

Les travaux concernant l'utilisation de la méthode Soxtec et l'analyse par CCM ont été réalisés à l'Institut de Carbochimie de Saragosse (Espagne), lors d'un stage de recherche, sous la direction du Docteur Vicente CEBOLLA.

**REVUE BIBLIOGRAPHIQUE**

## **Chapitre I: REVUE BIBLIOGRAPHIQUE**

Dans ce chapitre, nous passons en revue les méthodes d'extractions actuelles, surtout dans le cas de l'extraction d'hydrocarbures appliquée aux échantillons de sols pollués. Ces méthodes ont été mises au point pour remplacer les techniques classiques d'extraction, le Soxhlet et la sonication (extraction sous ultrasons), dans l'objectif de réduire les temps d'analyse et les volumes de solvants consommés. Nous évoquons également les techniques de détection et d'analyse basées sur l'application de la chromatographie sur couche mince, qui pourraient se présenter comme une alternative aux méthodes classiques, telles que la chromatographie liquide haute performance (CLHP), la chromatographie en phase gazeuse (CPG) et la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRFT)

### **I.1. Les techniques modernes d'extraction**

#### **I.1.1. L'extraction par les fluides supercritiques**

Depuis la fin des années 1980, l'extraction par les fluides supercritiques a rencontré un intérêt considérable de la part des analystes, notamment dans le domaine des échantillons issus de l'environnement.

En effet, les méthodes classiques d'extraction présentent certains inconvénients : les temps d'extraction peuvent être longs (souvent quelques heures pour la sonication et de quelques heures à plusieurs jours pour l'extraction au Soxhlet), elles nécessitent de nombreuses manipulations et, de plus, de grandes quantités de solvants sont nécessaires, ce qui pose le problème de leur élimination étant donné leur toxicité et le danger qu'ils peuvent représenter pour l'environnement.

C'est pour ces raisons que l'extraction par les fluides supercritiques, dont le potentiel est dû aux propriétés de ces fluides, s'est révélée comme une alternative très intéressante aux méthodes classiques.

### I.1.1.1. Les propriétés des fluides supercritiques

Un fluide est dit dans son état supercritique si à la fois sa température et sa pression sont au-delà de leur valeur critique (CAMEL et Col. 1993), ce que l'on peut représenter sur un diagramme température/pression (figure 1) représentant les quatre états d'une substance (solide S, liquide L, vapeur V et supercritique).

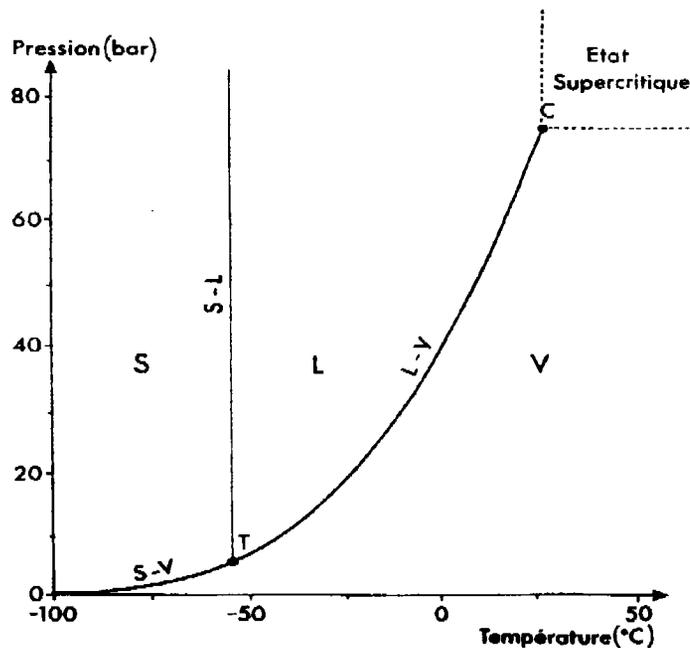


Figure 1 : Diagramme température pression des états d'une substance

L : phase liquide; V : phase vapeur; S : phase solide; T : point triple (où coexistent les trois phases);

C : point critique.

S-L, S-V, L-V : équilibres solide-liquide, solide-vapeur, liquide-vapeur.

**HEDRICK et Col. (1992)** définissent la température critique comme la température la plus élevée à laquelle un gaz peut être transformé en liquide par augmentation de la pression et inversement, la pression critique comme la pression maximale à laquelle un liquide peut être transformé en un gaz par augmentation de la température. Les fluides ont alors des propriétés qui en font des solvants d'extraction très intéressants.

En effet, leur viscosité est 5 à 20 fois inférieure à celle des liquides et par conséquent les coefficients de diffusion des solutés sont augmentés, ce qui permet des extractions plus rapides et plus efficaces qu'avec des solvants liquides classiques, ainsi qu'une meilleure pénétration du fluide dans les matrices solides. Leur densité, quant à elle, est 100 à 1000 fois supérieure à celle des gaz, ce qui leur confère un pouvoir de solvation proche de celui des liquides (TABLEAU I).

TABLEAU I : Ordres de grandeur de la viscosité  $\eta$ , de la densité  $\rho$

(Tc : Température critique; Pc : Pression critique)

Etat du fluide	$\rho$ (g.cm <sup>-3</sup> )	$\eta$ (Pa.s)
Gazeux (1 atm., 15-30 °C)	(0,6-2).10 <sup>-3</sup>	(1-3).10 <sup>-3</sup>
Supercritique (Tc, Pc)	0,2-0,5	(1-3).10 <sup>-5</sup>
(Tc, 4 pc)	0,4-0,9	(3-9).10 <sup>-5</sup>
Liquide (1 atm., 15-30 °C)	0,6-1,6	(0,2-3).10 <sup>-3</sup>

Le pouvoir de solvation d'un fluide supercritique étant relié à sa densité, on peut facilement le modifier en variant la pression ou la température d'extraction ce qui permet d'obtenir une excellente sélectivité vis à vis des composés à extraire d'une matrice donnée.

Par exemple, **Hawthorne et Miller (1936)** ont montré que le dioxyde de carbone supercritique peut extraire sélectivement des alcanes ou des hydrocarbures polyaromatiques, à

partir de poussières d'échappement de moteur diesel. En effet, 85% des alcanes sont extraits à 45°C et 75 atm. en 5 minutes alors que pour extraire 90% des hydrocarbures polyaromatiques, en 90 minutes, il faut élever la pression à 300 atm.

Les fluides supercritiques (TABLEAU II) sont particulièrement indiqués pour l'extraction de composés peu polaires ou apolaires et le choix du fluide peut être imposé par le composé à extraire. Par exemple le N<sub>2</sub>O supercritique est plus efficace que le CO<sub>2</sub> supercritique pour l'extraction d'amines de différentes matrices (Ashraf-Khorassani et col. 1990). Pour leur part, Hawthorne et Miller (1987) ont étudié l'extraction d'hydrocarbures polyaromatiques à partir de différentes matrices solides à l'aide de différents fluides supercritiques.

TABLEAU II : Solvants pouvant être utilisés comme fluides supercritiques

Composé	Pression critique (bars)	Température critique (°C)	Masse volumique critique (g.cm <sup>-3</sup> )
Dioxyde de carbone.....	73,8	31,0	0,448
Dichlorotétrafluoroéthane.....	35,5	146,7	0,582
Isopropanol.....	47,0	253,3	0,273
Hexafluorure de soufre.....	37,1	45,6	0,752
Dioxyde de soufre.....	77,6	157,5	0,524
Méthyléthyléther.....	43,4	164,7	0,272
Xénon.....	58,0	16,6	1,105
Ammoniac.....	111,3	132,3	0,240
Protoxyde d'azote.....	71,4	36,5	0,457
Ethane.....	48,3	32,4	0,203
<i>n</i> -Propane.....	41,9	96,7	0,217
Butane.....	37,5	152,0	0,228
<i>n</i> -Pentane.....	33,3	196,6	0,232
Dichlorodifluorométhane.....	39,4	111,7	0,558
Dichlorofluorométhane.....	51,0	178,5	0,522
Trichlorofluorométhane.....	41,7	196,6	0,554

Le CO<sub>2</sub> supercritique (figure 2) est le fluide d'extraction le plus couramment utilisé. En effet, il est chimiquement inerte, très bon marché, il ne présente pas de toxicité, il n'est pas inflammable et il est disponible sous des formes très pures. Ses paramètres critiques (31,1°C et 72,8 bars avec une densité de 0,468 g.cm<sup>-3</sup>) sont aisément accessibles. Quant à son élimination, lors de la récupération des solutés, elle se fait sans difficulté par vaporisation du fluide, lors de sa détente, sans que cela ne présente de danger pour l'atmosphère

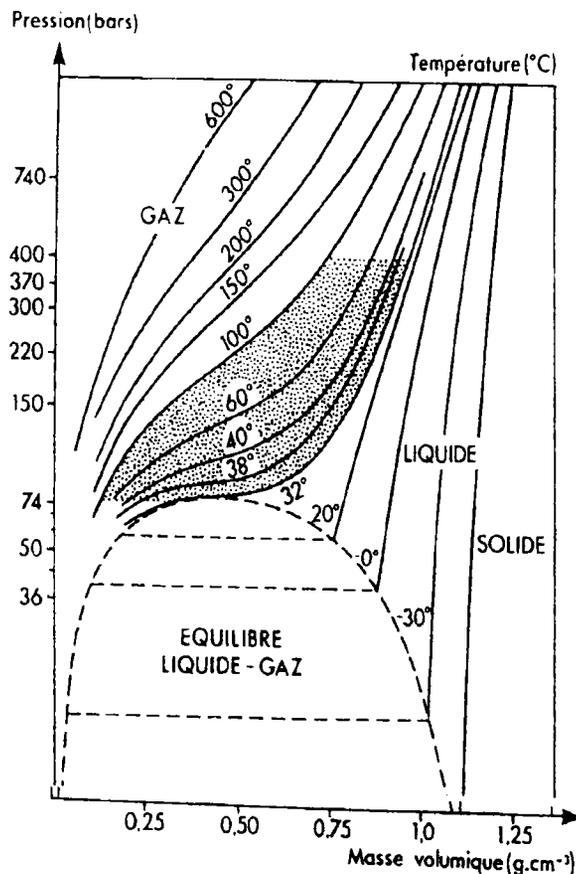


Figure 2 : Domaine d'utilisation du CO<sub>2</sub>

Le domaine utile en extraction par des fluides supercritiques est la zone grisée.

Pour obtenir une extraction quantitative de composés polaires, il est possible d'augmenter la polarité du fluide d'extraction en ajoutant un cosolvant en faible concentration (généralement moins de 5% en volume). **Langenfeld et col. (1994)** ont montré que le choix du cosolvant dépend non seulement du type de composé à extraire mais aussi du type de matrice les contenant. Ainsi un choix judicieux permet d'augmenter de façon importante le rendement d'extraction d'hydrocarbures polycycliques aromatiques (HAP) et de pesticides.

TABLEAU III : Les cosolvants utilisés avec le dioxyde de carbone (d'après **Janda 1993**) :

Cosolvant	Tc (°C)	Pc (atm.)	Masse moléculaire	Constante diélectrique à 20 °C	Indice de polarité
Méthanol.....	239,4	79,9	32,04	32,70	5,1
Ethanol.....	243,0	63,0	46,07	24,3	4,3
Propane-1-ol.....	263,5	51,0	60,10	20,33	4,0
Propane-2-ol.....	235,1	47,06	60,10	19,3	3,9
Hexane-1-ol.....	336,8	40,0	102,18	13,3	3,5
2-Méthoxyéthanol.....	302,0	52,2	76,10	16,93	5,5
Tétrahydrofuranne.....	267,0	51,2	72,11	7,58	4,0
1,4 -Dioxane.....	314,0	51,4	88,11	2,25	4,8
Acétonitrile.....	275,0	47,7	41,05	37,5	5,8
Dichlorométhane.....	237,0	60,0	84,93	8,93	3,1
Chloroforme.....	263,2	54,2	119,38	4,81	4,1
Carbonate de Propylène.....	352,0		102,09	69,0	6,1
N,N-Diméthylacétamide.....	,84,0		87,12	37,78	6,5
Diméthyl Sulphoxyde.....	465,0		78,13	46,68	7,2
Acide Formique.....	307,0		46,02	58,5	
Eau.....	374,1	217,6	18,01	80,1	10,2
Disulfure de Carbone.....	279,0	78,0	76,13	2,64	

### I.1.1.2. Instrumentation

L'appareillage est d'un concept relativement simple (Figure 3). Il comporte une pompe, une cellule située dans un four (en général un four de chromatographe), un restricteur et un système de récupération des composés extraits. Il peut également être équipé d'une seconde pompe pour l'addition de cosolvant.

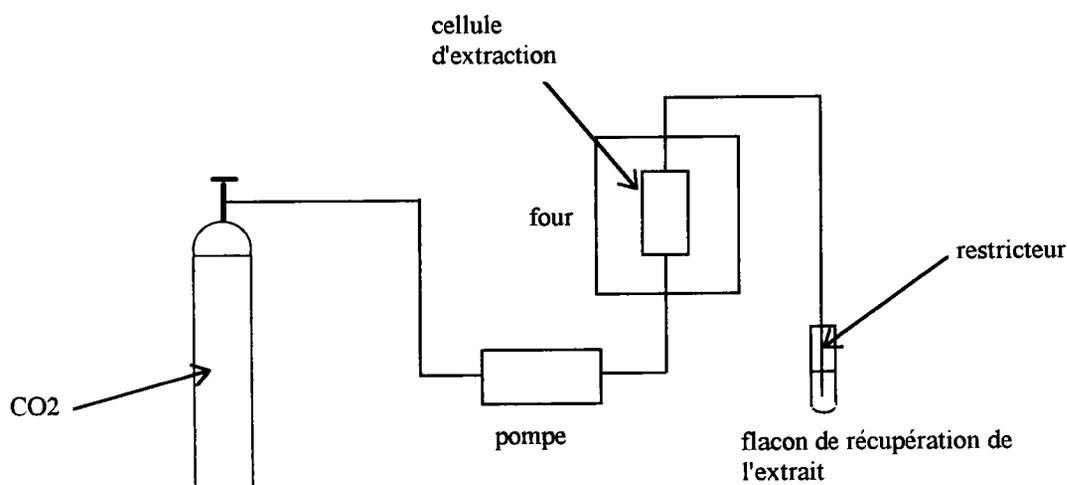


Figure 3 : Schéma de l'appareillage d'extraction par les fluides supercritiques

La pompe est initialement remplie par le fluide choisi dont la température a été abaissée afin de l'amener à son état liquide. Elle permet d'élever la pression, au-dessus de sa valeur critique. Le fluide est ensuite pompé au travers des tubulures jusqu'à la cellule d'extraction (en acier inoxydable) qui contient l'échantillon, généralement maintenu entre deux frittés. La cellule est chauffée par le four à une température supérieure à la température critique du fluide. En mode statique, on laisse le fluide interagir un certain temps avec l'échantillon alors qu'en mode dynamique, un débit constant du fluide est maintenu à travers la cellule. Les deux modes sont parfois combinés.

Lorsque le fluide et l'extrait ont quitté la cellule il est nécessaire de les séparer pour récupérer l'extrait, à la sortie d'un restricteur, en vue de l'analyser. C'est l'étape de recueil de l'extrait.

Le restricteur permet de maintenir la pression dans la cellule et de dépressuriser le fluide. Il en existe deux type constitués respectivement d'une pièce en acier inoxydable ou d'un capillaire en silice fondue, de très petit diamètre intérieur (30-50  $\mu\text{m}$ ). Comme le restricteur est généralement ouvert à la pression atmosphérique, il est nécessaire de le chauffer afin d'en éviter le bouchage par précipitation de l'extrait ou par gel de l'eau éventuellement contenue dans l'échantillon.

La récupération des extraits peut se faire :

- par dépressurisation du fluide dans un flacon vide
- par dépressurisation du fluide dans un flacon contenant du solvant
- par piégeage sur une surface solide refroidie

Mais l'extraction par des fluides supercritiques peut également être couplée directement à des appareil analytiques (chromatographie en phase gazeuse, chromatographie liquide, chromatographie liquide haute performance).

### I.1.1.3. Facteurs influençant l'extraction

L'extraction de composés spécifiques, à partir d'une matrice donnée, nécessite une optimisation de certains paramètres d'extraction afin d'obtenir des rendements quantitatifs.

#### a) Influence de la pression

La pression du fluide est un des paramètre importants ayant une influence sur le rendement d'extraction. En effet, l'élévation de la pression, à une température donnée, entraîne une augmentation de la densité du fluide, ce qui signifie une meilleure solubilité des composés à extraire (figure 4).

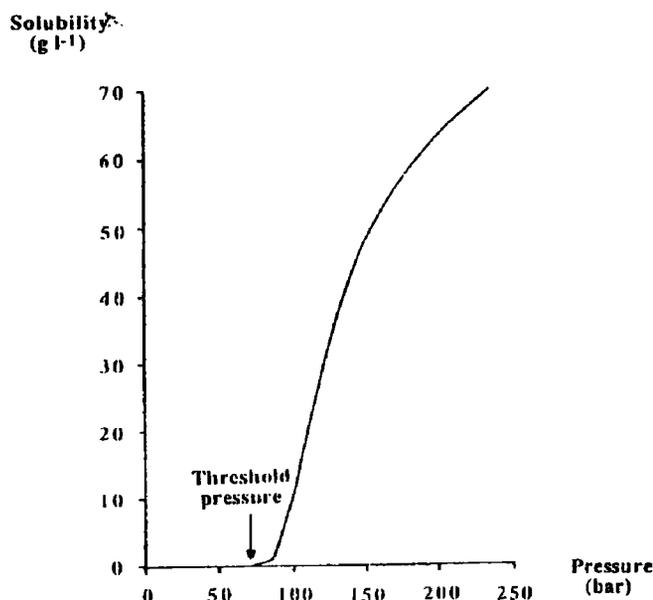


Figure 4 : Variation de la solubilité du naphthalène avec la pression du CO<sub>2</sub> supercritique à 45°C (d'après Camel et col. 1993)

Par conséquent, l'élévation de la pression permet une diminution du volume de fluide et donc une diminution du temps (pour un débit fixé) nécessaire pour une extraction donnée. Par exemple, Lopez-Avila et col. (1992) ont étudié l'influence de la pression sur l'extraction d'hydrocarbures totaux à partir d'un échantillon de sol certifié contenant des hydrocarbures polyaromatiques, à l'aide de CO<sub>2</sub> supercritique à 55°C : pour une pression de 150 atm. ils ont obtenu un rendement de 77% en 120 minutes, alors qu'en 60 minutes et avec des pressions de 250 atm et 350 atm, les rendements étaient de 96% et 98% respectivement. (les rendements d'extraction ont été calculés par rapport à la concentration obtenue par extraction au Soxhlet avec du Fréon 113). Langenfeld et col. (1993) ont observé le même effet favorable de l'augmentation de pression sur l'extraction d'hydrocarbures polyaromatiques de différentes matrices solides, avec du CO<sub>2</sub> supercritique à 200°C : le rendement augmente de façon sensible si la pression du fluide est élevée de 150 atm. à 350 atm et 650 atm successivement. Cependant cette tendance n'est pas observée si la température du fluide n'est que de 50°C. De même, ils ont pu montrer que l'augmentation de pression n'a pas d'effet significatif sur l'extraction de PCB (polychlorobiphényle) aux deux températures du fluide étudiées.

L'élévation de la pression du fluide n'a donc pas systématiquement un effet favorable à l'extraction. De plus, dans le cas de matrices complexes, étant donné l'augmentation de solubilité des solutés avec la pression, on peut obtenir un extrait correspondant à un mélange très complexe et, par conséquent, difficile à analyser.

#### b) Influence de la température

A pression constante, l'augmentation de température entraîne une diminution de la densité (voir figure 2 page 9 dans le cas du CO<sub>2</sub>). De plus, la température influe sur la volatilité des solutés. Il est difficile de prédire l'effet d'une élévation de température (Camel et col. 1993) parce qu'il dépend de la nature de l'échantillon.

Pour un composé non volatil, une température élevée entraîne une diminution de solubilité et donc de rendement d'extraction, alors que pour un composé volatil, il y a compétition entre sa solubilité dans le fluide (qui diminue quand la température augmente) et sa volatilité (qui augmente avec la température).

Hawthorne et Miller (1994) ont ainsi étudié l'influence de la température sur le rendement d'extraction (calculé par comparaison avec la concentration obtenue lors de l'extraction au Soxhlet) de pesticides, de chlorophenols, d'amines aromatiques, d'hydrocarbures polyaromatiques et de composés aromatiques hétérocycliques à partir de différents échantillons de sols, le fluide étant le CO<sub>2</sub> à une pression de 400 atm. L'élévation de la température de 50°C à 200°C a très nettement amélioré le rendement d'extraction de tous les composés, malgré la diminution de la densité du fluide. Par contre, le passage de la température de 200°C à 350°C n'a pas amélioré le rendement, au contraire, les auteurs ont observé une diminution de ce rendement.

#### c) Influence du cosolvant

Étant donné la faible polarité des fluides usuels, on les utilise pour l'extraction de composés apolaires ou peu polaires. Pour extraire des composés plus polaires, il est nécessaire

d'ajouter au fluide une petite quantité de solvant polaire organique (alcool, acétonitrile, eau, etc.). Le choix du cosolvant dépend des composés à extraire, en général on choisit un cosolvant qui est un bon solvant, dans son état liquide, pour les composés en question. Selon **Langenfeld et col. (1994)**, le rôle du cosolvant est d'interagir avec le complexe formé par le soluté et la matrice afin de permettre une désorption par le fluide supercritique (ou empêcher une réadsorption). De plus, le cosolvant peut augmenter les propriétés solubilisantes du fluide et permettre des meilleures conditions "d'élution", ce qui est très important pour des molécules de masse moléculaire élevée (comme les hydrocarbures polyaromatiques) dont la solubilité est assez faible sans cosolvant alors que leur tendance à la réadsorption sur la matrice est élevée. Ces auteurs ont étudié les rendements d'extractions avec différents cosolvants (méthanol, dichlorométhane, toluène, hexane, acétonitrile, aniline, diéthylamine et acide acétique) à différentes concentrations (1% et 10 % en volume) d'hydrocarbures aromatiques polycycliques et de PCB à partir de différentes matrices solides.

La figure 5 montre que l'addition de grandes quantités de cosolvant au fluide supercritique (ici  $\text{CO}_2$ ) modifie de façon sensible les paramètres critiques de ce dernier.

Si le cosolvant est mêlé au fluide supercritique, en amont de la cellule d'extraction, le cosolvant est dit dynamique. S'il est ajouté directement à l'échantillon dans la cellule, avant l'extraction, on parle alors de cosolvant statique.

L'utilisation d'un cosolvant dynamique nécessite l'ajout d'une seconde pompe ou de disposer de réservoir contenant le mélange fluide-cosolvant et **Reindl et Höfler (1994)** ont noté que des impuretés peuvent être présentes dans le fluide et qu'une démixtion du  $\text{CO}_2$  et du cosolvant a été observée au cours du stockage. De plus ce type d'équipement est très onéreux. La méthode du cosolvant statique, bien que simple à mettre en oeuvre, ne permet l'ajout que de petites quantités de cosolvant. Comme ce cosolvant est élué par le  $\text{CO}_2$ , en peu de temps, cela implique un temps de contact court avec l'échantillon (**Langenfeld et col. 1994**).

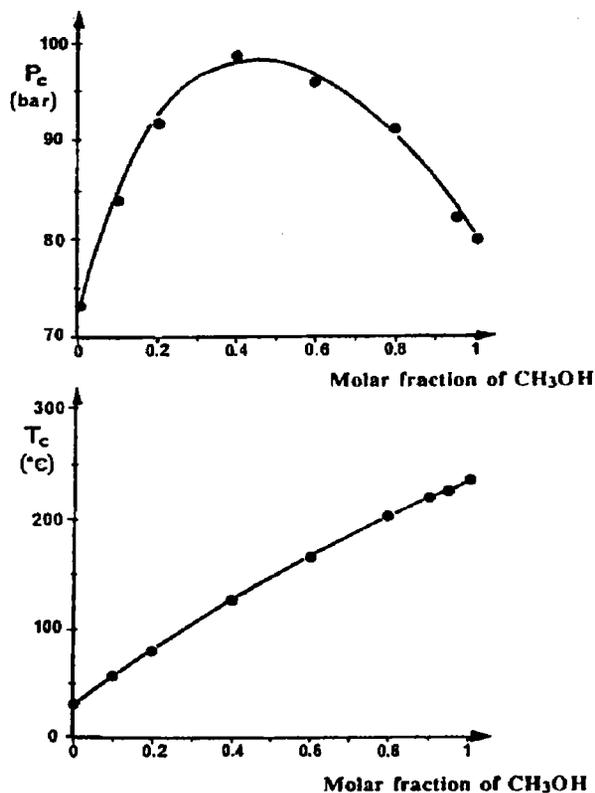


Figure 5 : Variation de la pression et de la température critiques du mélange  $\text{CO}_2$ /méthanol en fonction de la fraction molaire du méthanol (d'après Camel et col. 1993).

#### d) Influence du débit du fluide

Il est aisé de faire varier le débit du fluide en utilisant des restricteurs de différents diamètres internes. La diminution du débit entraîne généralement une augmentation du rendement d'extraction, étant donné que le temps de contact entre le fluide et l'échantillon s'en trouve augmenté. Mais cela a aussi pour effet d'allonger le temps d'extraction. Par contre, l'augmentation du débit peut induire une diminution du rendement d'extraction en provoquant

la perte de solutés durant l'étape de décompression du fluide. Il est donc nécessaire de trouver le débit optimal afin de ne pas nuire au rendement d'extraction, sans pour autant avoir des temps d'extraction trop longs.

Cependant ni **Langenfeld et col.** (1992), dans le cas de l'extraction de HPA d'échantillons de sol ni **Reindl et Höfler** (1994), dans le cas d'échantillons solides synthétiques préparés par injection de HPA, n'ont observé pas d'effet sensible de l'augmentation du débit sur le rendement d'extraction.

**Hawthorne et col.** (*J. of Chrom.* 1993), par contre, ont observé un rendement d'extraction accéléré lorsque le débit de CO<sub>2</sub> était augmenté, dans le cas d'échantillons de sol contaminés par des hydrocarbures provenant d'huile moteur.

#### e) Influence de la géométrie de la cellule

A volume égal, et à débit donné, la forme de la cellule peut faire varier la vitesse linéaire du fluide, selon le diamètre interne de cette cellule. On pourrait donc s'attendre à de meilleures efficacités d'extraction dans le cas de cellules courtes à large diamètre en raison de la diminution de la vitesse linéaire et donc de l'augmentation du temps de contact entre le fluide et l'échantillon. Mais on peut aussi supposer qu'on peut avoir de meilleurs rendements avec des cellules de plus petit diamètre étant donné les turbulences provoquées par la plus grande vitesse du fluide, ce qui peut améliorer les transferts de masse.

En fait **Hawthorne et col.** (1993), après l'étude de plus d'une centaine d'échantillons de sols et de sédiments préparés en laboratoire ou réels, en sont arrivés à la conclusion que l'influence de la taille ou de l'orientation de la cellule (verticale ou horizontale) avait peu d'influence sur l'extraction de HPA.

#### f) Influence des méthodes de récupération des solutés :

Après l'étape d'extraction de solutés par un fluide supercritique, l'étape suivante consiste en un piégeage de ces solutés afin de les recueillir et les soumettre à diverses analyses.

Un choix adéquat de la méthode de piégeage est d'une importance capitale. En effet, comme le rappellent Levy et col (1992), de mauvais rendements d'extraction ont souvent été attribués à une faible solubilité de solutés dans le fluide, par exemple, alors qu'il se produisait, en fait, une perte d'échantillons volatils durant l'étape de piégeage et récupération de ces composés.

Généralement le piégeage se fait par décompression du fluide à la sortie du restricteur et il est d'autant plus difficile lorsque les solutés sont volatils et le débit élevé, causes des pertes évoquées ci-dessus.

Les principales méthodes de récupération des solutés consistent en un piégeage dans un solvant liquide ou sur une surface solide.

Dans le cas du piégeage par un solvant, le restricteur est introduit dans un flacon contenant le solvant adéquat. Les composés extraits sont dissous progressivement dans le solvant pendant que le fluide décompresse et s'échappe dans l'atmosphère. Langenfeld et col.(1992) ont étudié le piégeage de composés semi-volatils par différents solvants. Ils en ont conclu que les facteurs les plus importants pour l'efficacité de la technique sont le choix du solvant et de la température à laquelle il est maintenu (pour éviter le bouchage du restricteur), par rapport au volume du solvant et sa hauteur dans le flacon (cette dernière dépendant de la forme du flacon). Les auteurs ont obtenu des récupérations quantitatives (90-100%) pour les 66 composés testés avec pour solvant le dichlorométhane, maintenu à 5°C.

Les solutés peuvent également être piégés dans un flacon vide mais cela nécessite des précautions afin d'éviter la perte des composés les plus volatils. Miller et col. (1993), par exemple, ont utilisé un système sans restricteur (l'extraction étant réalisée en mode statique), ce qui a permis une dépressurisation rapide du CO<sub>2</sub> et évite les problèmes de bouchage du restricteur. Ils ont démontré que ce type de piégeage sans solvant permet de recueillir une grande quantité de solutés même volatils, alcanes, HPA, PCB, composés provenant d'essence et de gasoil, avec une efficacité comparable et même supérieure au piégeage dans un solvant en mode d'extraction dynamique. De plus, cette méthode a l'avantage de permettre le choix de la dilution adéquate des solutés pour les analyses effectuées par la suite sur ces composés.

Le dernier type de piégeage est réalisé sur une surface solide (microbilles de verre ou d'acier) refroidie par le fluide lors de la dépressurisation ou par une autre source (CO<sub>2</sub> ou N<sub>2</sub> liquide). Les solutés sont ensuite dissouts au niveau de la surface par un petit volume de solvant pour des analyses ultérieures. Le piège solide peut également être un matériau adsorbant (du type de ceux utilisés en chromatographie), et dans ce cas le piégeage est chimique. Il suffit ensuite de les éluer à l'aide d'un solvant (ce qui peut se révéler long). Levy et col. (1992) ont étudié ce dernier type de piège et ont obtenu des rendements quantitatifs, même pour des composés volatils (dodécane) avec une température de - 50°C. Ils ont également observé que la température de désorption des composés par un solvant avait aussi un rôle important et qu'il était possible d'utiliser des débits de fluides élevés pour accélérer la vitesse d'extraction. Ashraf-Khorassani et col. (1992) ont comparé le piégeage de différents composés (alcanes, HPA et pesticides) à l'aide de flacons vides, de flacons contenant 2 ml de dichlorométhane, et d'un adsorbant (constitué de billes de verres silanisées) refroidi à - 30°C. Ils ont obtenu une faible efficacité de piégeage avec les flacons vides, même avec de faibles débits de CO<sub>2</sub>. De même avec des flacons contenant du solvant mais cependant, une efficacité supérieure à 90% a pu être obtenue en réduisant le débit de CO<sub>2</sub>. Avec l'adsorbant, ils ont obtenu une efficacité supérieure à 90%, même à débit élevé. Les auteurs soulignent que dans le cas de ce type de piège, la température a un rôle important, notamment pour les composés les plus volatils, de même que le choix du solvant de lavage, en raison de la solubilité des composés extraits.

L'extraction par des fluides supercritiques peut être couplée directement à des techniques chromatographiques, ce qui présente l'avantage d'éviter de nombreuses manipulations des extraits et donc limite les risques de pertes et de plus procure une sensibilité maximale. On peut citer le couplage avec la chromatographie en phase gazeuse, par l'intermédiaire d'un injecteur "split/splitless" (Hawthorne et col. 1990), ou d'un injecteur "on-column" (Hawthorne et col. 1989) entre autres. Il est également possible de coupler l'extraction supercritique avec la chromatographie en phase supercritique sur colonnes capillaires ou sur colonnes remplies (Wheeler et McNally 1989)

g) Influence de la matrice :

L'efficacité de l'extraction peut être influencée par de nombreux facteurs : la taille et la forme des particules, la surface, la porosité, l'humidité, la quantité de composés extractibles et la nature même de la matrice. Les interactions entre les solutés et les sites actifs de la matrice peuvent nécessiter des conditions d'extraction très sévères.

Généralement, le broyage de l'échantillon avant son utilisation favorise l'extraction en raison de l'augmentation de la surface exposée au fluide, permettant une meilleure diffusion des solutés hors de la matrice. Cependant, il faut veiller à éviter des chutes de pression dans la cellule dues à un compactage d'un échantillon broyé trop finement, ou à un bouchage (qui peut être évité en maintenant l'échantillon entre des morceaux de coton de verre ou de papier filtre, ou entre des couches de billes de verre).

Comme l'extraction d'un composé dépend de sa distribution entre le fluide et les sites actifs (sites polaires) de la matrice, le rendement d'extraction dépend de la nature chimique non seulement du composé mais aussi de celle de la matrice. C'est le cas pour toutes les méthodes d'extraction sur des échantillons solides, ce qui en rend la mise au point difficile parce que les résultats obtenus pour un type de matrice solide n'est pas forcément généralisable à l'ensemble des matrices. Ainsi, un solide avec de nombreux sites actifs retient fortement les composés polaires rendant leur extraction difficile.

Emery et col. (1992) illustrent bien l'influence de la nature physique et chimique de la matrice sur l'efficacité de l'extraction. En effet, ils ont étudié les rendements d'extraction d'un gasoil à partir de différents types d'argiles. Ils ont observé que les montmorillonites renaient plus le gasoil que l'illite ou le kaolin en raison d'une plus grande surface interne (porosité). La même différence est observée entre une montmorillonite contenant du calcium et son analogue contenant du sodium qui est plus adsorbante en raison d'une plus grande enthalpie d'hydratation de l'ion calcium.

La matrice peut aussi contenir des composés organiques affectant le rendement d'extraction s'ils sont plus facilement extractibles que les composés ciblés, mais aussi des composés pouvant entraîner le bouchage de restricteur si des précautions ne sont pas prises pour prévenir ce type de problème. Le soufre élémentaire  $S_8$ , par exemple, a bouché le restricteur lors de l'extraction de HAP à partir d'un échantillon certifié contenant 2% (en masse) de soufre élémentaire (Crowther et col. 1985).

La présence d'eau peut également influencer l'efficacité de l'extraction selon la nature des composés ciblés. Par exemple, le rendement d'extraction d'hydrocarbures totaux à partir d'un échantillon de sol argileux contaminé par de l'huile de moteur diminue fortement avec la teneur en eau : il est de 97% pour un échantillon contenant 11% d'eau et de seulement 29% pour un échantillon contenant 40% d'eau (Lopez-Avila et col. 1992). L'eau affecte généralement l'extraction de composés apolaires en couvrant la surface de la matrice jouant le rôle de barrière à la pénétration du fluide, ce qui est confirmé par la comparaison entre le fréon 22 ( $CHClF_2$ ) et le  $CO_2$  supercritiques pour l'extraction de HAP à partir de déchets pétroliers: le fréon 22 extrait plus d'eau que le  $CO_2$ , les solutés sont ainsi plus accessibles pour le fluide extractant et le rendement d'extraction est alors plus élevé avec le fréon 22 qu'avec le  $CO_2$  (Hawthorne et col. 1992).

Par contre la présence d'eau favorise l'extraction des composés polaires en occupant les sites actifs de la matrice. De plus, l'eau peut exercer une influence sur l'action du cosolvant. Par exemple, le méthanol facilite l'extraction de phénol d'un échantillon de sol sec par l'augmentation de la polarité du  $CO_2$  supercritique. Mais il perd son effet favorable quand l'échantillon est humide, sans doute en raison de sa solubilisation dans l'eau contenue dans la matrice. La polarité du fluide n'est plus alors augmentée. Si le benzène est utilisé comme cosolvant, cette solubilisation n'a pas lieu et l'eau favorise l'extraction du phénol, composé polaire (Camel et col. 1993).

Etant donné les nombreux paramètres pouvant influencer sur l'efficacité de l'extraction par les fluides supercritiques, l'application de cette méthode nécessite une mise au point des

conditions expérimentales optimales, adaptées aux différents types de composés à extraire et aux différents types de matrices sur lesquelles ils sont adsorbés.

#### I.1.1.4. Applications

L'extraction par les fluides supercritiques a très largement été utilisée pour l'analyse d'échantillons provenant de l'environnement, se révélant souvent plus efficace que les méthodes classiques d'extraction liquide-solide. Il serait trop ambitieux de citer ici toutes ces applications, et tous les travaux dont elle a fait l'objet. Aussi, seules quelques unes d'entre elles sont réunies dans le TABLEAU IV (p 23) avec notamment les applications concernant les hydrocarbures totaux (carburants, l'essence, le gasoil, le fuel etc...) dans les sols et les sédiments.

Etant donné les caractéristiques de l'extraction supercritique, que nous avons évoquées jusqu'ici, cette méthode est tout à fait adaptée à l'extraction de ces hydrocarbures totaux dans des échantillons de sols contaminés par des carburants. En effet, ces derniers sont essentiellement constitués de composés apolaires ou très peu polaires (alcanes, alkylbenzènes, aromatiques) aisément extractibles par le CO<sub>2</sub> supercritique, même si le type de matrice peut nécessiter une mise au point des conditions optimales d'extraction.

**TABLEAU IV : Applications de l'extraction par les fluides supercritiques  
dans le domaine de l'environnement**

Composés testés	Type d'échantillons	Auteurs
HAP	sédiments surchargés et certifiés	Burford et col. 1993
HAP, PCB	sédiments terrestres et marins certifiés	Langenfeld et col. 1994
Hydrocarbures pétroliers	sédiments contaminés réels	Monin et col. 1988
HAP	sédiments contaminés réels et surchargés	Reindl et Höfler 1994
Hydrocarbures pétroliers totaux	sédiments surchargés et certifiés	Lopez-Avila et col. 1992
Hydrocarbures pétroliers totaux	sédiments contaminés réels	Hawthorne et col. 1993
Hydrocarbures pétroliers totaux	sédiments contaminés réels et surchargés	Eckert-Tilotta et col. 1993
Alcanes	sédiments réels	Hawthorne et col. 1989 Arston et col. 1988
PCB, HAP, Fuel, Pesticides	sédiments réels	Hawthorne et col. 1990 Wheeler et Mc Nally 1989 Hedrick et Taylor 1989

(les échantillons surchargés sont préparés en laboratoire, les échantillons certifiés sont des échantillons dont les concentrations en polluants sont connues, et les échantillons réels sont prélevés sur des sites pollués).

#### **I.1.1.5. Conclusion :**

L'extraction par des fluides supercritiques est une méthode très couramment utilisée pour le traitement d'échantillons de sols provenant de sites contaminés. Mais elle nécessite une mise au point préalable pour en optimiser l'efficacité en raison des nombreux paramètres dont elle dépend.

Elle présente un certain nombre d'avantages :

- c'est une méthode rapide par rapport aux techniques classiques

- elle évite l'emploi de grandes quantité de solvants toxiques
- les fluides utilisés peuvent être éliminés facilement par dépressurisation dans l'atmosphère sans risque pour l'environnement (dans le cas du CO<sub>2</sub>)
- peu de manipulations de l'extrait (dans le cas de couplage direct) sont nécessaires entre la phase d'extraction et la caractérisation par diverses méthodes d'analyses.

Cela en fait une méthode de choix pour les analystes.

Ses désavantages concernent sa dépendance vis à vis des composés et des matrices et le coût initial de l'appareillage. Mais si elle est utilisée de manière routinière, ce dernier inconvénient peut être compensé par le faible coût unitaire des analyses, comparativement aux extractions classiques (soxhlet, sonication).

### **I.1.2. L'extraction par solvants accélérée (ASE)**

L'extraction par solvants accélérée est une technique très récente qui se présente comme une alternative aux méthodes classiques d'extraction liquide-solide qui, rappelons-le, sont consommatrices de temps et de grandes quantités de solvants généralement toxiques.

#### **I.1.2.1. Principe**

Cette méthode est basée sur une extraction liquide-solide utilisant des solvants ou des combinaisons de solvants afin d'extraire, à pression et température élevées, des polluants organiques de matrices solides.

Les pressions élevées utilisées (100-140 bars) permettent de maintenir le solvant dans son état liquide.

A haute température, la désorption des analytes de la matrice et le processus cinétique de dissolution sont accélérés par rapport aux solvants utilisés à température ambiante (**Richter et col. 1995**). Cela permet une diminution des volumes de solvants (10-15 ml/10g d'échantillon) utilisés grâce à cette augmentation des capacités de solvation ainsi qu'une diminution des temps d'extraction (10-20 mn).

Cette technique peut, tout comme l'extraction par des fluides supercritiques, être sélective en fonction du choix du (ou des) solvants.

### I.1.2.2. Instrumentation

L'appareillage comporte une cellule d'extraction en acier reliée à un système de chauffage et de pompes (figure 6) contrôlés électroniquement afin de maintenir les conditions de température et de pression sélectionnées. le système est entièrement automatisé.

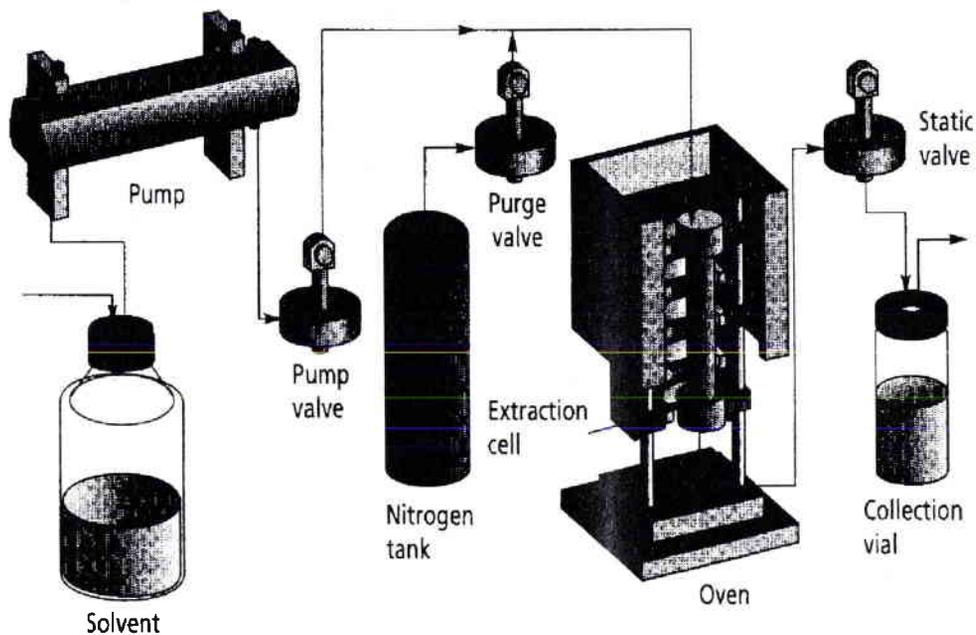


Figure 6 : Appareillage mis en oeuvre pour l'extraction par solvants accélérée. (Majors 1996)

Les étapes de l'extraction sont les suivantes :

- dépôt de l'échantillon dans la cellule
- chargement automatique de la cellule dans le système

- introduction du solvant dans la cellule et pressurisation
- chauffage de la cellule
- extraction en mode statique (pas de flux de solvant à travers la cellule)
- transfert de l'extrait vers le flacon de récupération et lavage de la cellule et des tubulures à l'aide d'un petit volume de solvant frais
- purge du système à l'aide d'un flux de gaz pressurisé

Seule la première étape est réalisée manuellement par le manipulateur. L'échantillon est pesé directement dans la cellule. Toutes les autres étapes sont automatiques et programmées. Le système charge la cellule dans le four et celle-ci est scellée de manière à pouvoir supporter des hautes pressions. Grâce à la pompe, le solvant s'écoule à travers la cellule jusqu'à ce qu'un petit volume soit détecté dans le flacon de recueil. La valve statique est fermée et le pompage continue jusqu'à ce que la pression programmée soit atteinte. Elle est contrôlée et régulée par la valve. La cellule est alors chauffée et l'extraction a lieu durant un temps déterminé à l'issue duquel la valve statique s'ouvre. Le solvant contenant l'extrait quitte alors la cellule et s'écoule jusqu'au flacon de récupération. Du solvant frais est ensuite pompé à travers la cellule et les tubulures de jonction pour éliminer les traces de polluant, ce solvant étant également recueilli dans le flacon de récupération. Du gaz pressurisé permet alors de purger le solvant restant dans l'ensemble du système.

Les cellules d'extraction étant disposées sur un carrousel (les plus grand carroussels peuvent contenir jusqu'à 24 cellules), cela permet l'extraction simultanée de plusieurs échantillon dont des échantillons étalons ou des "blancs" (échantillons vierges de tout contaminant servant généralement de témoins).

De plus, tous les échantillons peuvent être traités de manière identique ou en adaptant les conditions d'extraction pour chacun d'entre eux (pression et temps d'extraction). Cette flexibilité est particulièrement utile pour le développement des protocoles d'extraction, pour l'examen rapide de différents types d'échantillons, pour l'étude de la répétabilité de la méthode. Le système permet également de détecter les différentes tailles de cellule présentes dans le four et les volumes de solvant délivrés sont automatiquement adaptés à ces tailles.

### I.1.2.3. Facteurs influençant l'extraction

Les facteurs pouvant influencer l'efficacité de l'extraction sont : la pression et la température du solvant, le temps d'extraction, le choix du solvant et la nature de la matrice.

**Saim et col.** (1998) ont utilisé un plan d'expériences pour étudier l'influence des conditions opératoires sur l'extraction d'hydrocarbures polyaromatiques à partir d'échantillons de sol contaminé. Les variables examinées sont : la pression (1000; 1300; 1700; 2100; 2400 psi soit 68; 88,4; 115,6; 142,8; 163,2 bars), la température (40; 70; 120; 170; 200°C) et le temps d'extraction (2; 5; 9; 13; 16 mm). Dans un intervalle de confiance à 95%, aucune de ces trois variables n'est significative, si l'on considère les HAP dans leur ensemble. Mais s'ils sont considérés individuellement, l'extraction de certains d'entre eux dépend des conditions opératoires, et plus particulièrement de la température.

Les auteurs ont également étudié l'influence du solvant d'extraction (acétone, dichlorométhane, méthanol, acétonitrile, hexane et mélanges binaires de certains de ces solvants). Les différences de rendement ne sont pas significatives lorsque les solvants utilisés sont polaires mais le rendement est diminué avec des solvants de polarité faible.

La présence d'eau peut également influencer l'extraction. Par exemple, les rendements d'extraction de différents hydrocarbures à l'aide d'un solvant peu polaire (**DIONEX 324**) à partir d'échantillon de sol argileux standards, sont plus faibles en présence d'humidité, ce qui est attribué à la faible miscibilité des solvants peu polaires avec l'eau contenue dans les échantillons. L'utilisation d'un solvant polaire permet d'obtenir un rendement quantitatif.

**Richter et col.** (1995) ont étudié les rendements d'extraction de différents polluants semi-volatils répertoriés par l'US EPA (Environmental Protection Agency), de pesticides et d'HPA à partir de trois types de matrices solides : argile, terreau et sable. Ils sont arrivés à la conclusion que le processus était indépendant du type de matrice.

Ces études montrent que, contrairement à l'extraction par les fluides supercritiques, l'extraction par solvant accélérée ne dépend pas d'un grand nombre de facteurs. Ce qui rend la mise au point de la méthode plus rapide.

#### I.1.2.4. Applications

Nous indiquons dans le TABLEAU V quelques exemples d'applications de l'extraction par solvants accélérée pour des polluants courants de l'environnement (les échantillons surchargés sont préparés en laboratoire, les échantillons certifiés sont des échantillons dont les concentrations en polluants sont connues, et les échantillons réels sont prélevés sur des sites pollués).

TABLEAU V : Applications de l'ASE.

Composés extraits	Type d'échantillons	Auteurs
HAP, PCB, Hydrocarbures pétroliers totaux	Sédiments certifiés	Richter et col. 1996
Pesticides et herbicides	Sédiments surchargés	Ezzel et col. 1995
HAP, PCB	Sédiments surchargés	Richter et col 1995
HAP	Sédiments contaminés réels	Saim et col. 1998
Hydrocarbures pétroliers totaux	Sédiments surchargés	Note d'application DIONEX N° 324
HAP	Sédiments contaminés réels	Saim et col. 1997
HAP, PCB, pesticides	Sédiments contaminés réels	Popp et col. 1997

#### I.1.2.5. Conclusion

L'extraction par solvants accélérée est une méthode très récente mais qui rencontre un certain intérêt de la part des analystes.

Elle présente de nombreux avantages par rapport aux méthodes classiques : diminution de la consommation de solvant (10-15 ml de solvant pour 10 g d'échantillon contre 50-500 ml), rapidité (10-20 mn contre quelques heures et parfois quelques jours). De plus elle est automatisée, ce qui permet de réduire les erreurs expérimentales dues au manipulateur, et permet le traitement simultané de nombreux échantillons (permettant une mise au point rapide des conditions expérimentales).

Cependant, l'extrait final peut nécessiter une concentration avant sa caractérisation par différentes méthodes d'analyse.

De plus l'appareillage est d'un coût élevé qui, pour être amorti, nécessite une utilisation en routine (en raison du faible coût de revient de chaque extraction).

### **I.1.3. L'extraction par Soxhlet automatisé**

Depuis des décennies, le Soxhlet est le système le plus courant d'extraction de composés semi-volatils, à partir d'échantillons solides, en raison des avantages précédemment évoqués : le coût de l'appareillage est faible par rapport à la majorité des autres techniques d'extraction et son utilisation nécessite peu de précautions particulières au niveau de la surveillance du montage.

Par contre, il présente deux inconvénients majeurs : la durée de l'extraction (de quelques heures à quelques jours) et la consommation élevée de solvant, alors que la tendance actuelle est à la réduction des quantités de solvants afin de diminuer les risques d'exposition des manipulateurs. Toutefois, il permet d'extraire une grande variété de composés organiques.

De nombreuses méthodes alternatives ont été proposées (sonication, extraction assistée par microondes, extraction par solvants accélérée, extraction par solvants supercritiques), et leurs performances généralement comparées à celles du Soxhlet. Ces comparaisons sont d'ailleurs discutables étant donné que les techniques citées sont menées dans des conditions expérimentales différentes de celles du Soxhlet.

Au début des années 90, l'Agence Américaine pour la Protection de l'Environnement (US EPA) a introduit une autre méthode alternative, proposée notamment pour l'extraction de composés polyaromatiques (Lopez-Avila et col. 1993). Cette technique est basée sur un appareillage commercial proposé en deux versions, l'une, semi-automatique, est appelée Soxtec et la seconde entièrement automatique est appelée Soxtherm.

### I.1.3.1 Principe et appareillage

Le système peut être décrit comme un appareillage à reflux amélioré et l'extraction est réalisée en trois étapes (figure 7) :

- Dans un premier temps, la cartouche de cellulose contenant l'échantillon (analogue à celles couramment utilisées pour le Soxhlet) est immergée (a) dans un solvant porté à sa température d'ébullition, en maintenant un reflux constant grâce à un condenseur.
- Ensuite, la cartouche est surélevée par rapport au niveau du solvant (b) et le résidu est lavé par le solvant recondensé. Cette étape correspond à l'étape d'extraction dans le cas du Soxhlet.
- Enfin, le lavage est interrompu (c) par fermeture du robinet permettant au solvant recondensé de s'écouler à travers la cartouche. Ainsi, le solvant continue de s'évaporer, et peut être récupéré pour des utilisations ultérieures. Cette étape peut être poursuivie jusqu'à évaporation complète du solvant, ce qui permet d'obtenir un extrait sec et déterminer le rendement d'extraction par pesée ou alors, elle peut être stoppée avant pour récupérer l'extrait dissout dans une petite quantité de solvant pour des analyses ultérieures (en chromatographie notamment). De plus un courant d'air peut être établi pour sécher le résidu contenu dans la cartouche.

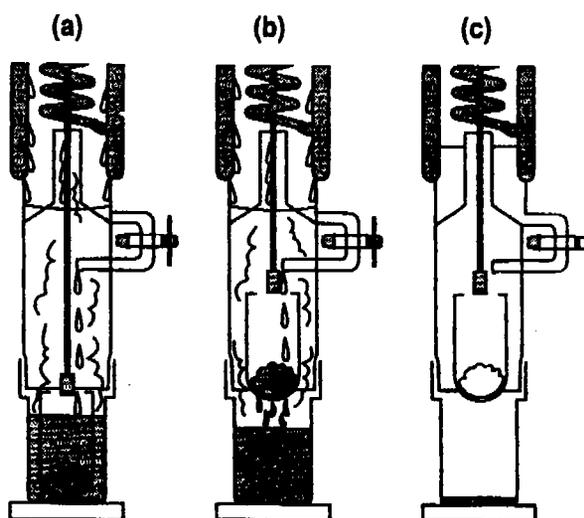


Figure 7 : Etapes de l'extraction au Soxtec

( a : étape d'immersion; b : étape de lavage; c : élimination du solvant)

L'appareillage comprend généralement plusieurs unités d'extraction (de 2 à 6), ce qui permet l'extraction simultanée de plusieurs échantillons. De plus, l'unité de chauffage est séparé du reste de l'appareillage, ce qui permet de l'installer, éventuellement, dans une autre pièce, et d'augmenter la sécurité de la manipulation. La chaleur est assurée, à l'unité principale, par une circulation de fluide chaud (en général du silicone) dans un système de tuyaux calorifugés. Grâce à l'étape d'immersion, cette technique a permis de réduire les temps d'extraction d'un facteur 4 à 10 par rapport à la méthode Soxhlet traditionnelle, ainsi que les volumes de solvant (d'un facteur  $> 2$ ) (Majors 1996). De plus, la récupération de l'extrait ne nécessite plus le recours à une évaporation du solvant puisqu'elle est réalisée dans le système même.

#### I.1.3.2. Avantages de la méthode et comparaison avec le Soxhlet

L'intérêt particulier de la méthode est sa rapidité. Ainsi, Membrado et col. (1996) ont pu réaliser des extractions multiétapes permettant d'éviter la saturation du solvant pouvant se produire dans un processus monoétape, et obtenir un critère de fin d'extraction. Ils ont également réalisé une comparaison directe des méthodes Soxtec et Soxhlet, appliquées à des produits de conversion du charbon, les durées d'extraction étant de 24 heures pour le Soxhlet et de 1 minute d'immersion suivie de 30 minutes de lavage pour le Soxtec. Les résultats obtenus étaient comparables en termes de rendement et de répétabilité, mais avec des temps nettement réduits par le Soxtec. Ils expliquent cette différence de vitesse par une différence de transfert de masse de l'échantillon vers le solvant : le Soxtec est plus rapide en raison des flux convectifs associés au chauffage, au sein du solvant, qui pourraient favoriser la diffusion de l'extrait depuis l'intérieur de la cartouche vers le solvant, au cours de l'étape d'immersion. De plus, l'étape de lavage de la méthode Soxtec est plus efficace que celle qui lui correspond durant l'extraction au Soxhlet, car il existe un flux de solvant pur au travers de la cartouche et de l'échantillon. Dans le Soxhlet, le transfert de masse est dû à la diffusion spontanée de l'extrait à travers la paroi de cellulose de la cartouche, et c'est seulement au moment du siphonnage que se produit le flux de solvant. Or ce dernier, contenant l'extrait dissous, a un potentiel extractant inférieur à celui d'un solvant pur.

Le Soxtec se présente donc comme une alternative intéressante au Soxhlet, par sa rapidité et son efficacité similaire ou supérieure à celle du Soxhlet.

#### I.1.3.3. Applications

Etant donné les avantages que représentent l'utilisation du Soxtec par rapport à celle du Soxhlet, il est surprenant de constater qu'il y a, dans la littérature, encore peu de travaux qui lui sont consacrés.

Outre ceux de Membrado et col. évoqués précédemment, **Lopez-Avila et col. (1993)** l'ont appliqué à l'extraction de divers composés organiques plus ou moins volatils, dans des échantillons de sols et de sédiments fraîchement surchargés, ainsi que pour l'extraction d'hydrocarbures polyaromatiques, à partir d'échantillons standardisés, avec dans les deux cas, des rendements d'extraction moyens de l'ordre de 85%.

Selon **Foster et col. (1992)**, le Soxtec a également été plus performant que le Soxhlet pour l'extraction de matières grasses d'échantillons de viande.

Les autres applications, recensées par **Majors (1996)**, concernent les pesticides, les PCB et les hydrocarbures polyaromatiques dans les sols et les végétaux, les huiles et les graisses dans le sol, les additifs dans des plastiques ou des caoutchoucs, etc, avec des rendements toujours comparables au Soxhlet.

En fait toutes les applications du Soxhlet doivent être réalisables avec le Soxtec, après mise au point des conditions opératoires (temps d'immersion et de rinçage).

### I.1.4. L'extraction assistée par micro-ondes (MAE)

#### I.1.4.1 Introduction

Le souci actuel de tous les laboratoires de chimie analytique est d'augmenter la vitesse et l'efficacité des analyses. Toute technique permettant d'atteindre cet objectif dans le cadre de l'extraction par solvant peut alors se révéler intéressante.

Or, une technologie récente y parvient et, de plus, réduit considérablement les quantités de solvants utilisées (d'un facteur 10 ou plus), et par conséquent les quantités de déchets chimiques (estimées selon **Renoe**, en 1994, à plus de 100000 tonnes de solvants par an). Il s'agit de l'extraction assistée par micro-ondes (MAE : Microwave Assisted Extraction).

Les premiers travaux concernant l'énergie des micro-ondes pour favoriser l'extraction organique ont été réalisés à l'aide d'appareils ménagers, à la fin des années 80 (**Ganzler et col.** 1986, **Ganzler et Salgo** 1987)

Les systèmes commerciaux construits de façon spécifique pour l'analyse organique ne sont disponibles que depuis peu de temps.

I.1.4.2. Principes : Théorie de l'extraction assistée par micro-ondes(**Barnabas et col.** 1995)

**Barnabas et col.** 1995 rappellent que l'énergie micro-onde est un rayonnement non ionisant qui cause un mouvement moléculaire par migration d'ions et rotation de dipôles, mais qui n'augmente pas les changements de la structure moléculaire.

Les fréquences de ce rayonnement s'étendent de 300 à 300000 MHz, avec quelques fréquences utilisées pour des applications scientifiques et industrielles. Ainsi, la fréquence la plus commune est de 2450 MHz, qui est utilisée dans tous les appareils domestiques.

Dans le cas de la préparation d'échantillons en utilisant les micro-ondes, la rotation de dipôles se réfère à l'alignement, dû au champ électrique de l'onde électromagnétique, de molécules du solvant et de l'échantillon ayant des moments dipolaires permanents. Les molécules qui sont pourvues d'un moment dipolaire (comme l'eau) tentent à tout moment de s'aligner selon l'orientation du champs électrique de l'onde électromagnétique. Mais ce champs oscille 2.5 milliards de fois par seconde. De ce fait, chaque fois que les dites molécules ont presque atteint leur positionnement adéquat, la direction du champs s'inverse, imposant à celle-ci un alignement dans le sens opposé. Ce sont ces mouvements ultrarapides d'alignement et de réalignement successifs des molécules qui, avec les phénomènes frictionnels, échauffent le système.

Les solvants non polaires, comme l'hexane et le toluène, qui ont de faibles permittivités relatives, ne sont pas affectés par l'énergie micro-onde. Aussi, ils nécessitent des additifs

polaires, s'ils sont utilisés comme solvants pour des extractions assistées par micro-ondes. Nous indiquons dans le TABLEAU VI les moments dipolaires et les constantes diélectriques de quelques solvants utilisés.

TABLEAU VI : Moment dipolaire et constante diélectrique de solvants organiques

Solvant	Moment dipolaire	Constante diélectrique
Acétone	2.77	20,7
Benzène	0	2,27
Cyclohexane	0	2,02
Ethanol	1.71	25,00
Acétonitrile	3.47	37,5
Hexane	0	1,89
Méthanol	1.68	33,62
Méthyléthyl cétone	2.76	18,51
Dichlorométhane	1.14	8,93

Une extraction classique, réalisée au Soxhlet (chauffage par conduction), nécessite généralement 5 à 6 heures et même jusqu'à 24 heures dans certains cas. Par contre, les extractions en cellules closes, sous micro-ondes, peuvent être effectuées en 15 mn. La différence est essentiellement due à la méthode de chauffage. Dans le cas du chauffage par conduction, la vaporisation qui a lieu à la surface du liquide crée un gradient thermique établi par des courants de convection. Ainsi, seule une petite partie du liquide est à la température de chauffage appliquée aux parois du récipient. Par contre, dans le cas des micro-ondes, tout l'échantillon est chauffé en même temps, sans que le flacon ne le soit également. La solution atteint alors très rapidement son point d'ébullition. De plus, le solvant se trouvant dans un système clos, il est capable d'atteindre une température d'ébullition bien plus élevée qu'à pression atmosphérique.

Les solvants polaires, comme l'acétone et le dichlorométhane peuvent ainsi être chauffés jusqu'à 100°C au-dessus de leur point d'ébullition à pression atmosphérique (TABLEAU VII). Ce sont ces hautes températures, combinées avec un chauffage rapide, qui augmentent l'efficacité de l'extraction et qui réduisent fortement les temps d'extraction.

TABLEAU VII : Températures (°C) d'ébullition de solvants à pression atmosphérique et en système clos (à 11.9 bars)

Solvant	Point d'ébullition à pression atmosphérique (°C)	Point d'ébullition en système clos à 11.9 bars (°C)
Dichlorométhane	39,8	140
Acétone	56,2	164
Méthanol	64,7	151
Hexane	68,7	--
Ethanol	78,3	164
Cyclohexane	80,7	--
Acétonitrile	81,6	194
2-Propanol	82,4	145
Ether de pétrole	35-80	--
Acétone/hexane 1/1 en vol.	52	156
Acétone/cyclohexane 1/1 en vol.	52	160
Acétone/éther de pétrole 1/1 en vol.	39	147

Etant données les propriétés du rayonnement micro-ondes, les analystes ont deux possibilités pour réaliser une extraction :

- La première option est de réaliser des extractions en flacon clos avec un solvant possédant une constante diélectrique élevée et absorbant fortement les micro-ondes. Dans ce cas, la

technique se rapproche de l'extraction par solvant accélérée (ASE), évoquée par ailleurs. Cependant, l'énergie micro-onde absorbée chauffe le solvant dans la cellule d'extraction (transparente aux micro-ondes), à une température supérieure à son point d'ébullition à pression atmosphérique, alors que pour la méthode ASE, le chauffage du solvant est réalisé à l'aide d'un four conventionnel. Dans les deux cas, le solvant chaud et pressurisé permet d'obtenir des rendements d'extractions de composés organiques, à partir de matrices solides, plus élevés que dans le cas d'extractions classiques.

- La seconde option est d'utiliser un solvant n'absorbant pas les micro-ondes (c'est le cas des solvants dont la constante diélectrique est faible). Pour ce type d'extraction, il est nécessaire que les échantillons contiennent des composés absorbant les micro-ondes comme l'eau ou tout autre composé à constante diélectrique élevée. Ces composés absorbent l'énergie micro-onde, causent une élévation de température localisée, et sont extraits par le solvant froid qui les entourent. Cette technique est plus douce que toutes les méthodes d'extraction à l'aide de solvants chauds. Elle est particulièrement indiquée pour l'extraction des composés thermiquement instables. De plus, elle est plus sûre pour les manipulateurs, étant donné qu'il n'y a pas de surchauffe du solvant en flacon clos. De toute manière, les appareils commerciaux actuels disposent de systèmes de sécurité pour prévenir les accidents tels que les fuites de rayonnement, ou les surpressions dans les flacons d'extraction.

#### I.1.4.3. Instrumentation

Le système est constitué d'une enceinte, dont les parois sont recouvertes de Téflon (figure 8), et dans laquelle se trouve un carrousel pouvant contenir jusqu'à douze cellules d'extraction (figure 9). Ces cellules (figure 10) sont constituées de deux parois transparentes aux micro-ondes et résistantes aux solvants organiques. La paroi intérieure est généralement constituée de Téflon PFA (Perfluoroalkoxy) ou de PTFE, alors que la paroi extérieure est constituée de PEI (Polyétherimide). La capsule couvrant ces cellules est également constituée de PTFE (polytétrafluoroéthylène) et contient un disque de sécurité (toujours en PTFE) dont la rupture, en cas de surpression dans la cellule, permet l'évacuation des vapeurs de solvants. Si cet accident se produit, les vapeurs de solvant sont évacuées par l'intermédiaire d'un tube en PTFE vers un réservoir d'expansion étanche où leur pression est abaissée, puis au moyen d'un

second tube en PTFE, elles sont dirigées vers le tube venturi qui permet de les évacuer vers l'extérieur de l'enceinte. Celle-ci est également équipée d'un ventilateur qui assure une circulation d'air et qui est relié au tube venturi pour évacuer les vapeurs de solvant, en cas de rupture de l'étanchéité des cellules ou du réservoir d'expansion. Tout incident de ce genre est détecté par un détecteur de solvant et un interrupteur arrête la circulation d'air et l'émission des micro-ondes par le magnétron.

L'une des cellules est équipée d'une capsule modifiée afin qu'une sonde de mesure de température en fibre optique et une sonde de pression puissent être introduites dans cette cellule. Ces sondes sont protégées des attaques de solvants par un tube en verre Pyrex.

Enfin, le système est généralement piloté par un logiciel permettant de contrôler la pression et la température et de programmer éventuellement des paliers pour cette température.

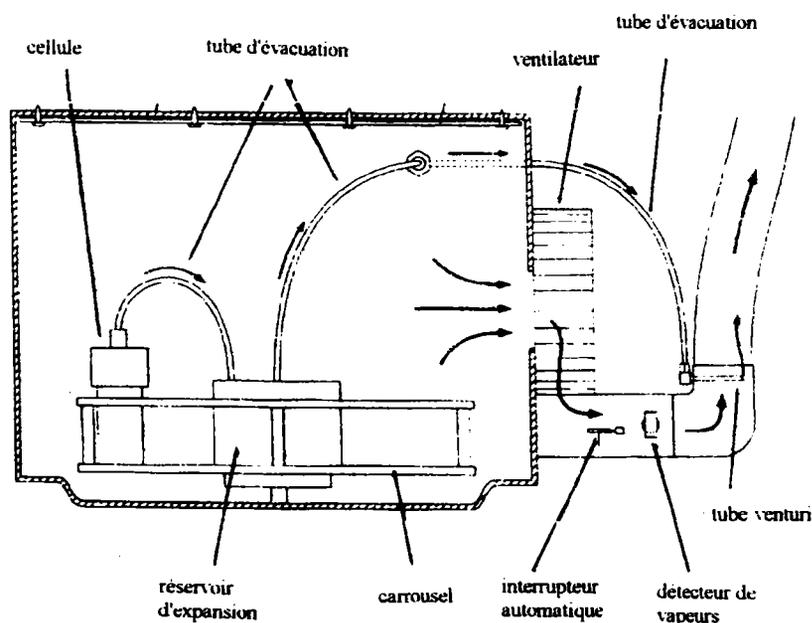


Figure 8 : Enceinte d'extraction

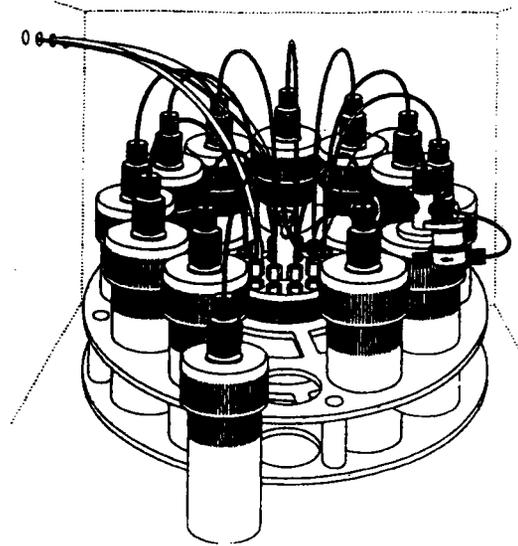


Figure 9 : Schéma du carrousel à 12 cellules

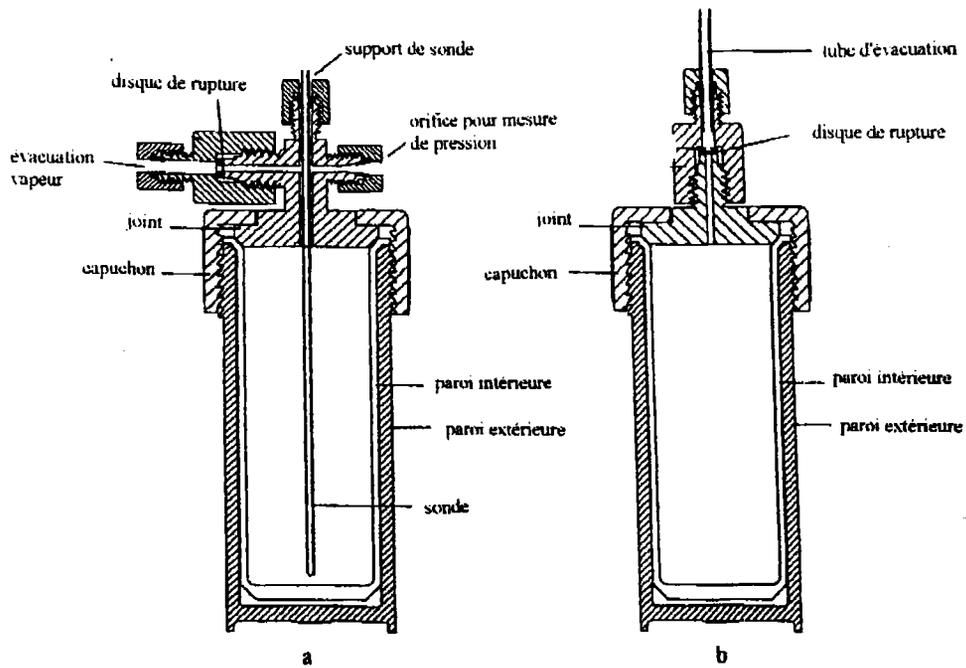


Figure 10 : Schéma des cellules d'extraction  
( a : avec contrôle de température et pression; b : sans contrôle)

#### I.1.4.4. Applications

Nous indiquons dans le TABLEAU VIII quelques exemples d'application de l'extraction assistée par micro-ondes dans le domaine de l'environnement.

TABLEAU VIII : Applications de l'extraction assistée par micro-ondes

Composés extraits	Matrice	Auteurs
Hydrocarbures linéaires HAP Pesticides chlorés	Sédiments marins	Pastor et Col. 1997
HAP	Echantillons de sols	Dupeyron et col. 1997
HAP	Echantillons de sols	Saim et col. 1997
HAP	Echantillons de sols	Dean, J. R. 1996
HAP	Sédiments marins certifiés	Chee et col 1996
Polluants organiques divers	Echantillons surchargés de sols	Lopez-Avila et col. 1995
Polluants organiques divers	Sédiments marins certifiés	Lopez-Avila et col. 1994
Hydrocarbures pétroliers totaux	Echantillons réels et échantillons certifiés de sols	Hasty et Revesz 1995

Dans la plupart des cas les auteurs ont constaté que l'extraction assistée par micro-ondes permet généralement d'obtenir des rendements équivalents ou supérieurs aux techniques classiques (Soxhlet et sonication) avec des répétabilités souvent supérieures.

#### I.1.4.5. Conclusion

Par ses caractéristiques (temps d'extraction raccourcis, volumes de solvants fortement réduits) et ses nombreuses applications, l'extraction assistée par micro-ondes se présente comme une alternative intéressante aux méthodes classiques d'extraction. Elle possède tout de même quelques désavantages par rapport à d'autres méthodes modernes comme l'extraction par les fluides supercritiques ou le Soxtec : il est nécessaire de filtrer les échantillons pour récupérer l'extrait.

## **I.1.5. La microextraction en phase solide (MEPS)**

### **I.1.5.1. Introduction**

Généralement, une méthodologie analytique utilise plusieurs étapes (extraction, séparation, caractérisation analytique...), chacune d'elle étant déterminante pour obtenir des résultats fiables et reproductibles. Les problèmes liés à ces procédures (utilisation de solvants souvent toxiques, pertes de composés affectant les rendements, pollution extérieure) induisent souvent des erreurs d'analyse difficiles à évaluer et à rectifier. Une des tendances actuelles dans la mise au point de nouvelles méthodes analytiques, consiste à tenter d'éviter au maximum l'utilisation de solvants organiques (Noble 1993). De ce fait, les techniques MEPS représentent une des alternatives possibles pour s'affranchir du problème de l'utilisation de solvants.

### **I.1.5.2. Rappels sur les techniques d'extraction sans solvant, autres que la MEPS.**

Les techniques peuvent être classées selon les méthodes de séparation utilisées.

#### **a) Extraction en phase gazeuse**

Cette technique comprend un échantillonnage de type "headspace statique". L'échantillon est en équilibre avec sa phase gazeuse, et un faible volume de cette phase est prélevé pour être injecté en chromatographie en phase gazeuse. Elle comprend également un échantillonnage de type "headspace dynamique" dans le cas d'échantillons liquides. Un bullage de gaz permet de purger la matrice de ses composés volatils qui sont ensuite piégés sur une surface refroidie ou sur un adsorbant.

### b) Extraction par membrane

Elle concerne deux procédés se déroulant simultanément : une extraction sur une membrane polymérique de composés organiques, accompagnée d'une extraction de ces composés par un gaz. Les membranes peuvent être des films polymériques sur support, ou des fibres creuses auto-supportées (Pratt et Pawliszyn 1992).

Les membranes utilisées ayant généralement une grande surface spécifique, cela permet un transfert de masse important des polluants de la matrice vers la membrane.

Par la suite, le polluant, bien étalé et réparti sur la surface de la membrane, sera d'autant mieux extrait par le gaz. La technique peut être couplée à la spectrométrie de masse (Kotiaho et col. 1991) ou à la chromatographie en phase gazeuse (Yang et col. 1994).

L'extraction par le gaz peut s'effectuer à basse pression ou à haute pression, selon le caractère volatil des composés à extraire.

Les principaux inconvénients de cette technique, en plus d'un coût élevé et d'une durée de vie relativement faible des membranes, sont liés à un temps de réponse médiocre par rapport aux concentrations des polluants, et d'autre part à l'absence de membranes permettant d'extraire les composés polaires.

### c) Extraction en phase solide utilisant des adsorbants (SPE)

On peut utiliser les adsorbants pour traiter aussi bien l'air, l'eau et les sols. Les adsorbants concentrent les polluants, même dans des solutions aqueuses ou gazeuses très diluées.

Un très grand nombre d'adsorbants sont disponibles sur le marché, avec des propriétés de surface basées d'une part sur la porosité (présence et distribution de micro, méso et macropores) et d'autre part sur des groupements fonctionnels actifs (oxygénés, azotés, propriétés acido-basiques). L'utilisation des adsorbants a donné lieu à un très grand nombre d'applications industrielles destinées à la réduction ou à l'élimination de polluants. Cependant, lorsqu'on se place d'un point de vue analytique (nécessité d'évaluer, d'identifier et de quantifier une pollution, par exemple dans les sols), l'utilisation d'adsorbants présente un intérêt limité, dans la mesure où généralement les paramètres cités auparavant sont

inaccessibles. La récupération des polluants est difficile, après leur adsorption et ils sont quelquefois modifiés chimiquement au sein de la phase adsorbante (dégradation, oxydation, polymérisation). Ces inconvénients sont généralement liés aux interactions adsorbants-absorbats, aux problèmes de bouchage (non seulement des cartouches d'adsorbant, mais également à un niveau plus microscopique des pores) par des solides ou des huiles lourdes. De plus, ces techniques sont généralement limitées aux composés volatils ou semi-volatils. De ce fait, dans le cadre de notre étude, nous exposerons de manière plus détaillée la technique de microextraction en phase solide (MEPS), qui nous apparaît plus appropriée dans une approche combinant les deux objectifs d'extraction et d'analyse.

### I.1.5.3. Etude de la MEPS

#### a) Principe

La MEPS comporte deux étapes : un partage des "composés" entre l'échantillon et le revêtement de la phase absorbante, suivie d'une désorption sélective de ces "composés" dans un appareil d'analyse. Après contact entre l'absorbant (généralement une fibre) et l'échantillon (air, liquide, solide), la fibre est transférée vers l'analyseur dont le rôle consistera successivement à désorber, séparer et quantifier les polluants.

On peut par exemple utiliser une fibre de silice recouverte de PDMS (polydiméthylsiloxane), qui va constituer par la suite la phase stationnaire pour une analyse en chromatographie gazeuse

Les faibles dimensions et la forme cylindrique des fibres permettent de les introduire dans une seringue d'injection. Tant en gardant les avantages de la SPE (simplicité de mise en œuvre, faible coût, automatisation facile) cette méthode évite les inconvénients cités pour la SPE (bouchage, utilisation fréquente de solvants de lavage...).

#### b) Aspects théoriques

La quantité de composé adsorbée sur la silice à l'équilibre est directement liée à sa concentration dans l'échantillon

$$n = \frac{Kfs \cdot Vf \cdot Co \cdot Vs}{Kfs \cdot Vf + Vs}$$

n : masse adsorbée

Vf : volume du revêtement

Vs : volume de l'échantillon

Co : concentration initiale dans l'échantillon

Kfs : coefficient de partage

Lorsque Vs est très supérieur à Vf, n est directement obtenu par la relation :

$$n = KfsVsCo$$

Kfs pouvant être évalué au moyen d'une calibration avec des échantillons étalons.

En ce qui concerne les échantillons gazeux et liquides (une forte agitation est nécessaire pour ces derniers), les cinétiques d'adsorption peuvent être très rapides. Par contre, pour les échantillons solides, ou visqueux, l'adsorption directe par simple contact ne donne pas de résultats utilisables, et il devient nécessaire d'utiliser une cellule "headspace", dans laquelle les composés seront désorbés puis piégés sur la surface des fibres placées au-dessus de la cellule (Zhang et Pawliszyn 1993). Cela limite souvent la vitesse de transfert de masse sur les fibres et rend les durées d'extraction beaucoup plus importantes.

De plus, les effets de matrice en phase solide donnent souvent lieu à des valeurs de Kfs très faibles, conduisant à une limite thermodynamique de l'extraction, qui ne peut être surmontée que par chauffage de l'échantillon.

c) Maîtrise des paramètres influençant l'extraction et la séparation après adsorption

Malgré une simplicité de mise en œuvre évidente, l'utilisation de la MEPS pose un certain nombre de problèmes qui sont difficiles à résoudre, surtout lorsqu'il s'agit d'analyser des échantillons solides.

Ainsi l'extraction qui combine ici une phase d'adsorption et de désorption, nécessite de maîtriser parfaitement les notions de vitesse, de justesse et de précision, en adaptant et en optimisant les conditions d'extraction par rapport à la nature des matrices et des composés à extraire.

d) Sensibilité

Les facteurs qui peuvent influencer les valeurs des quantités extraites sont nombreux : volume du revêtement, modification des matrices, chauffage des échantillon, refroidissement du revêtement.

Le volume du revêtement (épaisseur et longueur des fibres) permet souvent, dans le cas de composés moyennement polaires, d'atteindre des seuils d'extraction de quelques picogrammes, dans des solutions très diluées.

Cependant, les performances de cette technique, essentiellement liées au coefficient de partage Kfs, dépendront de façon déterminante, aussi bien du choix du revêtement par rapport à la polarité des extraits, que de l'influence des effets de matrice.

Lorsqu'il s'agit d'extraire des composés polaires (par exemple les phénols), souvent difficiles à extraire, on peut procéder à des réactions de dérivation conduisant à une réduction de la polarité, donc de la valeur de Kfs.

Dans le cas des solutions aqueuses, on peut élever augmenter le coefficient Kfs en agissant sur les forces ioniques par addition de sels (NaCl, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) (ou salting out).

Les problèmes les plus importants subsistent dans le cas de l'analyse de solides (sols). Nous rappelons que dans ce cas, les extraits doivent être préalablement relargués et piégés dans une cellule "Headspace", avant d'être concentrés sur le revêtement.

Ainsi, dans le cas des sols, en plus des problèmes évoqués auparavant, c'est la nature du sol, donc de la matrice, qui devient le facteur prépondérant au niveau de la sensibilité de la méthode (exemple des argiles qui contiennent des quantités non négligeables de métaux et possèdent par ailleurs des surfaces spécifiques importantes).

Les solutions généralement envisagées consistent à chauffer, ajouter de l'eau en faibles quantités voire même des tensio-actifs, pour augmenter les rendements d'extraction (**Zhang et Pawliszyn** J. High. Resolut. Chrom. 1993). En ce qui concerne le chauffage, il faut trouver une température optimale, permettant également de concilier le chauffage de l'échantillon avec la nécessité de refroidir le revêtement (exemple TABLEAU IX )

TABLEAU IX: Rendements d'extraction d'hydrocarbures adsorbés par des fibres de MEPS, à partir d'argile, selon diverses conditions d'extraction

Composés	Rendements en % selon les conditions opératoires				
	Température ambiante	50 °C	50 °C / 15% H2O	250 °C Chauffage de l'échantillon et refroidissement de la seringue simultanés	170 °C / 5% H2O Chauffage de l'échantillon et refroidissement de la seringue simultanés
Benzène	0,01	0,08	0,11	27	64
Toluène	0,01	0,06	0,14	11	84
Ethylbenzène	0,002	0,06	0,21	6	91
m,p-Xylène	0,003	0,07	0,22	11	95
o-Xylène	0,003	0,08	0,24	7	100

#### e) Justesse et précision

Il est évident que la MEPS étant basée sur des équilibres de partage, qu'une calibration est systématiquement nécessaire pour maîtriser l'aspect quantitatif de l'extraction. Si cette

calibration ne pose généralement pas de problème dans le cas de l'analyse de gaz ou de solutions aqueuses, par contre, dans le cas des échantillons solides (sols), il faut utiliser la méthode des ajouts ou celle des étalons internes (Potter et Pawliszyn 1994, Page et Lacroix 1993), ces derniers devront avoir des valeurs de Kfs identiques à celles des extraits.

#### f) Efficacité de la désorption

La désorption des composés est directement liée à la température de chauffage et à un degré moindre au flux et à la nature des gaz vecteurs (dans le cas de l'utilisation d'une CPG), ou du solvant utilisé (par exemple CO<sub>2</sub> ou H<sub>2</sub>O). Au niveau de la température, il faut rappeler que généralement les revêtements utilisés ne supportent pas une température supérieure à 300 °C, ce qui rend souvent impossible la dissolution de molécules lourdes comme par exemple le pérylène.

##### I.1.5.4. Applications de la MEPS

Actuellement, les applications de la MEPS concernent surtout les problèmes d'environnement, les domaines agroalimentaires et pharmaceutiques :

- extraction de polluants dans l'air, incluant également des composés fixés sur des particules et aérosols
- extraction de composés organiques volatils (COV) dans des phases aqueuses : eau potable, eaux de surface (Langenfeld et col. 1996), eaux résiduaires.
- en utilisant un module Head-Space, on peut citer le cas de composés organiques extraits de boues ou de sols (Zhang et Pawliszyn J. High. Resolut. Chrom. 1993)

En ce qui concerne la nature des produits extraits, on peut relever un spectre très large de composés différents : hydrocarbures aromatiques polycycliques, composés aromatiques polychlorés, phénols, herbicides, pesticides, protéines et autres substances biologiques comme la caféine, ou alors des impuretés volatiles résiduelles dans des médicaments.

Pour la détection des composés organiques, la MEPS est généralement couplée à la CPG ou la CPG-SM.

Pour les composés inorganiques (ions métalliques, sels minéraux), l'avenir de la MEPS réside dans le couplage de cette technique avec des méthodes de détection spectroscopiques (Absorption Atomique, Torche à Plasma ) ou électrochimiques.

#### I.1.5.5. Conclusion

Il est indéniable que la MEPS représente une technique d'extraction et d'analyse correspondant à un progrès considérable par rapport à la simple SPE. En conservant les avantages de cette dernière (utilisation très limitée ou absence totale de solvant, équipement simple et peu coûteux), la MEPS apporte des atouts supplémentaires à la SPE, aussi bien au niveau du protocole opératoire (réduction considérable des valeurs obtenues sur les essais à blanc, diminution de la durée des expériences, possibilités multiples d'adaptation du choix des revêtements adsorbants vis à vis de la nature des composés à extraire, pas de bouchage des cartouches d'adsorbants), que des techniques de couplage pour la séparation et la détection des composés (simplicité de mise en oeuvre, automatisation des analyses plus aisée, meilleure précision des analyses avec une diminution sensible des seuils de détection).

Au niveau des applications de la MEPS, nous avons déjà relevé qu'elles étaient nombreuses, aussi bien du point de vue des échantillons (air, eaux, solides) que de la nature des composés extraits. De par ses nombreux avantages, la MEPS continuera à se développer vers des applications de plus en plus nombreuses et diversifiées .

Toutefois, en ce qui concerne l'utilisation de la MEPS pour les polluants dans les sols, on peut souligner un certain nombre d'inconvénients et/ou de limitations qui font que la MEPS est encore très loin de représenter une technique de routine dans ce domaine d'application :

- nécessité d'utiliser une cellule Head-Space pour désorber les polluants avant leur fixation sur la phase adsorbante (problème de rendement d'extraction et de répétabilité)
- difficulté de maîtriser les interactions matrice-polluants-adsorbants, cette difficulté étant encore amplifiée selon la complexité de la matrice ( nature géochimique des sols)
- durées d'extraction relativement longues
- difficulté de quantifier les mesures, du fait du manque de disponibilité d'échantillons de sols standards, chargés de quantités connues de polluants. En effet, ces échantillons

étalons, peu nombreux et onéreux, ne sont pas toujours représentatifs des sols analysés, ne permettant pas aisément d'établir des courbes de calibration.

- difficulté d'extraire des composés lourds et/ou polaires.

### **I.1.6. Conclusion pour les méthodes d'extraction**

Les techniques modernes présentent un certain nombre d'avantage par rapport aux techniques classiques, notamment en ce qui concerne l'automatisation, la réduction du nombre de manipulations et des quantités de solvants utilisés.

Toutefois elles présentent également un certain nombres d'inconvénients : certaines nécessitent un investissement financier important (SFE, ASE), une mise au point difficile ou des temps d'analyses élevés (MEPS).

De ce fait, les techniques plus classiques (Soxhlet, extraction liquide-solide assistée par les ultrasons, extraction liquide-liquide) sont toujours utilisées, notamment pour étudier l'efficacité des méthodes modernes.

## **I.2. La détection et l'analyse des hydrocarbures pétroliers : les techniques basées sur la chromatographie sur couche mince**

### **I.2.1. Introduction**

L'analyse des dérivés pétroliers se fait généralement par classes de composés chimiques (hydrocarbures saturés, aromatiques, polaires etc...). Ce type de détermination, aussi appelée analyse de groupes d'hydrocarbures (HGTA en terminologie anglaise : Hydrocarbons Groups Types Analysis), est importante en pétrochimie et en carbochimie pour le choix des conditions de process, le suivi de process, la mise en conformité avec des normes liées à l'environnement, l'évaluation de dérivée pétroliers (carburants), la performance de catalyseurs et l'industrie agroalimentaire (Adlard 1995). Elle comprend la séparation et la quantification des familles d'hydrocarbures d'un échantillon, pour lesquelles on emploie généralement les techniques

chromatographiques. Les critères de sélection d'une technique particulière sont basés sur les points d'ébullition et/ou la polarité des composés à séparer et à quantifier.

Parmi les techniques généralement utilisées, la chromatographie liquide sur colonne ouverte (LC) présente l'inconvénient d'être longue et consommatrice de solvant. De plus, il peut se produire des contaminations des fractions récupérées, induisant des erreurs de quantification des différents types d'hydrocarbures.

Quant à la chromatographie liquide haute performance (CLHP) en phase normale, couplée à un détecteur ultraviolet (UV) ou à indice de réfraction (RI), c'est la technique la plus fréquemment utilisée pour la détermination de la composition de distillats moyens (gasoil) et lourds (fuel) du pétrole, en familles d'hydrocarbures (saturés, oléfines, aromatiques et polaires). Elle permet aussi la séparation et l'analyse des hydrocarbures en fonction du nombre de cycles. Cependant, lorsque le point d'ébullition des produits à analyser est élevé, les composés lourds et/ou polaires peuvent être adsorbés irréversiblement sur les colonnes, les détériorant et donnant lieu à une élution incomplète. Cette difficulté est encore plus accentuée dans le cas des dérivés du charbon, en raison de leur grande concentration en hétérocycles.

La chromatographie gazeuse (CPG) présente les mêmes limites liées au point d'ébullition et la à polarité des composés à analyser.

En dernier lieu, la chromatographie sur couche mince (CCM ou TLC : Thin Layer Chromatography) est une technique analytique connue depuis longtemps et, durant les années 60, de nombreux travaux lui ont été consacrés, notamment sur ses applications aux composés aromatiques polycondensés (Cagniant 1992).

Comparée aux autres techniques chromatographiques disponibles, la CCM présente les avantages d'être simple à mettre en oeuvre, rapide et peu coûteuse. Mais elle n'a pas été beaucoup utilisée pour l'analyse de dérivés pétroliers, surtout parce qu'elle n'était pas considérée comme quantitative, ni assez sensible. De plus, la détection des hydrocarbures saturés était impossible par cette technique, ces molécules classiquement peu réactives n'absorbent pas en UV et n'émettent pas de fluorescence, aux longueurs d'ondes usuelles. C'est

pour ces raisons que des techniques plus sophistiquées et automatisées lui ont été préférées (CLHP, CPG), malgré des avantages certains pour la CCM :

- possibilité de traiter plusieurs échantillons simultanément
- analyse d'échantillons sans fractionnement initial ni élimination préalable des asphaltènes
- possibilité de stocker les plaques développées.

Les plaques, généralement recouvertes d'une couche de silice ou d'alumine, étaient souvent utilisées pour l'analyse qualitative ou semi-quantitative de familles d'hydrocarbures, ou pour la séparation à des fins préparative de ces familles à partir de dérivés pétroliers. Les fractions isolées étaient ensuite étudiées à l'aide d'autres techniques analytiques ou quantifiées de manière gravimétrique (Herold 1994, Kamal et Matsunaga 1978, Harvey et col. 1984, Wang et Yen 1990, Herold et Kandyoti 1995, Dhole et Ghosal 1995). En général, les analyses quantitatives étaient réalisées par détection visuelle de substances incolores sous lumière UV, ou à l'aide d'agents chromophores et fluorophores (Fried et Sherma 1986).

Depuis quelques années, la CCM bénéficie d'un regain d'intérêt, notamment en raison des récents progrès réalisés dans la fabrication des plaques (Poole et Poole 1995; Ebel 1996; Sherma et Fried 1991).

Une grande variété de phases stationnaires commerciales (normales, inverses, transfert de charge etc...) ont été développées, avec des tailles de particules similaires à celles des phases stationnaires utilisées en CLHP et parfois même inférieures à 5  $\mu\text{m}$ . On parle dans ce cas de Chromatographie sur Couche Mince Haute Performance (High Performance Thin Layer Chromatography soit HPTLC).

La qualité et la répétabilité de la séparation ont également été améliorées par la mise au point de différents protocoles d'éluion des échantillons déposés sur la phase stationnaire :

- éluions multiples et séquentielles (Burger 1984).
- l'utilisation de la pression lors de l'éluion (Kalasz et col. 1993).
- l'éluion bidimensionnelle .

Enfin les progrès les plus récents dont a bénéficié la CCM concernent le développement d'applicateurs d'échantillons automatiques fiables, les nouveaux systèmes d'acquisition de données, les densitomètres à balayage UV/Visible et Fluorescence, et le traitement de données (logiciels deux dimensions, vidéo, etc...)

A présent, grâce à ces progrès, la chromatographie sur couche mince peut être considérée comme une technique d'analyse efficace, qualitative et quantitative, avec des avantages indéniables qui lui sont spécifiques :

- bonne sélectivité de la séparation, grâce à de nombreuses phases disponibles et aux possibilités de combinaisons de solvants pour l'élution.
- possibilité de stocker les plaques après développement, en attendant la détection.
- aucune influence de la nature du solvant sur la détection.
- faible consommation de solvant et de phase stationnaire.
- aucune restriction dans le choix des solvants.

Elle présente également l'avantage non négligeable de permettre la détection des fractions polaires ou de masse moléculaire très élevée, qui restent souvent définitivement adsorbées sur une colonne de CLHP. En CCM, ces fractions peuvent être détectées sous forme de pics fins et gaussiens (dont l'intégration est facile), alors qu'en CLHP lorsqu'elles sont éluées, cela correspond à des temps de rétention élevés, produisant des pics larges et non gaussiens.

A côté des nombreux systèmes de détections utilisés (phosphorescence, marquage radioactif, solutions sélectives colorées, absorption infrarouge, coloration par réaction microchimique, spectrométrie de masse, etc...) seul l'ionisation de flamme (FID) et le densitomètre UV/Fluorescence (par balayage) seront évoqués ici, ces techniques ayant déjà été utilisées dans le cadre de la détection de nombreuses substances (avec un seuil de détection de l'ordre du ppm) notamment pour des applications pétrolières (Herold 1994).

### I.2.2. Le couplage de la CCM avec le détecteur à ionisation de flamme (CCM-FID) :

#### Iatroscan

La CCM-FID, plus communément appelée Iatroscan, est devenue une technique complémentaire de la CLHP, permettant la séparation et la quantification d'échantillons à teneurs élevées en composés lourds et/ou polaires (Lafleur et col. 1987, Campbell et col. 1988).

Développée durant les années 70, la CCM-FID combine l'efficacité de la séparation sur couche mince avec les capacités de quantification d'un détecteur FID.

Bien que cette technique soit souvent admise comme une technique rapide, reproductible et susceptible d'être utilisée en contrôle qualité de routine, certains doutes subsistent au sujet de la validité des résultats quantitatifs obtenus (Shanta 1992), en partie à cause des nombreux changements intervenus dans la configuration du détecteur au cours de son évolution. De plus, les utilisateurs des versions les plus modernes n'ont pas toujours fourni des informations suffisantes sur la reproductibilité et la linéarité de leur réponse.

Les phases stationnaires utilisées en Iatroscan sont déposées sur des baguettes en quartz ("rods") et les progrès réalisés dans la fabrication de ce type de couche mince, ainsi que ceux réalisés dans la sensibilité des systèmes d'acquisition, sont des facteurs importants d'amélioration de la répétabilité et des capacités de quantification de la technique, de même que l'utilisation d'applicateurs automatiques d'échantillons.

Le fonctionnement du détecteur FID est basé sur la mesure des variations d'un courant d'ionisation, conséquences d'une augmentation soudaine de la densité du flux d'ions entre la cathode (le brûleur) et l'anode (une électrode collectrice), juste après l'introduction du composé à analyser dans une flamme  $O_2/H_2$  (Figure 11).

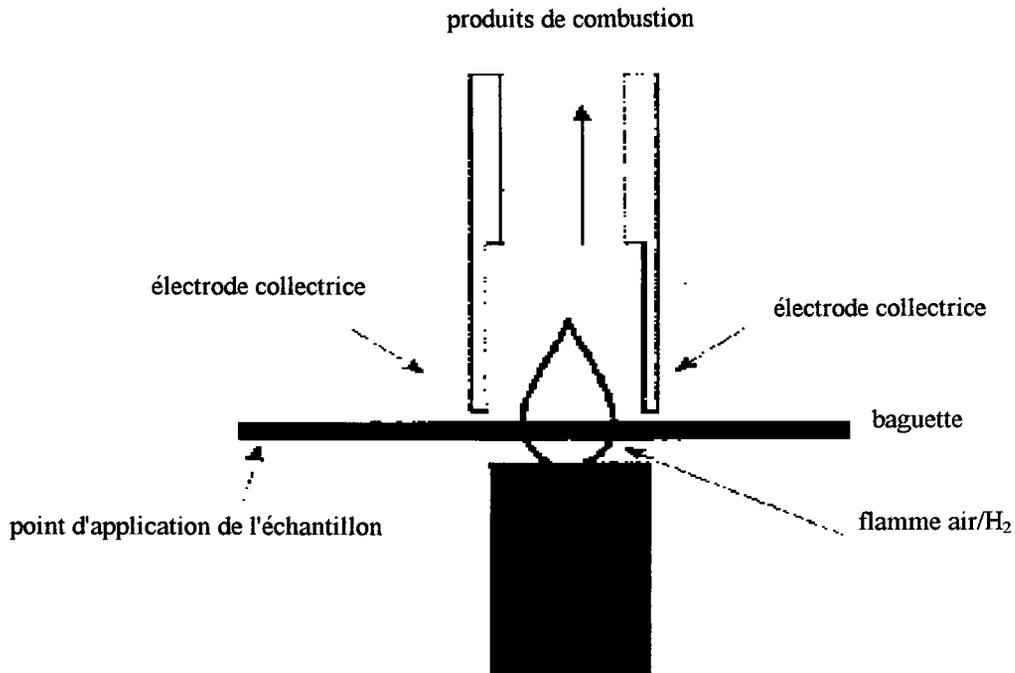


Figure 11 : Le détecteur FID utilisé en CCM

Par rapport à la chromatographie en phase gazeuse, où les composés séparés arrivent à la flamme à l'état gazeux, en CCM/FID la substance arrive en contact avec la flamme en restant liée à la phase stationnaire ce qui affecte la géométrie et la chaleur de la flamme. De plus, cette phase est chauffée durant la détection, ce qui produit un courant d'ionisation de fond diminuant la sensibilité de la détection.

Ainsi, **Ranny (1987)** considère que les paramètres importants affectant la valeur et la répétabilité de la réponse de substances organiques sont les suivants :

- le flux des gaz et leur pureté.
- la géométrie du détecteur et la vitesse de balayage de la phase stationnaire par la flamme.
- la composition de l'échantillon analysé.

**Tanaka et col. (1981)** ont confirmé que la réponse du détecteur et sa répétabilité sont directement proportionnelles au flux d'hydrogène jusqu'à 180 ml/min. De plus, la géométrie du

détecteur étant fixée, ils ont montré que seule la vitesse de balayage et la composition de l'échantillon à analyser peuvent affecter la valeur et la répétabilité de la réponse FID.

L'application la plus courante de l'Iatroscan, dans le domaine des échantillons de combustibles fossiles, est l'analyse des familles d'hydrocarbures (saturés, aromatiques, polaires ou "résines" et asphaltènes ou "non élués")

L'analyse de produits pétroliers ou charbonniers, basée sur les familles, conduit à des chromatogrammes similaires. Cependant, chaque pic étant représentatif de centaines de composés qui peuvent varier d'un échantillon à l'autre, les facteurs de réponse obtenus par FID sont différents.

La tendance est de considérer le facteur de réponse du détecteur FID comme homogène et constant, pour tous les pics du chromatogramme et d'extrapoler ce facteur de réponse à partir du détecteur FID couplé à la chromatographie en phase gazeuse. Or, si les mécanismes d'ionisation sont les mêmes, l'état physique de l'échantillon est différent pour les deux techniques, gazeux en CPG et solide en CCM, ce qui rend l'extrapolation risquée (Rao et col. 1985).

L'étalonnage du détecteur est généralement réalisé à l'aide d'étalons externes, étant donné que la relation entre la masse d'échantillon et la réponse fournie dépend de la nature de cet échantillon. Ce type d'étalonnage est généralement aisé pour des composés purs connus et disponibles. Ce n'est pas le cas pour l'analyse d'échantillons contenant des composés inconnus ou non disponibles (par exemple pour les composés polyaromatiques dans des échantillons provenant de sites pollués).

De plus, le protocole d'étalonnage est long, du fait de la technique en elle-même et de la difficulté de trouver des étalons représentatifs de chaque fraction. Il est généralement nécessaire de réaliser une séparation préalable des échantillons pour obtenir des fractions pures, ces fractions pouvant servir ensuite d'étalons (le fractionnement peut être réalisé par chromatographie liquide ou par chromatographie sur plaque préparative).

### I.2.3. Le couplage de la CCM à la détection par balayage UV/Visible

La détection UV/Visible est la méthode la plus souvent utilisée pour identifier les composés séparés par chromatographie sur couche mince. Les améliorations qu'elle a subies, ainsi que les capacités accrues de séparation des plaques actuelles, font de la CCM-UV/Visible une technique d'analyse alternative à la CLHP, surtout dans le cas de mélanges de composés lourds ou polaires.

En effet, les progrès réalisés dans le couplage de la chromatographie sur couche mince avec les détecteurs par balayage UV/Visible, ainsi que le développement de logiciels d'acquisition et de traitement de données (par exemple les techniques vidéo pour les développements bidimensionnels), ont permis une amélioration spectaculaire de la détermination qualitative et quantitative d'échantillons.

La mesure réalisée par les détecteurs couplés à la CCM (FID et UV/visible) n'est pas une absorption de lumière comme celle mesurée par les détecteurs UV classiques. En fait, le détecteur mesure la radiation réfléchie par l'échantillon. L'inconvénient de ce type de mesure est que la relation entre la radiation réfléchie et la quantité d'échantillon n'est pas une relation linéaire simple. De plus, elle est affectée par la réflexion de la part de l'adsorbant. La solution généralement adoptée avec ce type de détecteur, consiste à diminuer suffisamment la taille du faisceau pour éviter les variations de densité des échantillons et à utiliser des corrections de l'absorbance basées sur des équations de **Kubelka et Munk** (1931).

Ces détecteurs permettent d'obtenir des chromatogrammes à différentes longueurs d'onde, de réaliser une identification spectrale des pics obtenus, et de les quantifier avec des limites de détection très basses.

**Poole et Poole** ont publié en 1995 une revue exhaustive des aspects théoriques de la technique et leur comparaison avec ceux obtenus en CLHP. **Weins et Hauck** (1996), pour leur part, ont passé en revue les applications de la CCM à différents types d'échantillons : leur constat est que les applications se font essentiellement dans les domaines alimentaires, pharmacologiques, de l'analyse clinique et biologique et représentent 70% du total, alors que le suivi de synthèses chimiques et l'analyse liée à l'environnement sont moins utilisés.

Généralement, la quantification en CCM-UV/Visible est basée sur un étalonnage absolu utilisant des étalons externes.

#### I.2.4. Comparaison des techniques Iatroscan et CCM-UV/Visible

L'Iatroscan et la CCM-UV/Visible sont deux techniques qui, en raison de leurs caractéristiques différentes, sont appliquées dans des domaines distincts.

Elles n'ont pas les mêmes capacités de séparation. Etant donné les petites dimensions des rods, le nombre de plateaux théoriques est inférieur à celui des plaques classiques qui ont ainsi de plus grandes capacités de séparation, d'autant plus que l'élution peut se faire selon deux dimensions.

Sur une plaque plusieurs échantillons peuvent être séparés simultanément alors que la baguette ne permet la séparation que d'un échantillon à la fois et les supports classiques utilisés en Iatroscan sont généralement limités à 10 baguettes.

En ce qui concerne la détection, en CCM-UV/Visible on peut réaliser à la fois l'analyse qualitative (il est possible d'obtenir des spectres dans une gamme de longueurs d'ondes de 200 à 700 nm en tout point de la plaque) et quantitative d'un échantillon, alors que l'Iatroscan ne permet que l'analyse quantitative.

De plus, le détecteur FID est limité par la volatilité de l'échantillon ce qui n'est pas le cas de la détermination UV/Visible

L'Iatroscan est une technique destructive qui empêche toute caractérisation ultérieure, par d'autres techniques analytiques, des fractions séparées. Par contre, la détection UV/Visible n'étant pas destructive, les plaques peuvent être conservées pour des mesures ultérieures ou pour la récupération des échantillons injectés.

Enfin la CCM-UV/Visible peut être considérée comme une **technique préparative** d'échantillons destinés à d'autres méthodes d'analyses, chromatographiques ou spectroscopiques.

De son côté, l'Iatroscan permet de détecter les composés aliphatiques ce qui n'est pas le cas de la CCM-UV/Visible, dans des conditions normales d'utilisation, étant donné l'absence d'absorption de ces composés dans la gamme de longueurs d'ondes utilisée.

Le TABLEAU X résume les avantages et les inconvénients respectifs de chaque technique.

TABLEAU X : Tableau comparatif des techniques IATROSCAN et CCM-UV/Visible

Technique	Avantages	Inconvénients
Iatroscan	<ul style="list-style-type: none"> <li>- détecteur quantitatif peu dépendant de la structure moléculaire des fractions à détecter.</li> <li>- possibilité de détecter quasiment tous les composés organiques (dont les composés aliphatiques).</li> <li>assurance d'un développement rectiligne des échantillons.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- faible variété de supports.</li> <li>- développement unidimensionnel détection destructive.</li> <li>- la volatilité des échantillons influence la quantativité de la technique</li> <li>- la technique n'apporte pas d'informations structurales sur les composés séparés.</li> </ul>
CCM-UV/Visible	<ul style="list-style-type: none"> <li>- nombreux supports commerciaux disponibles.</li> <li>- meilleure résolution (grand nombre de plateaux théoriques).</li> <li>- possibilité de réaliser des développements bidimensionnels.</li> <li>- les échantillons volatils sont détectables et quantifiables.</li> <li>- possibilité d'obtenir des données structurales.</li> <li>- technique non destructive.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- composés aliphatiques non détectables.</li> </ul>

### I.2.5. Conclusion.

Au vu des caractéristiques des deux techniques, on peut affirmer que la CCM-UV/Visible permet un plus grand nombre d'applications et apporte des informations plus complètes que l'Atrosan. Mais malgré ses désavantages, l'Atrosan est une technique totalement justifiée pour l'analyse de mélanges complexes de composés à point d'ébullition élevé. En effet, même si les facteurs de réponse dépendent de la nature chimique des composés séparés, ils varient moins que dans le cas de la détection UV/Visible (**Ranny 1987**). En général, les membres d'une même série homologue ont des réponses assez uniformes (tout comme pour la détection FID couplée à la CPG), et ainsi, l'étalonnage est plus aisé qu'en CCM-UV/Visible.

L'intérêt principal de la détection UV est lié à son caractère non destructif et à la possibilité de détecter des échantillons volatils.

## **PARTIE EXPERIMENTALE**

## **CHAPITRE II : EXTRACTION ET ANALYSE DE MELANGES COMPLEXES**

### **D'HYDROCARBURES D'ORIGINE PETROLIERE**

#### **II.1. INTRODUCTION**

L'analyse des polluants organiques présents dans des matrices liquides ou solides s'effectue généralement en deux étapes :

- l'extraction des polluants dans la matrice.
- la détection et le dosage de ces polluants par des techniques analytiques adéquates (chromatographie ou spectroscopie).

L'extraction doit être quantitative et la technique analytique choisie pour la détection et le dosage doit être suffisamment sensible et sélective pour pouvoir traiter des concentrations très faibles (quelques mg par l ou par kg).

L'efficacité de l'extraction dépend fortement de la nature des matrices (milieux aqueux et sols) polluées par les composés organiques étudiés. Ainsi, dans le cas des échantillons solides, elle est gênée par les interactions entre la matrice et les polluants. En effet, la nature géologique de la matrice, ses propriétés structurales et physico-chimiques (caractère acide-base, morphologie, porosité, état divisé) peuvent donner lieu à des liaisons secondaires avec les polluants et à un piégeage de ces derniers sur les sites actifs. De ce fait, ils peuvent être inaccessibles à l'extraction.

Nous avons présenté dans la mise au point bibliographique, quelques-unes des méthodes d'extraction actuellement utilisées. Nous rappelons que ces méthodes ont surtout été développées pour se substituer aux techniques classiques comme l'extraction au Soxhlet et sous ultrasons dans le cas des échantillons solides et l'extraction liquide-liquide dans le cas des échantillons aqueux. La plupart de ces méthodes sont automatisées mais elles nécessitent une

mise au point précise, en raison des nombreux paramètres pouvant les influencer. De plus, l'instrumentation est généralement coûteuse.

Nous rappelons que l'objectif de notre travail est de mettre au point un protocole d'analyse permettant l'extraction et l'analyse d'hydrocarbures pétroliers dans des échantillons solides ou aqueux, et satisfaisant aux critères suivants : rapidité, efficacité, simplicité de la mise en oeuvre et coût minimal.

Dans un premier temps, nous avons utilisé des méthodes d'extraction (par solvant) et de détection (spectroscopie infrarouge à transformée de fourier IRTF) relativement classiques, aussi bien pour des échantillons liquides que solides. En ce qui concerne les échantillons solides, par rapport aux objectifs que nous nous sommes fixés, nous avons amélioré le protocole d'extraction par solvant en utilisant les ultrasons (sonication) d'une part, et la méthode Soxtec, d'autre part. Dans ce dernier cas, le rendement d'extraction a été déterminé par gravimétrie.

Dans un deuxième temps, nous avons développé de manière approfondie une méthodologie d'analyse plus originale basée sur la chromatographie sur couche mince (CCM). Cette technique permet, à partir de l'extrait contenant les hydrocarbures polluants, de séparer ces hydrocarbures par familles (ou fractions) chimiques différentes (saturés, aromatiques, polaires et composés non élués).

Pour le dosage de ces familles, nous avons utilisé deux méthodes de détection couplées à la CCM :

- la détection dans l'ultraviolet
- la détection de fluorescence.

Nous avons réalisé une étude systématique de la fiabilité du protocole d'analyse. La détection UV a été utilisée pour le dosage de la fraction aromatique et la fluorescence a été appliquée à la détection des fractions saturées et aromatiques. Nous avons choisi ces familles parce qu'elles sont majoritaires dans les hydrocarbures que nous avons étudiés.

## **II.2. ANALYSE D'ECHANTILLONS POLLUES PAR DES HYDROCARBURES PETROLIERS BASEE SUR L'EXTRACTION LIQUIDE-LIQUIDE OU LIQUIDE-SOLIDE.**

### **II.2.1. MATERIEL ET METHODES**

#### **II.2.1.1. Extraction couplée à la détection par Infrarouge.**

##### **II.2.1.1.1. Préparation des échantillons surchargés par des hydrocarbures étalons.**

Nous avons préparé des échantillons contenant des quantités connues d'hydrocarbures étalons qui entrent généralement dans la composition des dérivés pétroliers tels que les carburants. Ces produits de référence sont les suivants :

- l'octane  $C_8H_{18}$ .
- l'undécane  $C_{11}H_{24}$ .
- l'éthylbenzène  $C_6H_5-C_2H_5$ .

Ils sont de pureté analytique (pureté > 99%) et nous ont été fournis par la société Sigma-Aldrich (Saint Quentin Fallavier, France).

Les échantillons aqueux ont été préparés à partir d'eau distillée.

Les échantillons solides ont été préparés à partir de sable de Fontainebleau, matériau constitué de 99% (minimum) de silice ( $SiO_2$ ), fourni par la société SDS (Peypin, France).

La surcharge a nécessité l'emploi de solvants comme l'acétonitrile ( $CH_3CN$ ) et le méthanol ( $CH_3OH$ ). Ces solvants de pureté analytique (respectivement >99.5% et 99.8%) ont également été fournis par la société SDS.

### II.2.1.1.2. Méthode de préparation des échantillons.

#### a) Echantillons aqueux.

La préparation des échantillons d'eau contaminée par des hydrocarbures s'effectue en deux étapes :

- réalisation d'une solution d'hydrocarbures étalons dans le méthanol ou l'acétonitrile.
- surcharge des échantillons d'eau pure (eau distillée) par la solution d'étalons.

La solution d'hydrocarbures est constituée d'un mélange contenant en masse 37.5% d'octane ( $C_8H_{18}$ ), 37.5% d'undécane et 25% d'éthylbenzène pesés exactement, et en solution dans un volume adéquat d'acétonitrile ou de méthanol. Les pourcentages massiques sont déterminés par pesées à 0,1 mg.

Dans un ballon à fond plat de 500 ml, un volume déterminé d'eau distillée, est surchargé par la solution contenant les hydrocarbures (voir tableau XI p 64). Le volume d'eau, la concentration de la solution contenant les hydrocarbures et le volume de solution utilisé pour la surcharge sont déterminés en fonction de la concentration théorique en hydrocarbures des échantillons que l'on souhaite obtenir (nous donnons dans le tableau XI des exemples de préparation d'échantillons).

Des échantillons témoins ont été systématiquement préparés en ajoutant à l'eau des volumes de solvant pur (sans hydrocarbures) équivalents à ceux utilisés pour les échantillons surchargés.

TABLEAU XI : Exemples de préparation d'échantillons d'eau surchargés par des hydrocarbures

Concentration en hydrocarbures de la solution de surcharge (g/l)	Volume d'eau distillée (ml)	Volume de solution de surcharge (ml)	Concentration en hydrocarbures des échantillons (mg/l)
2,55	500	1	5,09
2,52	500	2	10,10
1,25	250	5	25,04
2,55	250	5	49,94
5,04	250	5	98,86
10,07	250	5	197,35

b) Echantillons solides.

Comme dans le cas des échantillons aqueux, la préparation est effectuée en deux étapes :

- Préparation d'une solution de surcharge contenant les hydrocarbures.
- Surcharge des échantillons par cette solution.

Les solutions de surcharge sont préparées de manière similaire à celles utilisées pour les échantillons aqueux. Elles présentent généralement une concentration inférieure à celles utilisées dans le cas de ces échantillons aqueux car les masses de matrices solides sont inférieures aux masses d'eau utilisées.

Dans un ballon de 100 ml, on introduit environ 25 g de sable pesés exactement, puis un volume de quelques millilitres de la solution de surcharge, déterminé selon la concentration finale désirée. Nous indiquons dans le tableau XII quelques exemples de préparation d'échantillons.

Comme dans le cas des échantillons liquides, nous avons systématiquement préparé des échantillons témoins pour détecter les interférences éventuelles.

TABLEAU XII : Préparation des échantillons

Concentration de la solution de surcharge (mg/l)	Masse de sable (g)	Volume de solution utilisée pour la surcharge (ml)	Concentration des échantillons en hydrocarbures (mg/kg)
510,4	25,25	1	20,2
510,4	25,30	2	40,3
510,4	25,14	5	101,5
5027	25,07	1	200,5
5018	25,29	2	396,8
5020	25,59	5	980,9

### II.2.1.1.3 Extraction des hydrocarbures et détermination des rendements d'extraction par IRFT- Optimisation des conditions opératoires.

#### II.2.1.1.3.1. Réactifs et matériel.

Les réactifs et le matériel spécifique que nous avons utilisés pour extraire les hydrocarbures sont les suivants :

- Tétrachlorure de carbone ( $\text{CCl}_4$ , pureté > 99.5%).
  - Fréon 113 ( $(\text{Cl}_2\text{F})\text{C}-\text{C}(\text{Cl}_2\text{F})$ , pureté > 99.5%).
  - Sulfate de sodium ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) anhydre (pureté > 99.5%).
  - Florisil (Silicate de Magnésium  $\text{MgO}$ ,  $\text{SiO}_2$ ).
- Filtres séparateurs de phases Whatman.

Les réactifs nous ont été fournis par SDS et les filtres par OSI (Elancourt, France).

La détection et le dosage des hydrocarbures ont été réalisés à l'aide d'un spectromètre infrarouge à transformée de fourier MATTSON 5000, en cuve de quartz de 1 et 5 cm de trajet optique. Il est couplé à un logiciel conçu pour le dosage des hydrocarbures : WINHYDRO (Unicam).

#### II.2.1.1.3.2. Extraction des hydrocarbures dans les échantillons aqueux : étude de l'influence de la concentration en hydrocarbures.

Le protocole d'extraction que nous avons appliqué est similaire à celui préconisé par l'AFNOR dans la norme NFT-90114 qui concerne le dosage des hydrocarbures totaux dans les eaux (Association Française de Normalisation). Il consiste en une extraction liquide/liquide par le  $\text{CCl}_4$ .

Lors de l'extraction, le volume de solvant utilisé est adapté à la concentration en hydrocarbures des échantillons afin d'éviter que l'extrait soit trop dilué, ce qui pourrait nuire à la qualité de la détection. Nous indiquons dans les tableaux XIII et XIV les séries d'échantillons que nous avons utilisés et les conditions d'extraction auxquelles ils ont été soumis. Pour chaque série, le nombre d'échantillons préparés et traités est toujours supérieur à 3.

Le volume de solvant extractant est l'un des paramètres pouvant influencer les rendements d'extraction. Aussi, nous avons utilisé différentes valeurs du rapport volume de

solvant / volume d'échantillon. Cependant, si ce rapport est faible, il peut entraîner une extraction incomplète des hydrocarbures. Par conséquent, il est nécessaire de vérifier si l'extraction est complète. C'est ce que nous avons fait en soumettant certains échantillons à deux extractions successives.

Pour chaque série d'expériences, nous avons soumis des échantillons témoins à l'extraction pour détecter les éventuelles interférences dues au solvant de surcharge.

TABLEAU XIII : Conditions d'extraction des échantillons de concentration inférieure à 50 mg/l.

Série N°	Volume de l'échantillon ml	Concentration en hydrocarbures mg/l	Volume de solvant (ml) / type de solvant	Rapport $\frac{\text{volume de solvant}}{\text{volume d'échantillon}}$
1	500	5,09	15 / CCl <sub>4</sub>	0,03
2	500	4,99	20 / CCl <sub>4</sub>	0,04
3	500	4,91	50 / CCl <sub>4</sub>	0,1
4	250	5,03	25 / CCl <sub>4</sub>	0,1
5	250	4,02	25 / CCl <sub>4</sub>	0,1
6	250	2,01	25 / CCl <sub>4</sub>	0,1
7	250	10,19	20 / CCl <sub>4</sub>	0,08
8	250	10,02	25 / CCl <sub>4</sub>	0,1
9	250	25,04	25 / CCl <sub>4</sub>	0,1
10	250	49,63	25 / CCl <sub>4</sub>	0,1
11	250	49,51	25 / CCl <sub>4</sub>	0,1
12	250	49,94	25 / CCl <sub>4</sub>	0,1

TABLEAU XIV : Conditions d'extraction des échantillons de concentration supérieure à 50 mg/l

Série N°	Volume de l'échantillon ml	Concentration en hydrocarbures mg/l	Volume de solvant (ml) / type de solvant
13	250	98,86	25/Fréon 113
14	250	98,75	25/CCl <sub>4</sub>
15	250	98,51	25/CCl <sub>4</sub>
16	250	99,45	25/CCl <sub>4</sub>
17	250	98,58	25/CCl <sub>4</sub>
19	250	197,35	25/Fréon 113
20	250	197,82	25/CCl <sub>4</sub>
21	250	197,67	25/CCl <sub>4</sub>

Dans le ballon contenant l'échantillon d'eau contaminée, on ajoute un volume de 15 à 25 ml de CCl<sub>4</sub> ou de fréon 113. Le mélange est agité à grande vitesse (350 tours/min), durant 30 mn à l'aide d'un agitateur magnétique. On le laisse ensuite décanter quelques minutes dans une ampoule à décanter, avant de soutirer la phase organique (solvant + hydrocarbures extraits) et de la filtrer sur un filtre séparateur de phase contenant environ 1 g de sulfate de sodium : cette opération permet d'éliminer d'éventuelles traces d'eau subsistant dans la phase organique.

Le filtrat est récupéré et 10 ml sont introduits dans une colonne contenant environ 5 g de Florisil. Cet adsorbant retient les composés polaires qui peuvent interférer lors de l'analyse par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF). Les échantillons que nous avons préparés ne devraient pas en contenir, en principe, mais une contamination extérieure étant toujours possible, cette étape permet d'éviter tout problème dû à ces composés et de rester dans des conditions d'analyse proches de celles de la méthode AFNOR.

Lorsque la totalité du filtrat est passée sur la colonne, l'élution est effectuée avec 40 ml additionnels de solvant.

L'extrait est alors prêt pour la détection et le dosage en IRTF.

### II.2.1.1.3.3. Extraction des hydrocarbures dans les échantillons solides.

On ajoute 50 ml de  $\text{CCl}_4$  dans un ballon de 100 ml qui contient l'échantillon surchargé. L'extraction est effectuée sous ultrasons, durant 30 mn.

Le contenu du ballon (solvant + sable) est ensuite filtré sur filtre 1 PS séparateur de phase et la solution récupérée est versée dans 250 ml d'eau distillée.

Après 15 mn d'agitation, le mélange est transféré dans une ampoule à décanter et la suite du protocole d'extraction est identique à celui que nous avons suivi pour les échantillons d'eau.

#### a) Etude de l'influence de la concentration en hydrocarbures.

Nous avons vérifié l'efficacité du protocole d'analyse en fonction de la concentration des échantillons en hydrocarbures. Dans les tableaux XV à XVIII les échantillons sont classés selon leur rang de concentration. La surcharge a été réalisée indifféremment à l'aide de méthanol ou d'acétonitrile sans que l'influence du choix du solvant fasse l'objet d'une étude approfondie.

TABLEAU XV : Echantillons de concentration inférieure à 200 mg/kg.

Série	Solvant de surcharge	Concentration en hydrocarbures des échantillons (mg/kg)
22	Méthanol	20,27
23	Méthanol	40,23
24	Méthanol	101,30

TABLEAU XVI : Echantillons de concentration proche de 200 mg/kg.

Série	Solvant de surcharge	Concentration en hydrocarbures des échantillons (mg/kg)
25	Méthanol	200,44
26	Méthanol	194,90
27	Acétonitrile	197,15
28	Méthanol	197,58
29	Acétonitrile	199,03

TABLEAU XVII : Echantillons de concentration proche de 400 mg/kg.

Série	Solvant de surcharge	Concentration en hydrocarbures des échantillons (mg/kg)
30	Méthanol	400,49
31	Acétonitrile	399,94
32	Méthanol	392,68
33	Acétonitrile	394,05
34	Méthanol	392,36
35	Acétonitrile	394,28

TABLEAU XVIII : Echantillons de concentration proche de 1000 mg/kg.

Série	Solvant de surcharge	Concentration en hydrocarbures des échantillons (mg/kg)
36	Méthanol	1002,99
37	Acétonitrile	1004,37
38	Méthanol	980,88
39	Acétonitrile	991,99
40	Méthanol	987,06
41	Acétonitrile	992,40

b) Influence de l'humidité des échantillons.

Nous avons étudié l'influence de l'humidité des échantillons sur les rendements d'extraction. Pour cela nous avons ajouté de l'eau à nos échantillons avant et après la surcharge.

Nous indiquons dans les tableaux XIX et XX les caractéristiques des échantillons que nous avons utilisés.

TABLEAU XIX : Echantillons humidifiés avant la surcharge.

Série	Volume d'eau (ml) / % équivalent en masse	Solvant de surcharge	Concentration en hydrocarbures des échantillons secs (mg/kg)
42	0 / 0%	Méthanol	198,5
43	2 / 7,4 %	Méthanol	196,43
44	5 / 16,7 %	Méthanol	198,70

TABLEAU XX : Echantillons humidifiés après la surcharge.

Série	Volume d'eau (ml) / % équivalent en masse	Solvant de surcharge	Concentration en hydrocarbures des échantillons (mg/kg)
45	0 / 0%	Méthanol	390,93
46	2 / 7,4 %	Méthanol	394,47
47	5 / 16,7 %	Méthanol	396,33

II.2.1.1.3.4. Dosage par infrarouge à transformée de Fourier et traitement des données.a) Etalonnage.

Pour l'étalonnage, nous avons utilisé une solution étalon modifiée par rapport à la norme AFNOR. Elle est obtenue à partir d'un mélange octane (37.5%) - undécane (37.5%) - éthylbenzène (25%) dans le CCl<sub>4</sub> ou le fréon 113 de façon à obtenir une concentration d'environ 2 g/l pour la gamme d'étalonnage en cuve de 1 cm et environ 1 g/l pour la gamme d'étalonnage en cuve de 5 cm. Les différentes solutions étalons sont obtenues par dilution de la solution étalon initiale (solution mère). Dans le tableau XXI, nous indiquons les caractéristiques des solutions étalons qui nous ont permis de préparer les gammes d'étalonnage. Dans le tableau XXII figurent les solutions utilisées pour les étalonnages en cuve de 1cm et 5 cm.

TABLEAU XXI : Solutions utilisées pour la préparation des gammes d'étalonnage.

Solvant	cuve utilisée	Concentration de la solution mère (g/l)
CCL <sub>4</sub>	1 cm	2,02
CCL <sub>4</sub>	5 cm	1,04
Fréon 113	1 cm	2,07
Fréon 113	5 cm	2,07

TABLEAU XXII : Solutions utilisées pour les gammes d'étalonnage dans le CCl<sub>4</sub>.

Cuve de 1 cm	Cuve de 5 cm
Concentration des solutions d'étalonnage (mg/l)	Concentration des solutions d'étalonnage (mg/l)
505,39	52
202,16	26
101,80	20,80
50,54	10,40
20,22	5,20
5,05	2,60
1,01	0,21
0	0

Les solutions utilisées pour l'étalonnage dans le fréon 113 (cuve de 1 cm) ont les concentrations suivantes : 518 - 207,2 - 106,6 - 51,8 - 20,72 - 10,36 - 5,18 - 0 mg/l.

Nous avons enregistré les spectres infrarouge après 10 accumulations et avec une résolution de 2 cm<sup>-1</sup>. Nous avons appliqué ces conditions expérimentales aux solutions contenant les extraits ainsi qu'aux solutions d'étalonnage. A partir des spectres, le logiciel effectue automatiquement le cumul des absorbances correspondant aux pics obtenus aux nombres d'ondes suivants :

- 2849 et 2924 cm<sup>-1</sup> : bandes des vibrations de valences respectivement symétriques et asymétriques des liaisons des groupements méthyléniques (-CH<sub>2</sub>).

- 2959 cm<sup>-1</sup> : bandes des vibrations de valence asymétriques des liaisons des groupements méthyliques (-CH<sub>3</sub>).

-  $3039 \text{ cm}^{-1}$  : bande la plus intense des vibrations de valence des liaisons CH des cycles aromatiques.

Il détermine par régression linéaire l'équation de la droite d'étalonnage :

$$\text{concentration} = a \times (\text{cumul des absorbances des pics}) + b$$

Nous avons également déterminé l'équation de la droite obtenue par régression linéaire mais avec les valeurs logarithmiques des concentrations et des cumuls d'absorbance. Pour la différencier de la régression linéaire classique, nous l'appelons régression logarithmique.

$$\text{Log}_{10} (\text{cumul des absorbances}) = a \times (\text{Log}_{10} (\text{concentration}) ) + b$$

Le logiciel ne permettant pas la détermination de l'équation de la droite d'étalonnage, par régression logarithmique, elle a été effectuée à l'aide d'un logiciel tableur (Excel).

Les courbes d'étalonnage ont été utilisées pour doser les hydrocarbures extraits des échantillons liquides mais également des échantillons solides.

#### b) Dosage des hydrocarbures extraits.

En ce qui concerne le dosage de la concentration en hydrocarbures, les calculs sont effectués par le logiciel WHINHYDRO dans le cas de la régression linéaire et à l'aide d'Excel dans le cas de la régression logarithmique. Les calculs sont les suivants :

A l'aide de la régression linéaire :

$$[\text{concentration}]_{\text{solvant}} = a \times (\text{cumul des absorbances}) + b$$

$$[\text{concentration}]_{\text{échant.}} = \frac{[\text{concentration}]_{\text{solvant}} \times f \times V1 \times V2}{V \times V3}$$

- $[\text{concentration}]_{\text{solvant}}$  : concentration de la solution contenant les hydrocarbures et issue de l'extraction, après passage sur la colonne de Florisil.
- $[\text{concentration}]_{\text{échant.}}$  : concentration en hydrocarbures de l'échantillon d'eau.
- $f$  : facteur de dilution.
- $V1$  : volume de solvant utilisé pour l'extraction.
- $V2$  : volume de l'extrait après passage sur la colonne de Florisil.
- $V3$  : volume de solution introduite sur la colonne de Florisil.
- $V$  : volume de l'échantillon

A l'aide de la régression logarithmique :

$$[\text{concentration}]_{\text{solvant}} = 10^{\frac{\log(\text{cumul}) - b}{a}}$$

La concentration de l'échantillon est déterminée de la même façon que pour la régression linéaire classique.

Le rendement d'extraction est obtenu, pour chaque échantillon, par le rapport entre la concentration déterminée par le dosage et la concentration attendue, c'est à dire la concentration théorique de l'échantillon surchargé.

#### II.2.1.2. Extraction liquide-solide par la méthode Soxtec - Dosages par gravimétrie.

Rappelons que, depuis longtemps, la méthode Soxhlet a très largement été utilisée pour l'extraction d'un grand nombre de composés organiques, à partir d'échantillons de sols et de sédiments. Actuellement, c'est une technique essentiellement comparative, permettant d'étalonner les méthodes modernes d'extraction, telles que l'extraction par les fluides supercritiques (SFE), l'extraction assistée par solvants (ASE), l'extraction assistée par microondes (MW), et l'extraction par Soxhlet automatisé (Soxtec), notamment dans le cas des hydrocarbures pétroliers (gasoil, fuel, essence) et des hydrocarbures aromatiques polycycliques, dans des échantillons contaminés (Pastor et col. 1997, Saim et col. 1997).

Etant donné que le Soxtec se présente comme une méthode alternative au Soxhlet (cf revue bibliographique), notre objectif est de l'appliquer à l'extraction de gasoil, à partir

d'échantillons solides contaminés. Cette application nécessite deux conditions : obtenir des rendements d'extraction élevés, et une bonne répétabilité.

#### II.2.1.2.1. Préparation des échantillons surchargés.

Nous avons préparé des échantillons solides contenant des quantités connues de gasoil. Ce gasoil nous ayant été fourni de manière confidentielle, nous ne pouvons en citer la provenance et nous le désignons par l'appellation "gasoil 1".

Les échantillons solides ont été préparés à partir de sable de Fontainebleau, matériau constitué de 99% (minimum) de silice ( $\text{SiO}_2$ ), fourni par la société SDS (Peypin, France).

La surcharge a nécessité l'emploi de dichlorométhane ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) de pureté analytique (>99.5%) fourni par la société Panreac (Barcelone, Espagne).

#### II.2.1.2.2. Méthode de préparation des échantillons surchargés.

Nous avons réalisé la surcharge en injectant 2 ml d'une solution à 10 g/l de gasoil 1 dans le dichlorométhane à mi-hauteur d'une cartouche de cellulose contenant 15 g de sable de fontainebleau. Ainsi, la concentration des échantillons est de 1,3 g de gasoil 1/ kg de sable. L'échantillon est ensuite homogénéisé à l'aide d'une baguette de verre et on laisse le solvant de surcharge s'évaporer quelques minutes à l'air libre.

#### II.2.1.2.3. Extraction du gasoil. Paramètres d'extraction.

L'extraction est réalisée au Soxtec (Tecator HC2), l'unité de chauffage étant réglée à 95°C (bain de silicone), ce qui assure un reflux adéquat du solvant (75 ml de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) dans l'unité d'extraction.

Après les étapes d'immersion et de lavage, le volume de l'extrait est réduit à environ 2 ml durant la dernière étape du processus d'extraction, puis transféré dans un flacon en verre taré et séché sous un faible courant d'azote. Enfin, l'échantillon est laissé à l'air libre une heure à température ambiante avant d'être pesé pour la détermination du rendement d'extraction (quantification par gravimétrie).

Afin de déterminer les conditions optimales d'extraction, nous avons fait varier les deux paramètres principaux : le temps d'immersion et le temps de lavage.

Nous indiquons dans le tableau XXIII les conditions expérimentales que nous avons utilisées.

TABLEAU XXIII : Conditions expérimentales des extractions au Soxtec.

Temps d'immersion (min)	Temps de lavage (min)
10	5
10	10
10	15
10	20
15	20
5	20

## **II.2.2. RESULTATS ET DISCUSSION.**

### **II.2.2.1. Utilisation d'étalons de surcharge.**

L'étude et la mise au point de techniques analytiques, surtout pour l'extraction de polluants en solution aqueuse ou dans des matrices solides, nécessitent généralement l'utilisation d'échantillons surchargés ("spiked samples") préparés en laboratoire. Il est également possible d'utiliser des échantillons certifiés. Mais leur coût est très élevé surtout pour une étude systématique nécessitant la réalisation de nombreuses expériences. Même si les échantillons surchargés ne sont pas vraiment représentatifs des échantillons réels, tels qu'on peut les trouver dans l'environnement, où les mécanismes de contamination des sols et de l'eau par des polluants sont très complexes, cette approche permet d'utiliser des échantillons contenant des quantités connues de composés contaminants. De cette façon, il est possible de déterminer des rendements d'extraction ou d'analyse.

En ce qui concerne les échantillons aqueux, il est impossible de reproduire, par simple mise en solution des hydrocarbures dans l'eau, les niveaux de contamination observés pour des échantillons réels (de quelques milligrammes à quelques grammes par litre d'eau) étant donné leur faible solubilité. En effet, dans le milieu naturel, les fortes teneurs en hydrocarbures ne sont pas dues au seul phénomène de solubilisation, mais également à leur adsorption par des microparticules en suspension et à la formation de micelles. Ces processus complexes dépendent de plusieurs facteurs parmi lesquels le temps de séjour dans le milieu.

Pour surmonter le problème de la faible solubilité des hydrocarbures dans l'eau, nous avons utilisé des solvants intermédiaires, le méthanol ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ) ou l'acétonitrile ( $\text{CH}_3\text{CN}$ ), miscibles à l'eau, et dans lequel les hydrocarbures sont solubles. Ces solvants étant polaires, ils présentent un coefficient de partage dans l'eau largement supérieur à celui dans le solvant d'extraction. Par conséquent, ils ne devraient pas interférer lors de l'analyse en IRTF.

Dans le cas de l'analyse des échantillons solides, nous avons également utilisé des échantillons surchargés.

La masse d'hydrocarbures introduite dans les échantillons étant très faible (quelques milligrammes à quelques grammes d'hydrocarbure par kilogramme de matrice solide), deux obstacles majeurs rendent la préparation des échantillons difficile :

- il est impossible de déposer les hydrocarbures directement sur l'échantillon car le rapport [masse d'hydrocarbures/masse de matrice solide] ne permet pas une pesée précise. Les hydrocarbures ne peuvent pas non plus être pesés séparément et transférés ensuite sur l'échantillon, car des pertes importantes pourraient se produire par évaporation au cours de l'opération.

- Il est difficile d'obtenir un échantillon homogène en mélangeant une masse donnée de matrice solide avec une masse très inférieure de contaminant.

C'est pour surmonter ces difficultés que nous avons procédé d'une manière analogue à celle utilisée dans le cas des échantillons liquides : la surcharge des échantillons s'effectue par l'intermédiaire d'une solution contenant les hydrocarbures. Si le volume de solution injectée dans l'échantillon est connu avec précision, la masse d'hydrocarbures l'est aussi et on peut déterminer aisément la concentration en hydrocarbures de l'échantillon ainsi surchargé.

#### II.2.2.2. Détermination des rendements d'extraction par dosage en IRTF

##### II.2.2.2.1. Courbes d'étalonnage.

Afin de doser les hydrocarbures dans les matrices liquides et solides, l'étalonnage a été réalisé pour deux longueurs de trajet optique. Les figures 12 et 13 représentent les droites d'étalonnage que nous avons obtenues pour la cuve de 1 cm.

Les coefficients de corrélation sont très élevés, ce qui indique que les données s'ajustent parfaitement aux équations obtenus à partir des deux types de régression. On peut toutefois

constater que l'ajustement par régression logarithmique est légèrement meilleur que par régression linéaire.

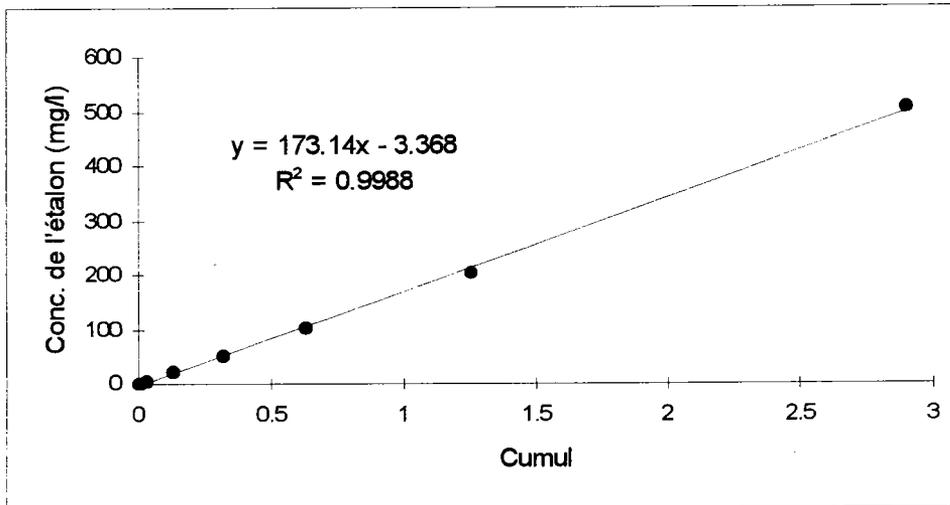


Figure 12 : Droite d'étalonnage obtenue par régression linéaire

(Solvant :  $\text{CCl}_4$  ; cuve utilisée : 1 cm; a = pente; b = ordonnée à l'origine;  $r^2$  = coefficient de corrélation)

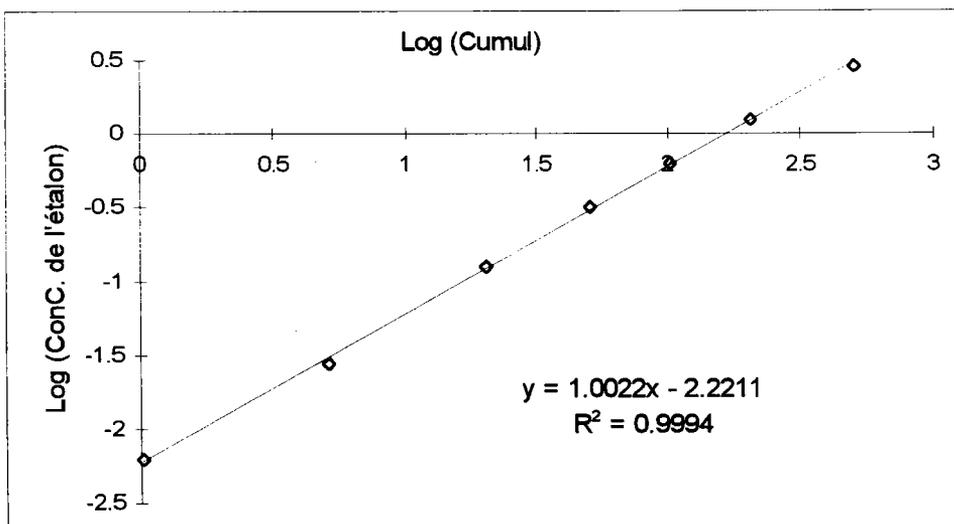


Figure 13 : Droite d'étalonnage obtenue par régression logarithmique.

(Solvant :  $\text{CCl}_4$  ; cuve utilisée : 1 cm; a = pente; b = ordonnée à l'origine;  $r^2$  = coefficient de corrélation)

Les figures 14 et 15 représentent les droites d'étalonnage que nous avons obtenues pour la cuve de 5 cm.

Comme dans les cas de l'utilisation de la cuve de 1 cm, les coefficients de corrélation, obtenus à partir des données concernant les spectres enregistrés en cuve de 5 cm, sont très élevés. Mais à présent, c'est la courbe régression linéaire qui représente le meilleur ajustement. Les figures 14 et 15 montrent en effet que le dispersion des points est plus élevée dans le cas de la régression logarithmique.

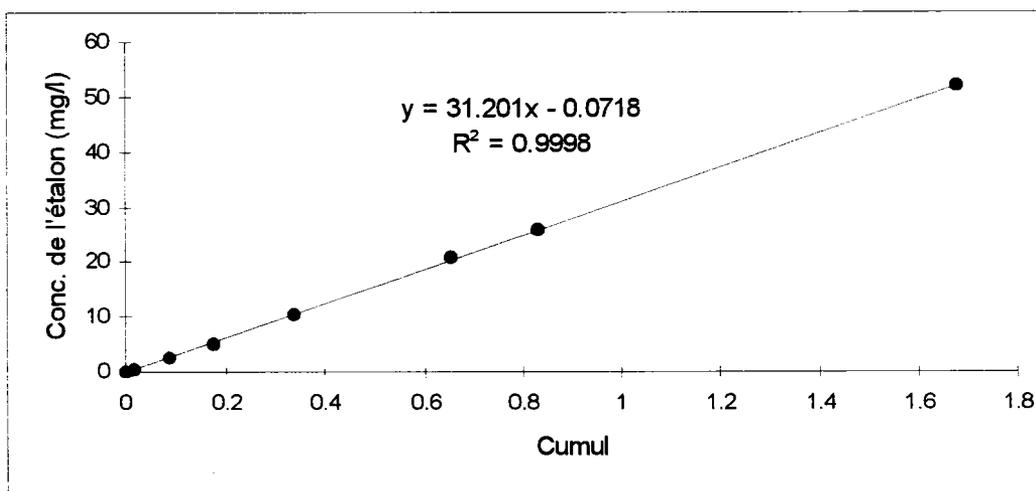


Figure 14 : Droite d'étalonnage obtenue par régression linéaire

(Solvant :  $\text{CCl}_4$  ; cuve utilisée : 5 cm; a = pente; b = ordonnée à l'origine;  $r^2$  = coefficient de corrélation)

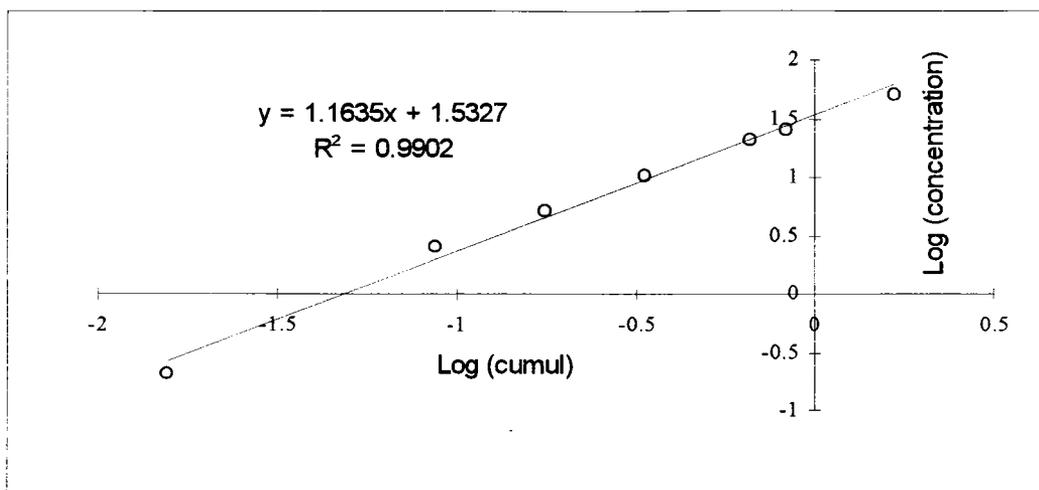


Figure 15 : Droite d'étalonnage obtenue par régression logarithmique.

(Solvant :  $\text{CCl}_4$  ; cuve utilisée : 5 cm; a = pente; b = ordonnée à l'origine;  $r^2$  = coefficient de corrélation)

Les droites d'étalonnages obtenues dans le cas où le solvant est le fréon 113 sont représentées sur les figures 16 et 17.

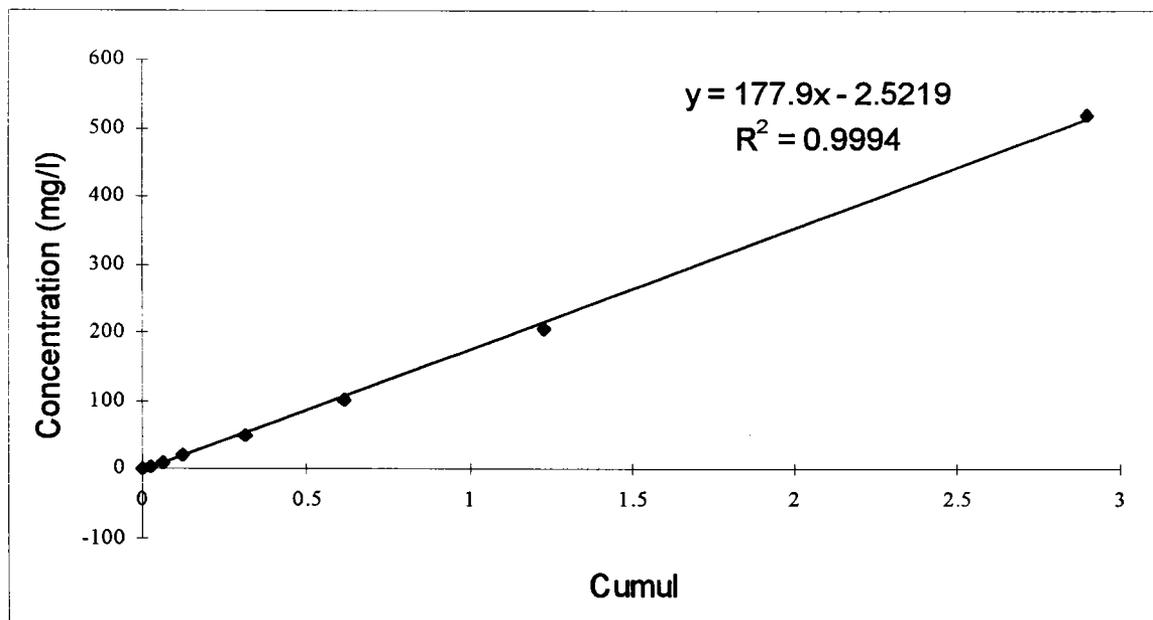


Figure 16 : Droite d'étalonnage obtenue par régression linéaire

(Solvant : fréon 113 ; cuve utilisée : 1 cm; a = pente; b = ordonnée à l'origine;  $r^2$  = coefficient de corrélation)

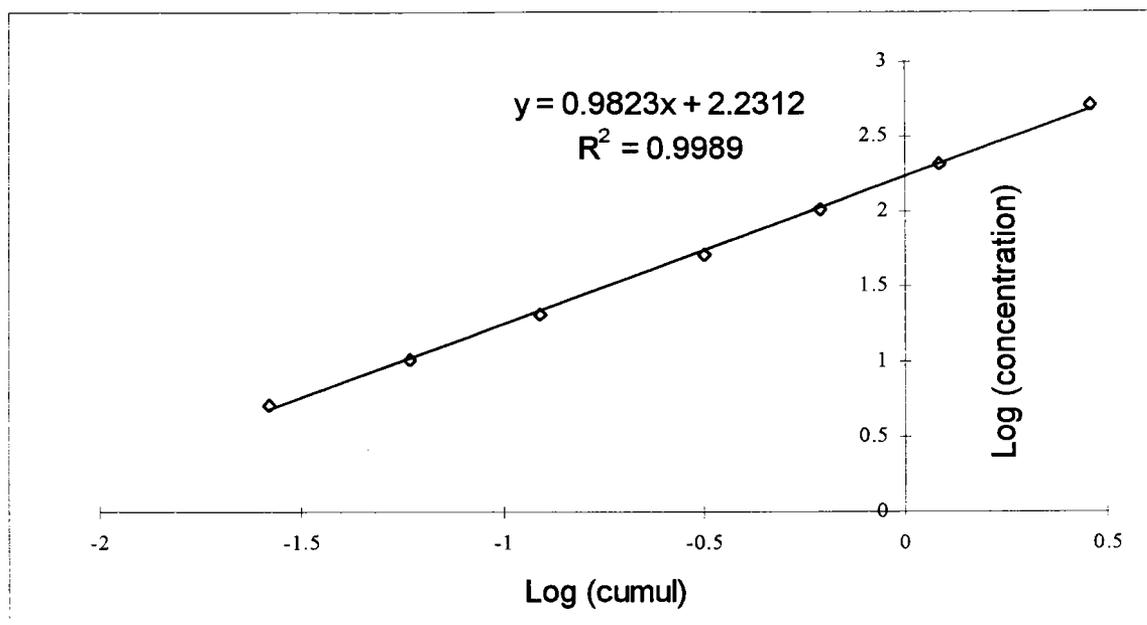


Figure 17 : Droite d'étalonnage obtenue par régression logarithmique.

(Solvant :  $\text{CCl}_4$  ; cuve utilisée : 5 cm; a = pente; b = ordonnée à l'origine;  $r^2$  = coefficient de corrélation)

A partir de ces résultats, on peut conclure que la régression logarithmique présente un avantage certain par rapport à la régression linéaire pour le calcul des concentrations en hydrocarbures des solutions à analyser. En effet, étant donné les coefficients utilisés pour la régression linéaire (pente et ordonnée à l'origine), lorsque les cumuls prennent des valeurs faibles ( $< -b/a$ ), les concentrations déterminées grâce à l'équation de la droite d'étalonnage sont négatives (la relation liant cumul et concentration étant une application affine).

Cet inconvénient est évité dans le cas de la régression logarithmique, puisque la concentration est calculée à partir d'une puissance de 10 (voir le paragraphe méthodes p 76). De ce fait, même des valeurs très faibles du cumul des absorbances conduisent à une valeur positive de la concentration dans le solvant.

### II.2.2.2.2. Rendements d'extraction des hydrocarbures issus des échantillons aqueux.

Les figures 18 et 19 représentent les rendements obtenus dans le cas d'échantillons dont la concentration en hydrocarbures est d'environ 5 mg/l (séries 1 à 4). Les échantillons des séries 1 et 2 (respectivement 5,09 mg/l et 4,98 mg/l) ont subi deux extractions successives. La figure 18 concerne les extraits analysés en cuve de 1 cm et la figure 19 concerne les extraits analysés en cuve de 5 cm (exception faite de la série à 5,09 mg/l).

Les segments verticaux apparaissant sur les graphiques représentent les écarts-type sur les calculs de rendements, et reflètent ainsi la dispersion sur les mesures.

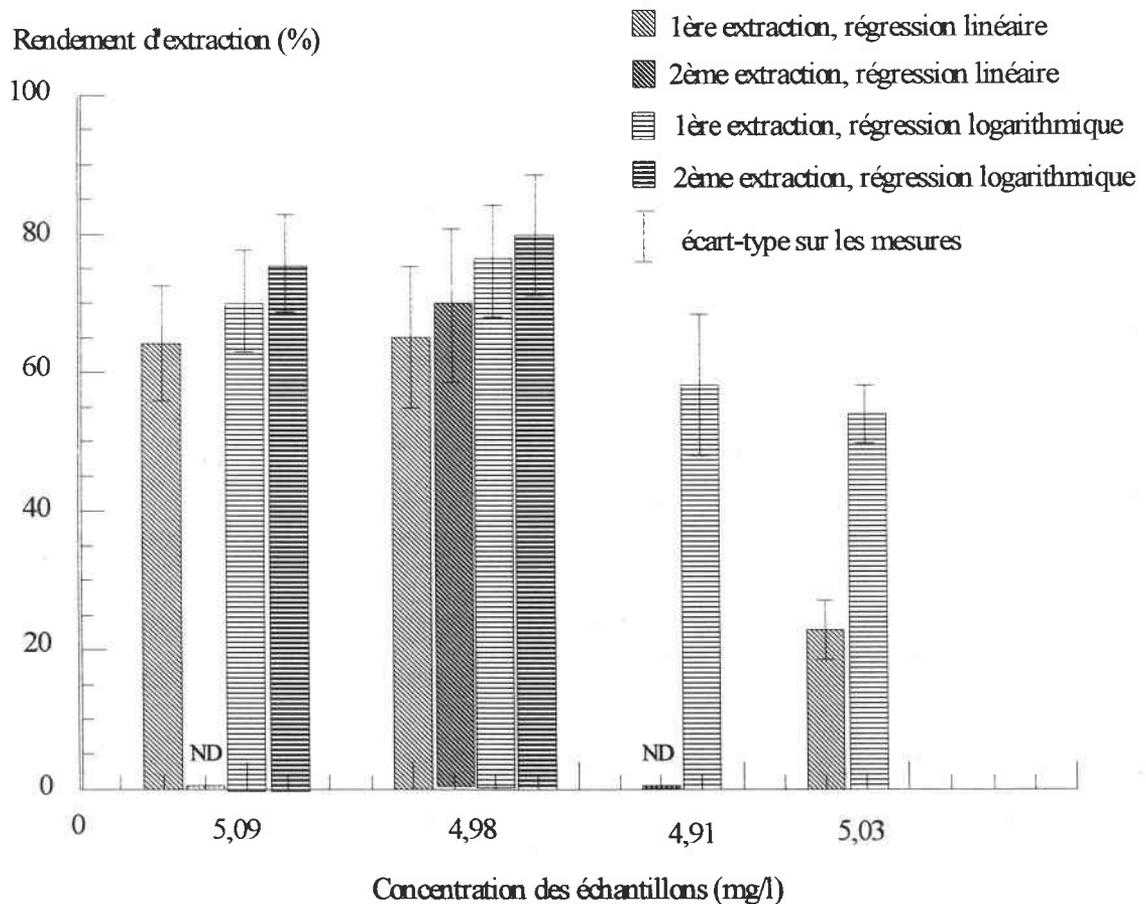


Figure 18 : Rendements d'extraction pour des échantillons de concentration voisine de 5 mg/l (cuve de 1 cm, nombre de détermination  $\geq 3$ , ND : rendement non calculable).

Les séries 3 et 4 (respectivement 4,91 mg/l et 5,03 mg/l) illustrent bien l'avantage que représente l'utilisation de la régression logarithmique dans le cas des extraits obtenus pour des échantillons de faible concentration soumis à la détection par IRTF en cuve de 1 cm. En effet, les cumuls des absorbances mesurées étant très faibles, le calcul de la concentration, par l'intermédiaire de l'équation de la droite de régression linéaire, aboutit à des valeurs négatives. Ce n'est pas le cas avec l'équation de la droite de régression logarithmique.

Par contre, lorsque la détection s'effectue en cuve de 5 cm, les valeurs de concentration obtenues par la régression logarithmique sont inférieures à celles obtenues par la régression linéaire. Cela confirme les valeurs plus faibles des coefficients de corrélation dans le cas de la régression logarithmique.

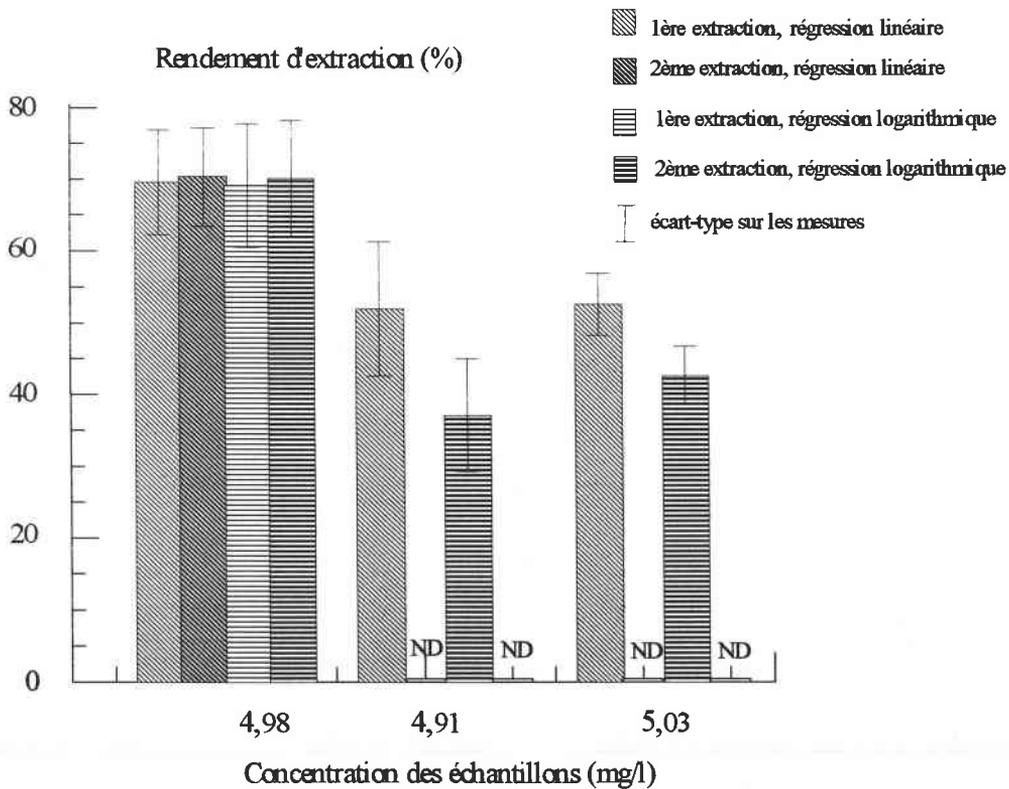


Figure 19 : Rendements d'extraction pour des échantillons de concentration voisine de 5 mg/l (cuve de 5 cm, nombre de détermination  $\geq 3$ , ND : rendement non calculable)

En cuve de 5 cm, les valeurs de concentrations (et des rendements) obtenues par la régression linéaire sont nettement supérieures à celles des valeurs déterminées pour la cuve de 1 cm. Cela est dû à l'augmentation du signal infrarouge, conséquence d'un trajet optique plus long. Rappelons que d'après la loi de Beer l'absorbance dépend directement de la longueur du trajet optique :  $A = \epsilon.l.C$  ( $\epsilon$  : coefficient d'absorption molaire;  $C$  : concentration;  $l$  : trajet optique). L'augmentation de la longueur de la cuve favorise l'absorbance.

Le problème posé par la dilution des extraits est mis en évidence si on compare les séries 3 et 4 (respectivement 4,91 mg/l et 5,03 mg/l) avec les séries 1 et 2 (respectivement 5,09 mg/l et 4,98 mg/l). Ces dernières conduisent aux extraits les plus concentrés étant donné que le rapport [volume de solvant/volume de l'échantillon] est plus faible (respectivement 0,03 et 0,04) que pour les séries 3 et 4 (rapport de 0,1). Ainsi les cumuls d'absorbance sont plus élevés et on obtient de meilleurs rendements d'extraction.

Toutefois, la réduction du rapport [volume de solvant/volume de l'échantillon] donne lieu à des extractions incomplètes puisque les rendements après deux extractions successives d'un même échantillon sont supérieurs à ceux obtenus après une seule extraction.

Il semble que le meilleur compromis soit réalisé pour la série 2, pour un rapport de 0,04, les différences de rendements entre les deux mode d'extractions (une seule ou deux extractions successives) étant très faibles.

On peut également constater que pour la plupart des résultats, la répétabilité est relativement faible.

Sur la figure 20 nous présentons les résultats que nous avons obtenus pour des échantillons dont la concentration en hydrocarbures est inférieure à 5 mg/l (série 5 : 4,02 mg/l; série 6 : 2,01 mg/l). Pour ces échantillons, une seule étape d'extraction a été réalisée dans chaque cas. Sur la figure sont donnés les rendements calculés dans le cas de l'utilisation des cuves de 1 cm et 5 cm.

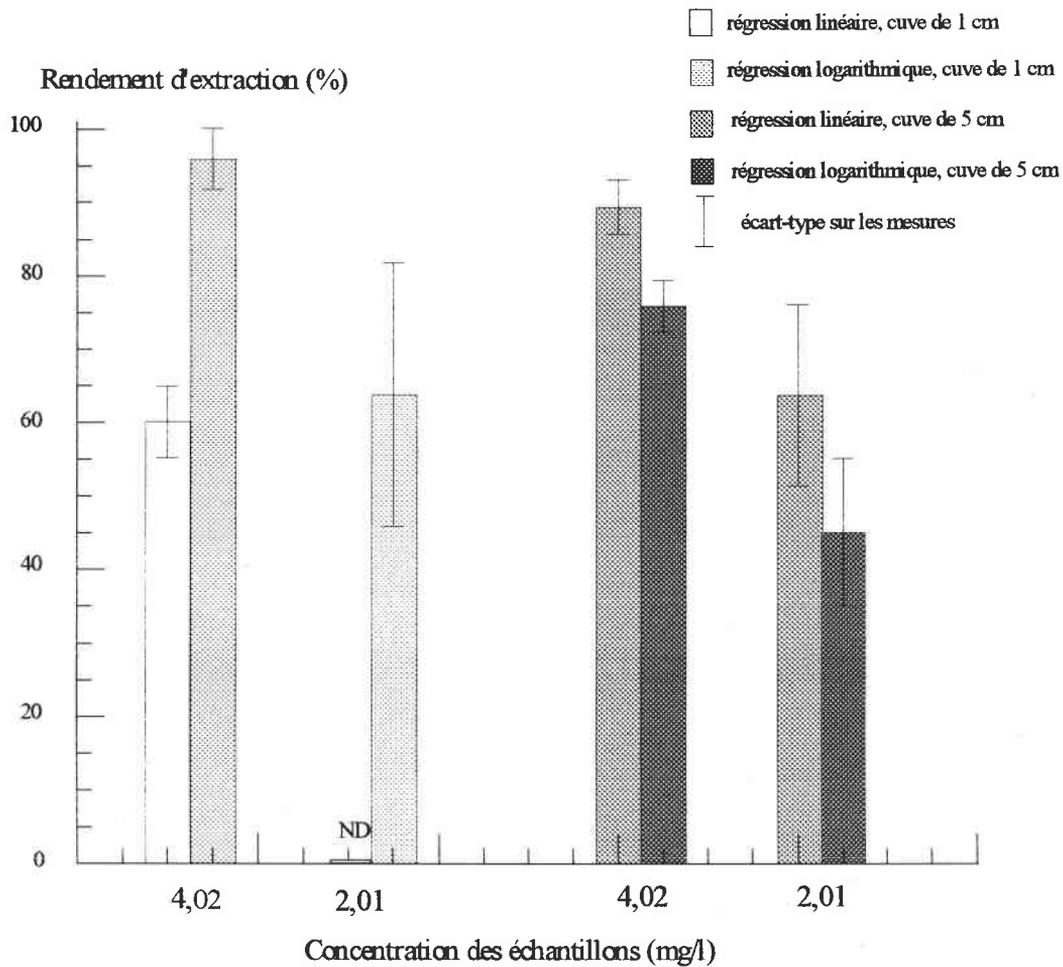


Figure 20 : Rendements d'extraction pour des échantillons de concentration inférieure à 5 mg/l (cuves de 1 cm et 5 cm; déterminations sur 1 extraction; nombre de détermination = 4, ND : rendement non calculable).

Les résultats obtenus pour ces deux séries confirment les observations faites pour les séries précédentes : l'utilisation de la régression logarithmique est la méthode la plus adéquate pour le calcul des rendements d'extraction lorsqu'on emploie la cuve de 1 cm, alors que la régression linéaire est plus appropriée pour les mesures effectuées en cuve de 5 cm.

Les rendements d'extraction très élevés (jusqu'à 96 %) obtenus pour la série 5 (4,02 mg/l), sont probablement dûs à une concentration des extraits par évaporation de solvant lors

des différentes manipulations (quelques heures se sont écoulées entre l'extraction et la quantification en IRTF).

La répétabilité des résultats est plus aléatoire dans ce cas.

La figure 21 représente les rendements déterminés (cuve de 1 cm et 5 cm) pour des échantillons dont les concentrations en hydrocarbures sont d'environ 10 et 25 mg/l.

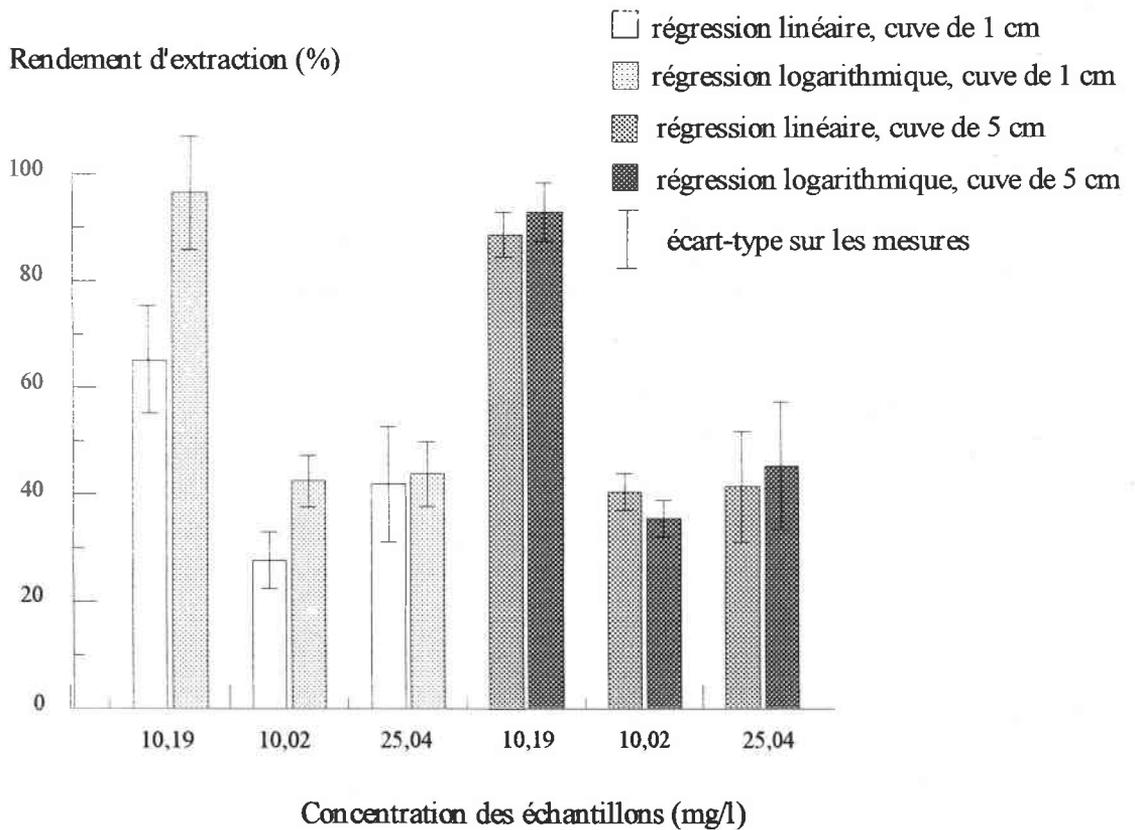


Figure 21 : Rendements d'extraction pour des échantillons de concentration 10 et 25 mg/l (cuve de 1 cm et 5 cm, déterminations sur 1 extraction, nombre de détermination  $\geq 3$ )

Les résultats mettent à nouveau en évidence la nécessité de réaliser les extractions avec un rapport [volume de solvant/volume d'échantillon] minimal afin d'augmenter la sensibilité de la détection. En effet la série 7 (10,19 mg/l) pour laquelle ce rapport est de 0,08 permet d'obtenir des rendements (pour la première extraction) nettement supérieurs à ceux des séries 8 (10,02 mg/l) et 9 (25,04 mg/l) pour lesquelles le rapport est de 0,1.

De plus, pour la série 7, nous avons réalisé deux extractions successives (seul le résultat de la première extraction est présenté). Les écarts de rendements entre les deux extractions n'excédaient pas 4%, ce qui indique que le rapport utilisé n'est pas préjudiciable pour l'efficacité de l'extraction.

On peut également constater qu'avec la cuve de 1 cm, dans la plupart des cas, les rendements déterminés par régression linéaire et par régression logarithmique sont proches, excepté pour les séries 7 et 8, (en raison des problèmes de limite de sensibilité dus à la dilution évoqués par ailleurs).

Pour des concentrations de cet ordre (10-25 mg/l), les deux types de cuves utilisées ont permis d'accéder à des rendements similaires, à partir des deux régressions utilisées pour les calculs.

Enfin, on peut remarquer que la répétabilité reste toujours très aléatoire.

Nous présentons, sur la figure 22, les rendements obtenus pour des échantillons dont la concentration en hydrocarbures est d'environ 50 mg/l. Les extraits provenant de ces échantillons donnent lieu à des cumuls d'absorbance en dehors des limites de la gamme d'étalonnage, lorsqu'on réalise les spectres en cuve de 5 cm. C'est pour cette raison que nous ne l'avons plus utilisée.

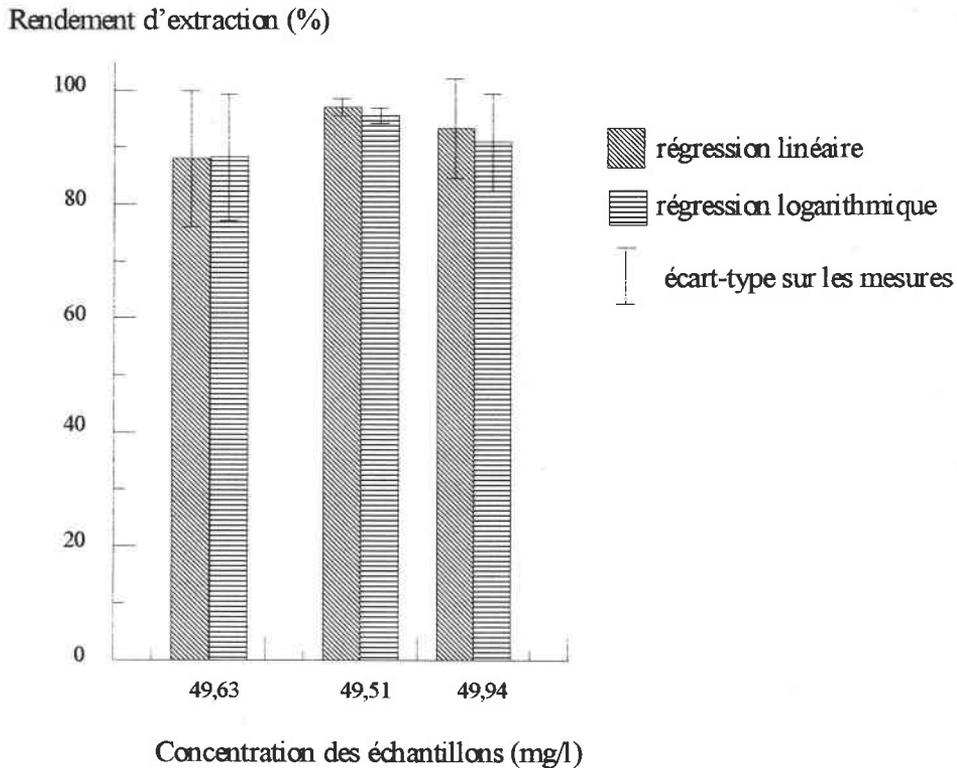


Figure 22 : Rendements d'extraction pour des échantillons de concentration 50 mg/l (cuve de 1 cm, déterminations sur 1 extraction, nombre de détermination  $\geq 4$ )

Ces séries d'échantillons confirment les tendances observées pour les séries précédentes (séries 7 à 9). En effet, les rendements calculés par les deux types de régression sont quasiment équivalents, mais c'est à présent la régression linéaire qui permet d'obtenir les valeurs les plus élevées.

De plus, les rendements sont à présent pratiquement quantitatifs. On peut en déduire que les extraits sont suffisamment concentrés pour que la détection ne soit pas limitée par la

sensibilité. Pourtant, si la répétabilité est très bonne pour la série 11 (49.51 mg/l), elle est toujours relativement faible pour les autres.

Sur la figure 23, sont présentés les rendements obtenus pour des échantillons contenant environ 100 mg/l d'hydrocarbures (séries 13 à 17).

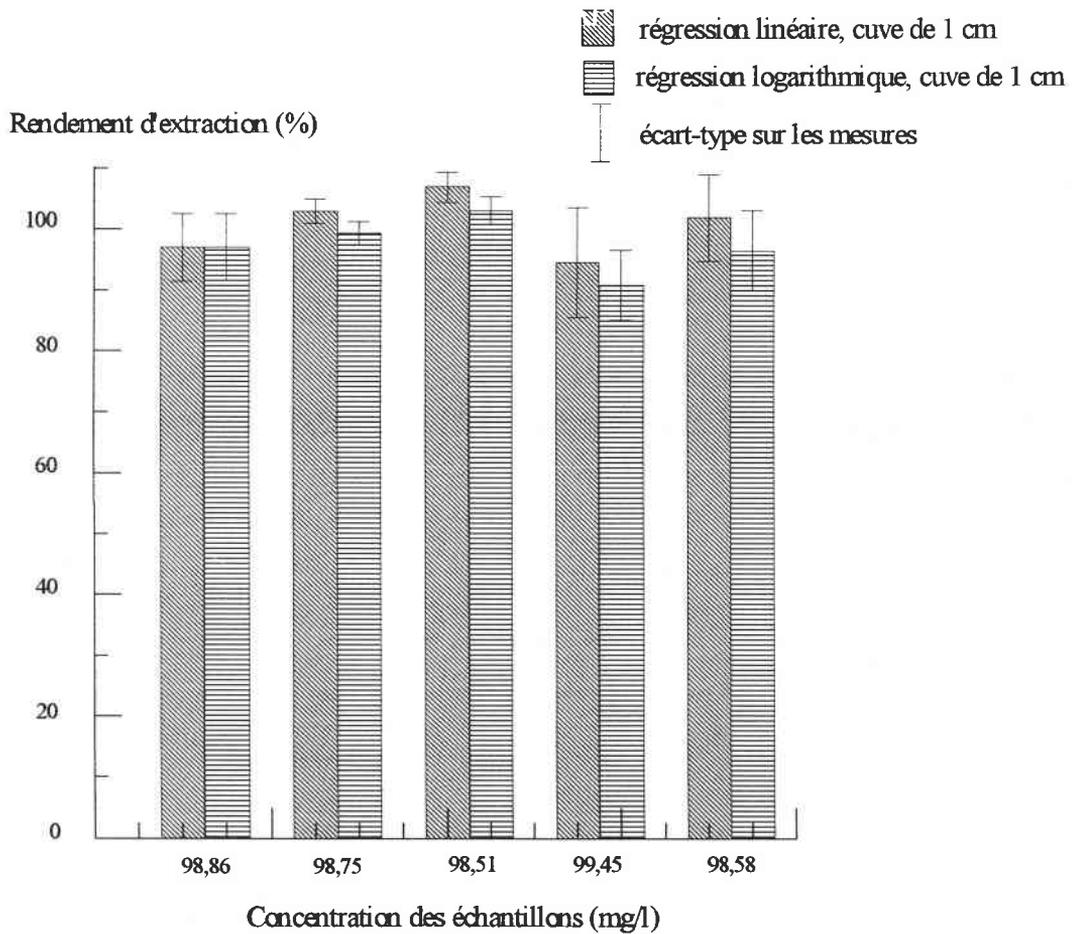


Figure 23 : Rendements d'extraction pour des échantillons de concentration 100 mg/l (déterminations sur 1 extraction, nombre de détermination  $\geq 5$ )

Pour ces séries d'échantillons, les rendements sont très élevés et peuvent être considérés, dans la plupart des cas, comme quantitatifs. La répétabilité est, dans l'ensemble, meilleure que pour les séries précédentes. Les valeurs obtenues par les deux types de régressions sont toujours très proche, mais la légère différence observée pour les séries 10 à 12 est accentuée, en faveur de la régression linéaire.

Pour les séries 16 (99,45 mg/l) et 17 (98,58 mg/l), les spectres des échantillons témoins (sans hydrocarbures) ont montré qu'il y avait de légères interférences. Mais lorsque nous avons soustrait les cumuls d'absorbance de ces témoins à ceux des échantillons, l'écart de rendement était inférieur à 4 %.

Enfin, nous présentons, sur la figure 24, les résultats concernant des séries d'échantillons dont la concentration en hydrocarbures est proche de 200 mg/l. Pour ces échantillons, les tendances observées précédemment sont confirmées : les rendements ont augmenté et sont quantitatifs, et la répétabilité peut-être à présent considérée comme étant bonne.

Les valeurs obtenues par les deux types de régression sont toujours proches même si elles sont légèrement supérieures dans le cas de la régression linéaire.

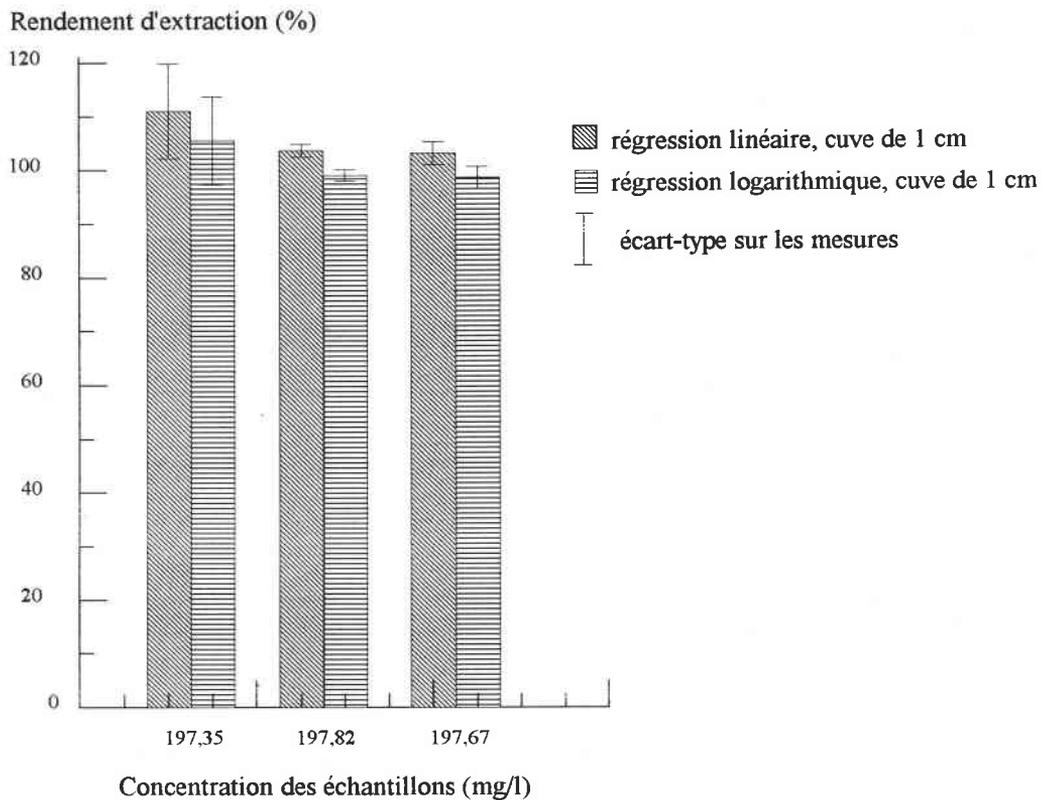


Figure 24 : Rendements d'extraction pour des échantillons de concentration 200 mg/l (déterminations sur 1 extraction, nombre de détermination  $\geq 5$ )

En résumé, si on considère l'ensemble des résultats, il apparaît clairement que les rendements d'extraction que nous avons déterminés augmentent avec la concentration des échantillons et sont quantitatifs pour les concentrations les plus élevées. On peut observer cette tendance quelque soit la régression appliquée pour les calculs (figure 25).

Pour ces fortes concentrations (à partir de 50 mg/l), les deux types de régressions permettent d'obtenir des résultats équivalents. Par contre, pour les échantillons de faible concentration, la régression logarithmique permet d'obtenir des valeurs de rendements nettement plus élevées que la régression linéaire. En effet, les extraits étant dilués, la sensibilité

limite la qualité des déterminations et on obtient des valeurs de cumuls d'absorbances très faibles avec des valeurs de rendement pouvant être négatives (droite de régression linéaire).

Toutefois, la détection n'est sans doute pas la seule cause des faibles rendements déterminés et de la répétabilité variable. L'extraction peut également être moins efficace pour les échantillons de faible concentrations.

En dernier lieu, la répétabilité est très variable mais s'améliore tout de même avec la concentration.

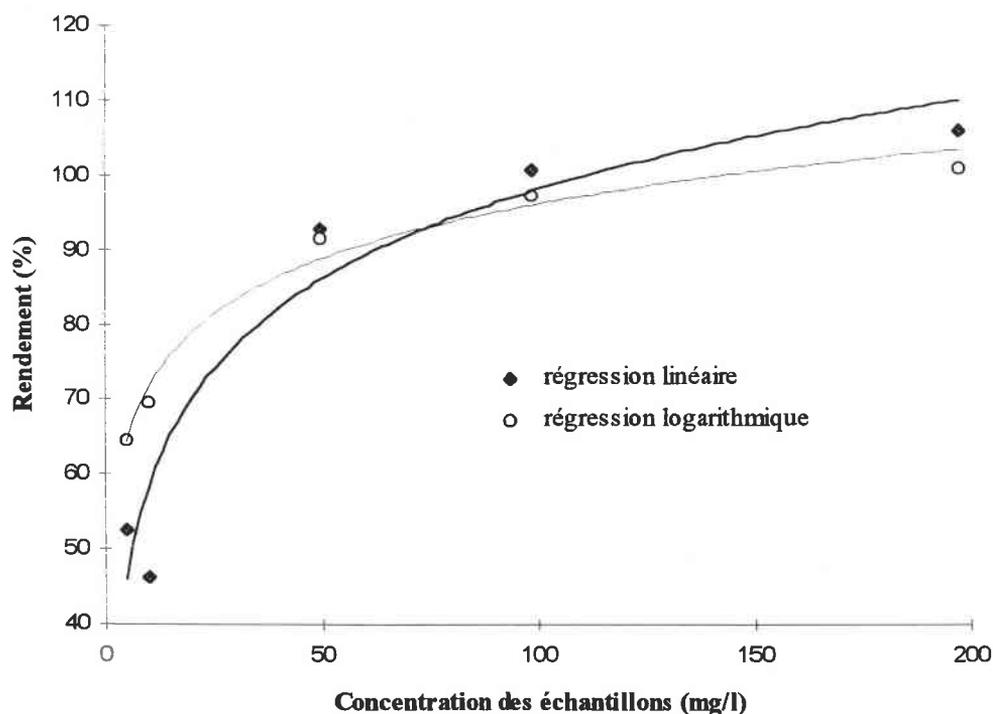


Figure 25 : Influence de la concentration en polluant organique sur le rendement d'extraction

Cette figure illustre l'augmentation du rendement avec la concentration des échantillons et la différence entre les valeurs obtenues en utilisant les deux types de régressions.

### II.2.2.2.3. Rendements d'extraction des hydrocarbures issus des échantillons solides.

#### a) Influence de la concentration.

Nous présentons sur la figure 26 les rendements obtenus pour des échantillons dont la concentration est inférieure à 200 mg/kg.

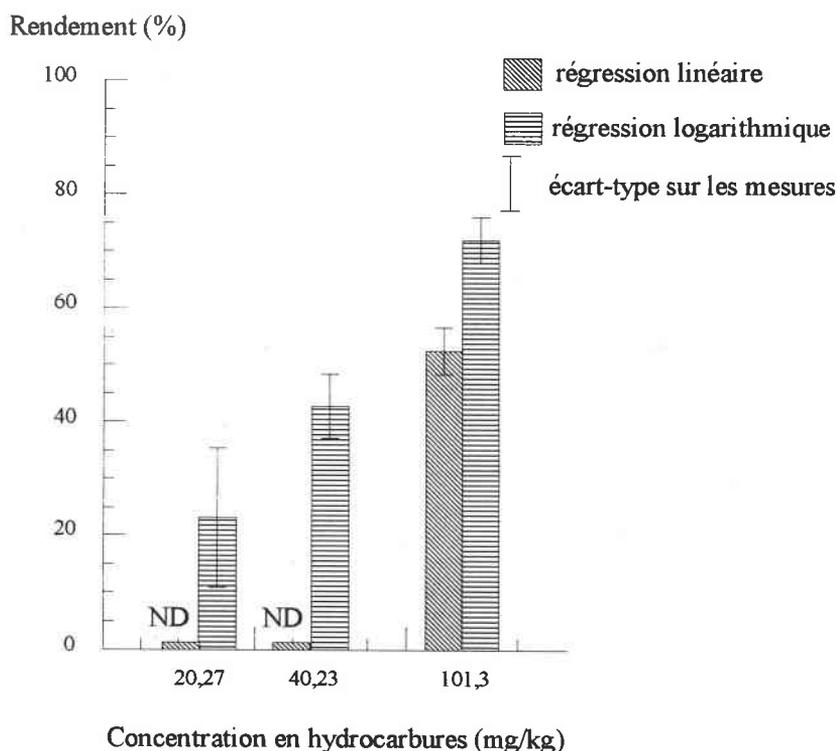


Figure 26 : Rendements obtenus pour des échantillons de concentration inférieure à 200 mg/kg (nombre de détermination = 3; ND : rendement non calculable)

Les masses d'hydrocarbures utilisées pour la surcharge des échantillons de ces séries sont très faibles. Elles donnent lieu, après extraction, à des solutions très diluées, ce qui provoque les problèmes de détection déjà rencontrés dans le cas des échantillons liquides. En

effet, les cumuls d'absorbance sont très faibles et se trouvent même, dans certains cas, en dessous de la limite de la gamme d'étalonnage.

Il n'est alors pas surprenant de retrouver des résultats similaires à ceux obtenus pour les échantillons liquides, à savoir des faibles valeurs de rendements, surtout dans le cas de la régression linéaire.

De même, les rendements et la répétabilité des déterminations augmentent fortement avec la concentration.

La figure 27 présente les résultats obtenus pour des échantillons de concentration voisine de 200 mg/kg.

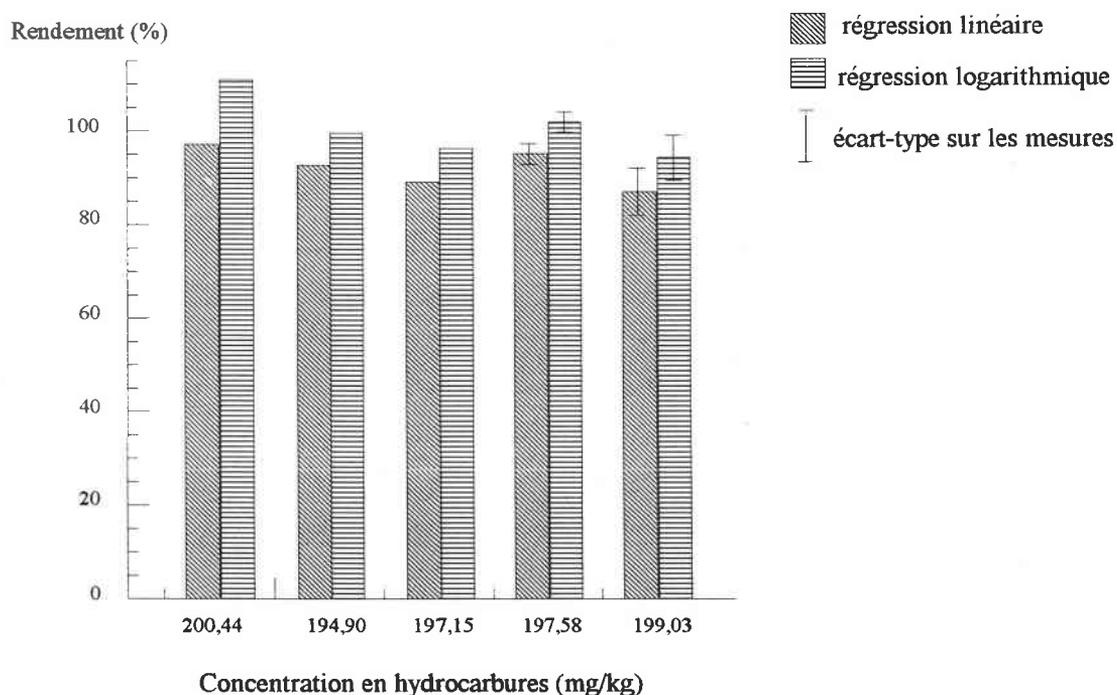


Figure 27 : Rendements obtenus pour des échantillons de concentration proche de 200 mg/kg (nombre de détermination  $\geq 2$ )

Nous n'avons pas déterminé d'écart-type sur les calculs de rendements pour certaines séries, le nombre de répétitions des analyses étant de 2 dans ces cas.

Pour ces séries d'échantillons à 200 mg/kg, on peut constater que les valeurs de rendement sont nettement plus élevées que dans le cas des séries d'échantillons de concentration inférieure à 200 mg/kg. Ils sont dans pratiquement tous les cas quantitatifs et la répétabilité est bonne.

On peut également noter que, par rapport aux séries précédentes, les valeurs de rendement calculées à l'aide de la régression linéaire sont plus proches de celles calculées par régression logarithmique. Une telle tendance avait déjà été observée dans le cas des échantillons liquides : pour les concentrations les plus faibles, la régression logarithmique permet d'obtenir les meilleurs résultats. Lorsque les concentrations augmentent, l'écart entre les résultats obtenus par les deux régressions diminue.

Les valeurs de rendement supérieures à 100 % sont sans doute dues à des problèmes d'évaporation de solvants : les nombreuses manipulations que nécessite le protocole opératoire et les temps de latence entre l'extraction et la détection en IRTF peuvent générer une augmentation de la concentration des extraits par évaporation du solvant.

On ne peut pas attribuer ces surévaluations à des interférences dues aux solvants de surcharge, puisque nous n'en avons pratiquement pas observé et de toute manière leur influence était très peu significative.

En dernier lieu, on peut constater que les échantillons préparés avec le méthanol comme solvant de surcharge (séries à 200,44; 194,9; 197,58 mg/kg) permettent d'obtenir des valeurs de rendement légèrement supérieures à celles obtenues pour les échantillons préparés avec l'acétonitrile. Mais la différence est trop faible pour être considérée comme significative.

Nous indiquons sur la figure 28 les résultats que nous avons obtenus pour des échantillons de concentration 400 mg/kg.

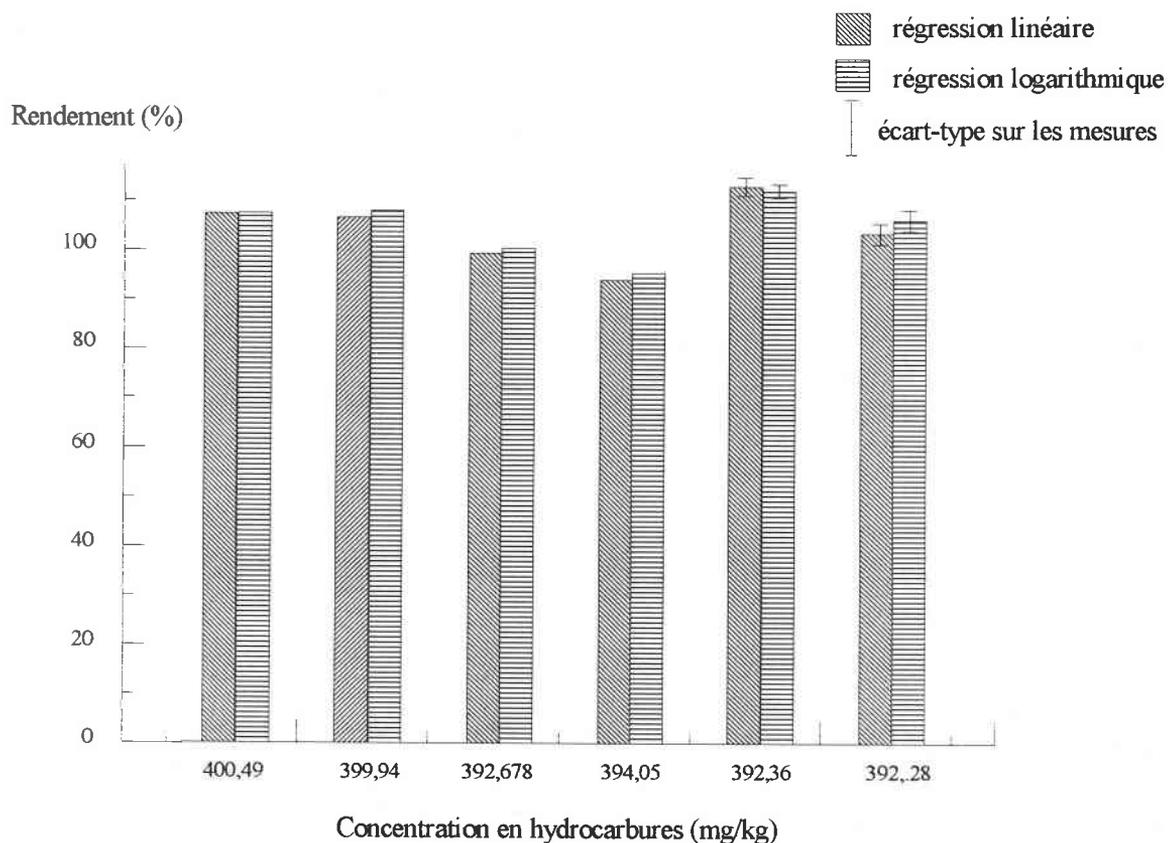


Figure 28 : Rendements d'extraction obtenus pour des échantillons de concentration proche de 400 mg/kg (nombre de détermination  $\geq 2$ )

Ces résultats confirment ceux des séries à 200 mg/kg tant au niveau des rendements que de la répétabilité des analyses.

C'est également le cas pour des échantillons dont la concentration est d'environ 1000 mg/kg (figure 29).

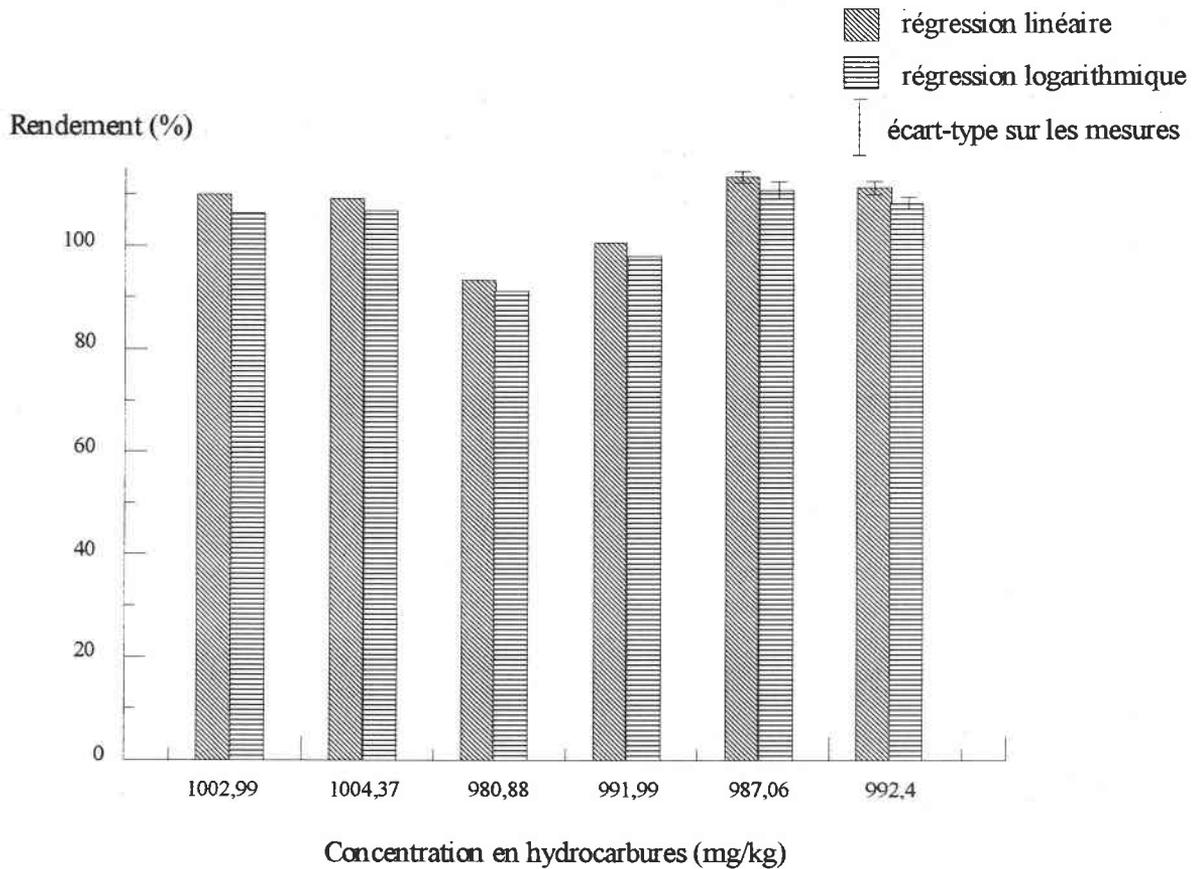


Figure 29 : Rendements d'extractions obtenus pour des échantillons de concentration proche de 1000 mg/kg (nombre de détermination  $\geq 2$ )

L'ensemble des résultats que nous avons obtenus confirment la tendance que nous avons observée pour les échantillons liquides : les rendements augmentent avec la concentration en hydrocarbures dans les échantillons (figure 30), et il en est de même pour la répétabilité de ces résultats.

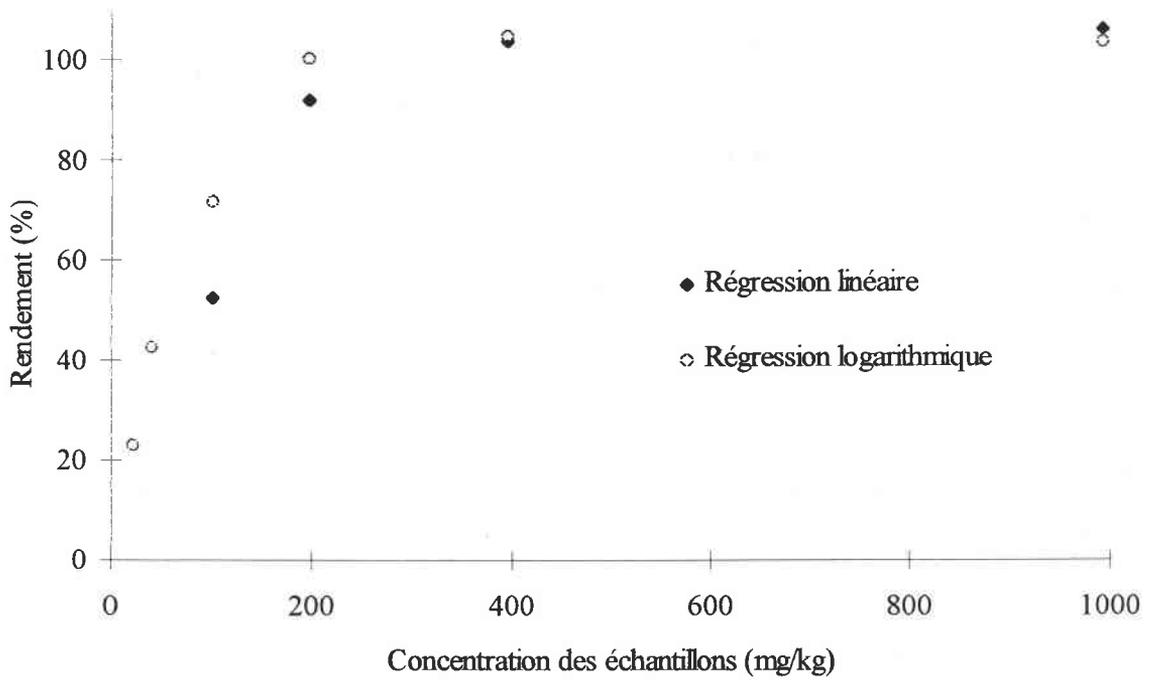


Figure 30 : Influence de la concentration des échantillons sur les rendements d'extraction.

**b) Influence de l'humidité des échantillons.**

Les figures 31 et 32 représentent les résultats obtenus respectivement pour des échantillons humidifiés avant et après surcharge par les hydrocarbures.

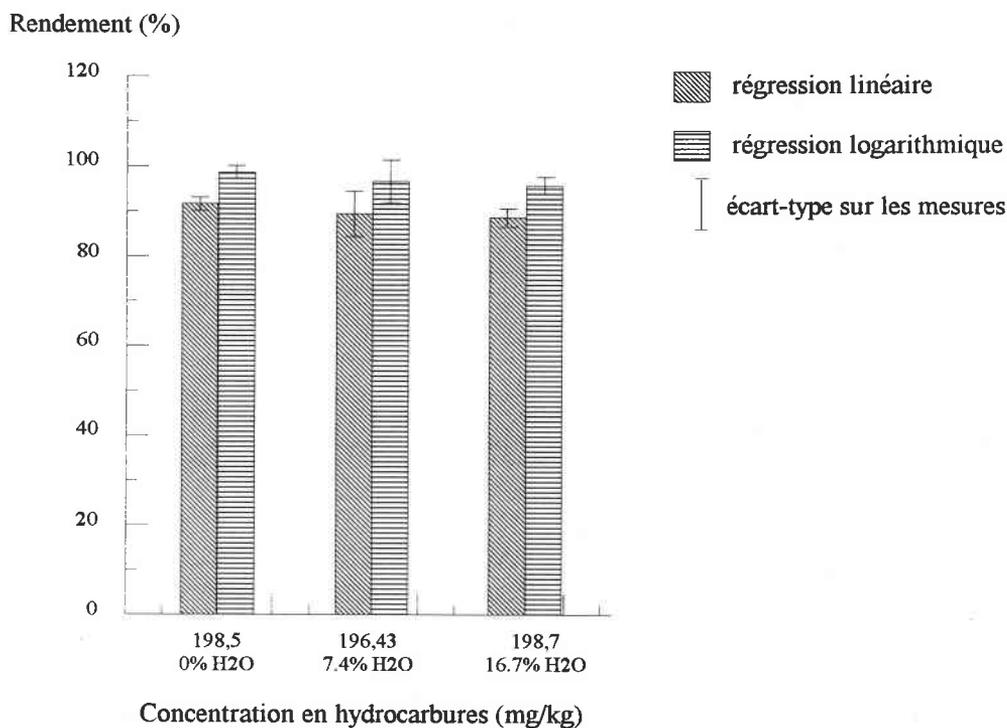


Figure 31 : Rendements obtenus pour des échantillons humidifiés avant la surcharge (nombre de détermination =3)

Lorsque les échantillons sont humidifiés avant la surcharge, on peut considérer qu'il n'y a aucune influence sur les rendements d'extraction qui sont similaires à ceux obtenus pour les échantillons secs. Cette observation est en contradiction avec les observations faites par Hawthorne et col. (1992) dans le cadre de l'extraction supercritique de HAP dans des déchets issus de la transformation du pétrole. Selon ces auteurs, l'eau gêne l'extraction des composés apolaires par recouvrement de la surface de la matrice agissant ainsi comme une barrière à la pénétration du solvant.

Dans notre cas, on peut penser qu'elle couvre effectivement la surface de la matrice, empêche le piégeage des hydrocarbures dans les pores ou par adsorption et les rend facilement accessibles à l'extraction.

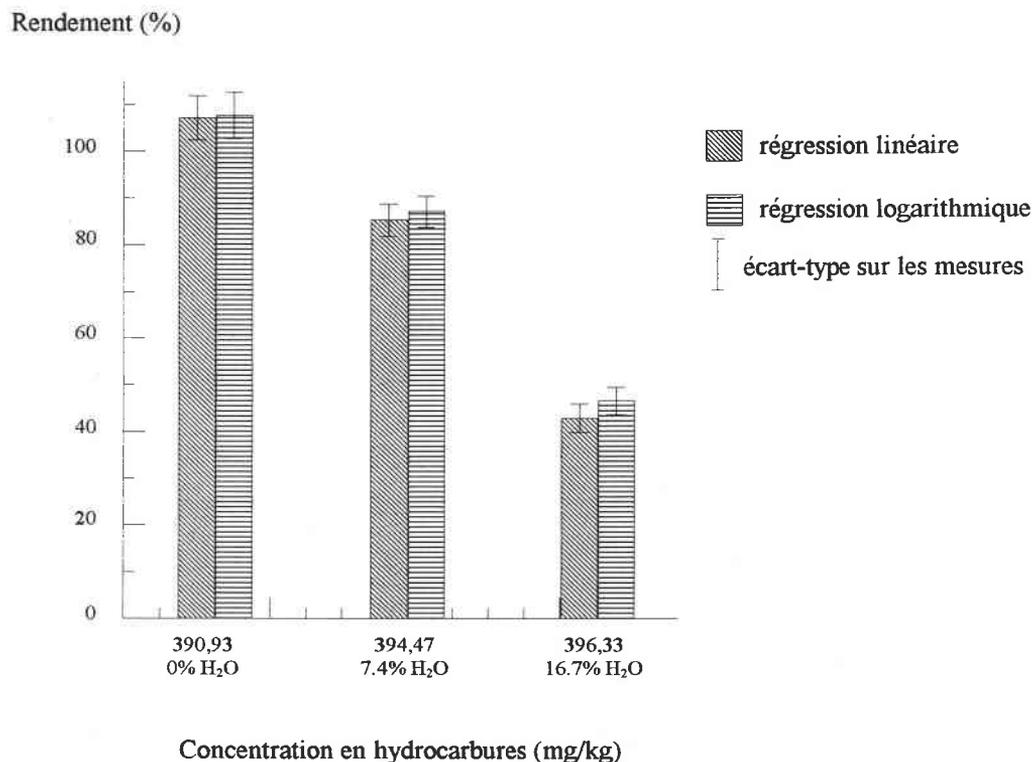


Figure 32 : Rendements obtenus pour des échantillons humidifiés après la surcharge (nombre de détermination =3)

Contrairement aux séries précédentes, l'augmentation du taux d'humidité des échantillons a un effet évident sur l'extraction : le rendement est diminué de plus de moitié lorsque le taux d'humidité passe de 0 % à 16,7 %.

Ces résultats sont en accord avec l'hypothèse de Hawthorne et al. évoquée ci-dessus. L'eau étant ajoutée après la surcharge, elle peut jouer son rôle de barrière pour le solvant d'extraction.

Dans le cas d'échantillons réels, l'humidification de la matrice a généralement lieu avant et après la contamination, ce qui doit conduire à une sous-estimation de la quantité d'hydrocarbures dans ces échantillons. Ce problème est généralement surmonté par l'ajout préalable de sulfate de sodium.

#### II.2.2.2.4. Conclusion.

L'étude que nous avons menée concerne l'utilisation d'un protocole d'analyse par extraction liquide-liquide ou liquide-solide couplée à la détection par IRTF. Il est proche de celui que recommande l'AFNOR pour l'extraction des hydrocarbures totaux dans des échantillons liquides. Or selon cet organisme, la méthode permet de doser les hydrocarbures jusqu'à 0,5 mg/l. Nous avons ainsi montré que la méthode est peu efficace pour des faibles concentrations (moins de 50 mg/l pour les échantillons liquides et moins de 200 mg/kg pour les échantillons solides en raison des limites imposées par la détection mais probablement en raison également de l'efficacité de l'extraction.

De plus l'IRFT a un désavantage important : cette méthode restreint le choix des solvants, le  $\text{CCl}_4$  ou le fréon, qui présentent un danger pour l'environnement et dont l'utilisation tend à être proscrite.

#### II.2.2.3. Rendements d'extraction par la méthode Soxtec.

Nous rappelons que nous avons fait varier les conditions d'extraction (temps d'immersion de 5, 10 et 15 min, temps de rinçage de 10, 15 et 20 min).

Nous présentons sur la figure 33 les rendements que nous avons obtenus en fonction des conditions opératoires que nous avons utilisées.

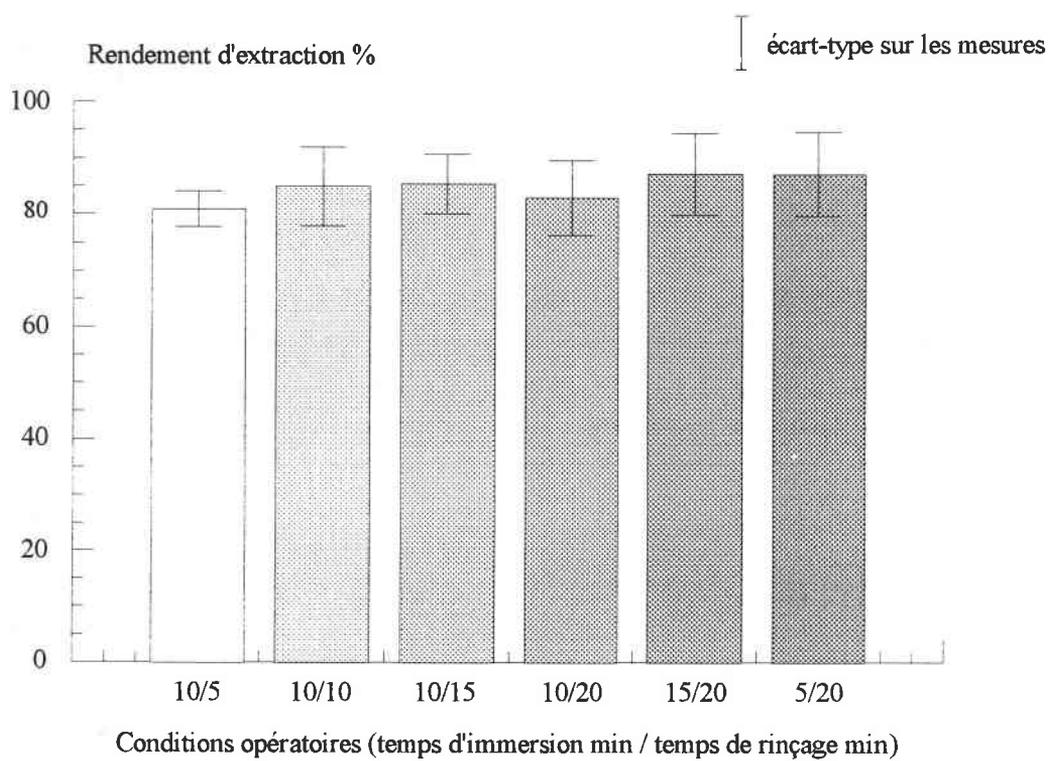


Figure 33 : Influence des conditions d'extraction au Soxtec.  
(nombre d'extraction  $\geq 5$ )

Les résultats montrent que les rendements d'extraction peuvent être considérés comme élevés, étant donné que toutes les valeurs sont supérieures à 80%. D'autre part, les meilleurs rendements sont obtenus, en général, pour les temps d'immersion et de lavage les plus élevés. C'est d'ailleurs le temps de lavage qui semble avoir la plus grande influence, puisqu'à temps d'immersion fixe, le rendement augmente avec le temps de lavage, dans la plupart des cas. Par contre, les expériences réalisées avec un temps de lavage fixe (20min), ne permettent pas d'augmenter le rendement en allongeant la durée de l'immersion.

Ces observations sont conformes à celles qu'on faites **Membrado et col. (1996)** dans le cas d'extraction au Soxtec de produit de conversion de charbons.

Ces résultats ne permettent pourtant pas de privilégier un processus d'extraction par rapport aux autres, étant donné que l'augmentation du temps global d'extraction, et en particulier celle du temps de lavage, semble avoir pour conséquence une baisse de la répétabilité. A ce sujet, on peut remarquer que toutes les valeurs de répétabilité obtenues sont relativement moyennes.

Cela peut s'expliquer par des pertes de composés volatils durant le processus. Ces pertes peuvent avoir lieu à trois étapes :

- L'étape de préparation durant laquelle l'échantillon surchargé est abandonné quelques minutes à l'air libre pour permettre au solvant de surcharge de s'évaporer. En même temps, une évaporation des fractions les plus volatiles de HC1 a pu se produire, et la concentration en hydrocarbures de l'échantillon est alors surestimée. Cela souligne la nécessité d'utiliser des échantillons standards certifiés de sols contaminés au lieu d'échantillons surchargés.

- L'étape concernant le processus d'extraction en lui-même. En effet, l'échantillon peut être soumis à une température élevée, condition nécessaire pour amener le solvant d'extraction à son point d'ébullition. Les volatils qui s'évaporent durant cette étape devraient être recondensés avec le solvant. Or celui-ci est récupéré pur, ce qui indique que la perte de volatils est peu probable à ce stade.

- L'étape de séchage de l'extrait sous le flux d'azote. Ce flux d'azote peut entraîner également les composés les plus volatils. Cette étape est donc cruciale et peut constituer un facteur limitant pour l'évaluation des performances de la méthode Soxtec.

En conclusion, notre étude montre que l'extraction au Soxtec de gasoil, à partir d'échantillons solides, peut être considérée comme performante puisque les rendements déterminés sont supérieurs à 80%. Mais ils ont été obtenus pour des échantillons dont la concentration en gasoil est élevée et leur détermination a été réalisée par gravimétrie. Ce type de mesure peut se révéler problématique pour des échantillons de faible concentration, en raison des limites de sensibilité des balances couramment utilisées en laboratoire (0,1 mg). De

plus, comme il est nécessaire d'éliminer le solvant par séchage sous azote, il est difficile de déterminer si la perte de masse des extraits est due uniquement à l'évaporation du solvant ou également à la perte des composés les plus volatils. C'est sans doute la raison pour laquelle la répétabilité des extractions n'est que moyenne.

Ces inconvénients pourraient être résolus par un autre type de détermination, permettant d'éviter une perte des composés les plus volatils. Une de ces alternatives est la chromatographie en phase gazeuse. L'extrait pourrait être analysé sans séchage préalable. Seule une concentration de l'échantillon par élimination d'une partie du solvant serait alors nécessaire, ce qui permettrait de limiter les pertes de composés volatils. Une autre possibilité intéressante concerne l'utilisation de la Chromatographie sur Couche Mince couplée à la détection UV/visible ou en fluorescence qui fait l'objet du chapitre suivant.

### **II.3. ANALYSE D'HYDROCARBURES D'ORIGINE PETROLIERE PAR CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE COUPLEE A UN DENSITOMETRE UV/FLUORESCENCE.**

#### **II.3.1. Introduction.**

Nous avons évoqué précédemment les inconvénients liés à la spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier pour la détection des hydrocarbures obtenus par extraction liquide-liquide et liquide solide d'échantillons aqueux et solides contaminés :

- manque de sensibilité
- emploi de solvants chlorés et/ou fluorés, toxiques et dangereux en terme d'environnement, qui seront frappés d'interdiction d'utilisation à court terme.

Pour ces raisons, nous avons étudié la possibilité de la remplacer par une méthode combinant une séparation par Chromatographie sur Couche Mince (CCM) couplée à une détection UV et par fluorescence (CCM-UV/FLUO), dont les nombreux avantages ont été décrits dans la partie bibliographique.

L'étude que nous avons réalisée concerne la fiabilité de cette technique par rapport aux objectifs suivants :

- séparation des mélanges d'hydrocarbures pétroliers en fractions correspondant à des familles (ou des groupes) de composés chimiques différents : alcanes (ou paraffines), composés aromatiques et polyaromatiques (en général de 1 à 4 noyaux aromatiques), composés polaires et composés non élués, plus complexes et impossibles à classer dans des familles chimiques bien définies.
- détection et dosage massique de ces familles.

La quantification précise et fiable des différentes fractions est la difficulté essentielle à surmonter. En effet, leur détection dépend de la nature des groupes chromophores présents dans ces fractions. De plus, l'absence d'absorption importante au-dessus de 200 nm pour les composés paraffiniques les rend indétectables par cette technique dans les conditions habituelles d'utilisation.

Ainsi, il est connu depuis longtemps que la luminescence d'une grande variété de composés adsorbés sur des plaques de CCM peut être exaltée de façon importante en vaporisant ou en imprégnant certains solvants organiques sur ces plaques (Baeyens, W.R.G., 1985; Fenske, M., 1995; Kartnig et col. 1996). A ce sujet, l'augmentation de fluorescence et de phosphorescence causée par les paraffines a donné lieu à de nombreux travaux (Miller et col., 1978; Uchiyama et col., 1978). Par exemple, le n-hexane permet d'augmenter la phosphorescence lors de la détection de certains narcotiques (alcaloïdes) en CCM (Miller et col., 1978; Frijns, J.M.G.J., 1971; Bos et col., 1972).

Au cours de la détection de la fluorescence en CCM, l'augmentation de la réponse de certains alcaloïdes, d'hydrocarbures polyaromatiques et d'autres molécules, a été obtenue sur des plaques couvertes de silice, d'alumine et de complexes par transfert de charge (Uchiyama et col., 1978; Frijns, J.M.G.J., 1971; Bos et col., 1972; Alak et col., 1984; Funk et col., 1989; Ho et col., 1983).

En général, cette augmentation a été obtenue après immersion de la plaque développée et séchée dans une solution de dodécane ou d'autres paraffines en solution dans l'hexane ou dans l'éther.

Poole (1987) a également observé que pour des quantités de HPA équivalentes, la réponse en fluorescence est sensiblement supérieure sur une plaque de silice greffée  $C_{18}$  que sur une plaque de silice normale.

Les paraffines ne sont pas les seuls agents utilisés pour l'augmentation de la fluorescence. En effet, des sels de berbérine ont également été utilisés pour la détection d'alcane (Mamlock, L., J., 1981; Huc et col., 1981, Marsh et col., 1991). Dans ce cas, les plaques de CCM peuvent être aspergées ou imprégnées par cet agent, avant ou après leur

développement, étant donné que les sels de berbérine ne sont pas élués par la plupart des solvants utilisés habituellement en CCM.

Selon **Poole (1987)**, l'augmentation de luminescence dépend, d'un certain nombre de facteurs :

- la nature des échantillons utilisés.
- les caractéristiques de la couche d'adsorbant.
- la nature de l'agent et la concentration permettant l'exaltation de fluorescence.
- le temps s'écoulant entre l'imprégnation de la plaque et la détection.

Cet auteur a évoqué la possibilité d'interactions entre l'adsorbant et le composé adsorbé, ou entre l'adsorbant et l'activateur de fluorescence.

D'autre part, cette exaltation de fluorescence n'est pas un phénomène exclusivement observé en CCM, mais il a également lieu en solution (**Uchiyama et Uchiyama 1978**).

A notre connaissance, aucune explication n'a été proposée au sujet des mécanismes moléculaires. Selon certains travaux (**Uchiyama et Uchiyama 1978; Uchiyama et Uchiyama 1980**), l'exaltation de fluorescence n'est pas liée à la transmission de la lumière à travers la couche mais plutôt aux propriétés de l'agent utilisé (polarité, viscosité et acidité).

Notre travail concerne l'application de la CCM couplée à la détection UV/Fluorescence, pour l'analyse compositionnelle de dérivés pétroliers.

A côté de la détection UV appliquée aux aromatiques, nous avons utilisé les phénomènes d'exaltation de fluorescence pour la détection et l'analyse quantitative des saturés au moyen de sels de berbérine (figure 34).

**Huc et Roucaché (1981)** ont utilisé cet alcaloïde comme révélateur des composés paraffiniques. En analysant des bitumes par CCM, ils ont pu détecter la fraction d'hydrocarbures saturés, après avoir préalablement vaporisé une solution de berbérine sur la plaque.

**Mamlock** (1981) rappelle que si l'utilisation de cet alcaloïde a été une pratique courante dans les années 60, et proposée dès 1947 par **Brockmann et Volpers** dans le cas de la chromatographie classique sur colonne ouverte, elle n'est plus évoquée dans la bibliographie jusqu'en 1981 où **Mamlock** (1981) a montré qu'une plaque imprégnée de berbérine est sensible à la fluorescence, pour la majorité des composés saturés, à 254 nm et plus nettement à 365 nm. Plus récemment, **Marsch et Hlekane** (1991) ont effectué l'analyse de bitumes en reprenant cette technique. Ils ont réalisé la détection des taches à l'aide d'un densitomètre, en mode UV pour les fractions aromatiques, polaires et non éluées, et en mode fluorescence pour la fraction saturée, la quantification étant obtenue à partir d'un étalonnage de chacune des fractions.

Aucun de ces auteurs ne s'est intéressé plus précisément à l'influence des différents paramètres analytiques, ni à la possibilité d'appliquer les propriétés de la berbérine à d'autres types d'échantillons.

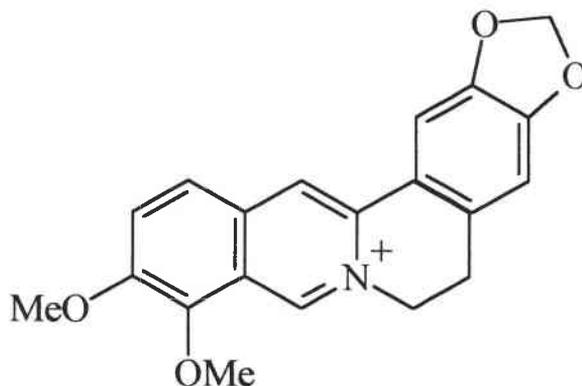


Figure 34 : Structure de la berbérine (forme cationique).

### II.3.2. Matériels et méthodes.

#### II.3.2.1. Echantillons utilisés.

Au cours de cette étude, nous avons utilisé des échantillons de différentes natures :

- des alcanes purs : n-C<sub>12</sub>, n-C<sub>16</sub>, n-C<sub>18</sub>, n-C<sub>24</sub> et n-C<sub>30</sub> (Fluka, Bâle, Suisse; Ultrascientific, North Kingston, R.I., USA).
- un gasoil sans additifs (appelé gasoil 1 pour cause de confidentialité).
- un gasoil (gasoil 2), un fuel de vis-breaking (VB, ce fuel est la base des carburants utilisés pour les bateaux), un lubrifiant synthétique, une huile lourde et des huiles légères (LCO VI et LCOVII). Tous ces produits nous ont été fournis par la compagnie pétrolière CEPSA (Madrid, Espagne).

Les données analytiques concernant les produits pétroliers figurent dans le tableau XXIV.

TABLEAU XXIV : Composition massique des produits utilisés.

Composé	% Saturés	% Aromatiques	% Polaires ou autres
Gasoil 1*	63,24	27,09	9,67
VB	12,1	63,4	24,5
LCO VI	45,94	54,06	—
LCO VII	33,45	66,55	—
Gasoil 2	70,8	29,2	—
Lubrifiant**	56,8	43,2	—
Huile lourde	36,18	51,88	11,94

\* : composition volumique.

\*\* : mélange de fraction aromatique et saturée issues provenant d'un lubrifiant.

Ces produits ont été choisis en raison de leur compositions variables.

Dans le cas du gasoil 1, l'analyse compositionnelle a été réalisée par le fournisseur, par spectrométrie de masse.

Les huiles légères et le gasoil 2 ont été analysés par CEPSA, par HPLC couplée au détecteur à indice de réfraction, selon une méthode standard IP391 (Institute of Petroleum, London 1992).

Le fuel de vis-breaking a été analysé par CEPSA par CCM-FID (Iatroscan). Cette détermination est décrite par ailleurs (Vela et col. 1995).

L'huile lourde a été analysée en CCM-FID par J. Vela (Vela et col. 1995)

Le lubrifiant synthétique a été préparé à partir de mélanges en proportions connues des principales fractions (saturés et aromatiques) d'un lubrifiant CEPSA. Ces fractions ont été isolées par la compagnie pétrolière à partir d'une séparation en chromatographie liquide selon la norme standard ASTM D2007 (American Society for Testing of Materials 1989).

### II.3.2.2. La séparation par Chromatographie sur Couche Mince.

La séparation des échantillons a nécessité le matériel et les réactifs suivants :

- plaques d'aluminium (20 x 20 cm) recouvertes d'une couche de 0.2 mm de silice (taille de particules 5-25  $\mu\text{m}$ , taille de pores 60Å) ou de 2 mm dans le cas des plaques préparatives.
- n hexane  $\text{C}_6\text{H}_{12}$  (de pureté analytique > 99,5%).
- toluène  $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_3$  (de pureté analytique > 99,5%).
- dichlorométhane  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (de pureté analytique > 99,5%).
- méthanol  $\text{CH}_3\text{OH}$  (de pureté analytique > 99,5%).
- sulfate de berbérine.

- applicateur d'échantillons automatique SES 3202/IS-02.

Les plaques et les solvants ont été fournis par la société Panréac (Barcelone, Espagne) et la berbérine par la société Across Chimica (Geel, Belgique).

Les plaques sont imprégnées par immersion dans une solution méthanolique de sulfate de berbérine, puis sont séchées dans une étuve, à 40°C durant une nuit.

Les échantillons (des solutions d'hydrocarbures dans le dichlorométhane) sont appliqués (au minimum deux dépôts pour chaque échantillon) à l'aide d'une micropipette (dépôt manuel) ou d'un applicateur automatique SES 3202/IS-02 (SES Allemagne), les volumes de dépôt variant de 0,4 à 1 µl.

La séparation des fractions est réalisée par élution séquentielle avec les différents solvants dans des cuves de développement vertical en verre. Les fractions des composés saturés et des composés aromatiques sont éluées respectivement par l'hexane et le toluène. Les autres fractions, minoritaires, ne sont pas éluées (si cela devient nécessaire, on utilise le dichlorométhane). Les séquences habituelles d'élution sont les suivantes :

- n-hexane (9 min) puis dichlorométhane (4 min30) pour les gasoils et le lubrifiant.
- n-hexane (30 min), toluène (8 min), dichlorométhane (3 min) pour le fuel de vis-breaking.

Le solvant est évaporé à température ambiante dans le cas de l'hexane et à 100°C dans une étuve pour le toluène.

Lorsque les temps d'élution sont courts, le front des solvants n'atteignant pas la moitié de la plaque, les échantillons peuvent être appliqués aux deux extrémités de la plaque. Dans un premier temps, une série d'échantillons est appliquée à l'une des extrémités, ils subissent la séparation par élution séquentielle puis les fractions sont détectées. On peut alors appliquer une nouvelle série à l'autre extrémité et réaliser les mêmes opérations.

### II.3.2.3 Détection des fractions par densitométrie UV/Fluorescence.

Après le développement, la détection des fractions est réalisée à l'aide d'un densitomètre conçu pour la CCM, le CS9301 (Shimadzu, Japon), fonctionnant en mode UV ou fluorescence. Il est piloté par un logiciel (CS9301) qui permet la sélection des paramètres opératoires, l'acquisition, le stockage et le traitement des données.

Le faisceau est émis par une lampe au deutérium en mode UV, et par une lampe au xénon en mode fluorescence. Dans ce cas, il est possible d'utiliser des filtres, permettant de sélectionner la plage de longueurs d'onde des radiations lumineuses qui sont collectées au niveau du détecteur de fluorescence, et différents niveaux de sensibilité (faible, moyenne, haute) pour les mesures. Le balayage de la plaque par le faisceau peut être rectiligne, dans l'axe du développement des échantillons ou en "zigzag", c'est à dire suivant deux directions simultanément (figure 35), pour le mode UV. Pour le mode fluorescence, seul le balayage rectiligne est possible. La largeur du faisceau peut être modulée, de même que l'amplitude du balayage en "zigzag".

L'appareil fonctionne sur une plage de longueurs d'onde s'étendant de 200 à 700 nm.

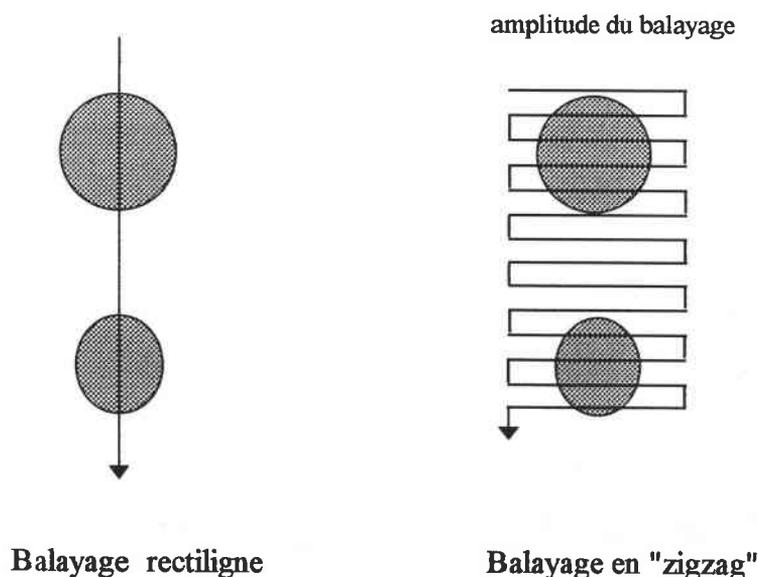


Figure 35 : Modes de balayages utilisés pour la détection des fractions.

Le tableau XXV indique les conditions opératoires les plus fréquemment utilisées.

TABLEAU XXV : Conditions de balayage appliquées pour l'obtention des chromatogrammes.

Mode UV	Mode fluorescence
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Longueur d'onde : 250 nm</li> <li>- Taille de faisceau : 0,4 x 0,4 mm</li> <li>- mode de balayage : zigzag</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Longueur d'onde : 365 nm</li> <li>- Taille de faisceau : 1 x 1 mm</li> <li>- Filtre : n°3 (zone du visible)</li> <li>- Sensibilité : moyenne</li> </ul>

La position (sous forme de coordonnées x et y) sur la plaque des fractions séparées est déterminée en utilisant un balayage bidimensionnel en mode UV (une des possibilités offertes par l'appareillage) ou par balayage conventionnel mais suivant un axe perpendiculaire à la direction de développement des échantillons, à la hauteur des points d'application.

Après avoir acquis les données fournies par le densitomètre, le logiciel affiche les chromatogrammes et permet entre autre de déterminer l'aire des pics correspondants aux différentes fractions. Il utilise des équations de Kubelka et Munk (1931) pour linéariser la réponse aire/masse.

#### II.3.2.4 Chromatographie sur Couche Mince préparative.

La détermination quantitative des différentes fractions composant les dérivés pétroliers a été réalisée grâce à un étalonnage externe du détecteur, à l'aide de ces fractions. Leur isolement a été réalisé par CCM préparative, à l'aide de plaques en verre recouvertes de silice (taille de particules 5-25  $\mu\text{m}$ , taille de pores 60Å, épaisseur de la couche de silice 2 mm, taille de la plaque 20 x 20 cm).

Après l'application des échantillons, une première élution est réalisée à l'aide de n-hexane, le front de solvant parcourant la totalité de la plaque. La limite entre les zones occupées par les fractions de saturés et d'aromatiques est déterminée à la fois en fluorescence (si la plaque est imprégnée de berbérine) et en UV. Lorsque cette limite est repérée, le protocole est répété de manière identique sur une plaque non imprégnée. Après le développement, la couche de silice occupée par les fractions à isoler est récupérée.

Les fractions sont alors extraites de la silice à l'aide du Soxtec, dans des conditions douces et en utilisant le dichlorométhane comme solvant. Ce solvant est évaporé et l'extrait est séché, sous azote, à masse constante.

La pureté des fractions séparées est vérifiée en fluorescence et en UV. Si une fraction isolée n'est pas pure, elle est soumise à une nouvelle séparation préparative par réinjection sur une plaque.

#### II.3.2.5. Etude de la réponse en fluorescence du détecteur en fonction de la nature des alcanes et de la masse injectée.

Pour étudier la réponse du détecteur en fluorescence, nous avons appliqué sur une plaque (imprégnée par immersion dans une solution méthanolique de berbérine à 2 mg/ 100 ml) différentes quantités d'alcanes purs (n-C<sub>12</sub>, n-C<sub>16</sub>, n-C<sub>18</sub>, n-C<sub>24</sub>, n-C<sub>30</sub>) et de fractions saturées. Ces fractions sont celles du Gasoil 1 et du lubrifiant.

#### II.3.2.6. Influence des conditions opératoires.

Nous avons étudié l'influence de paramètres pouvant influencer sur la qualité de la réponse du détecteur et sur la répétabilité des analyses. Il s'agit de la méthode de dépôt des échantillons, de la taille du faisceau de balayage lors de la détection en mode fluorescence ainsi que des conditions d'imprégnation des plaques par la berbérine.

### a) Méthodes de dépôt des échantillons.

Le moyen le plus commun de déposer les échantillons sur la plaque a longtemps été la micropipette. Mais, à présent, des injecteurs automatiques sont disponibles, avec l'avantage de garantir une vitesse de dépôt constante, paramètre responsable de la diffusion de l'échantillon sur la plaque.

Nous avons étudié la répétabilité des mesures en injectant les échantillons avec une micropipette et avec l'applicateur automatique.

Avec la micropipette, nous avons effectué 5 injections de chaque échantillon (40  $\mu\text{g}$ ) et nous avons mesuré l'aire des pics correspondant aux différentes fractions séparées (en fluorescence pour la fraction saturée et en UV pour les fractions aromatiques et les polaires). Les plaques utilisées ont été imprégnées par immersion dans une solution contenant 8 mg de berbérine /200 ml de méthanol).

Les échantillons injectés sont le gasoil 1, le fuel de vis-breaking, les huiles légères LCO VI et LCO VII.

En ce qui concerne l'utilisation de l'applicateur automatique, nous avons effectué, sur deux plaques (imprégnée 20 secondes avec une solution contenant 8 mg de berbérine / 200 ml de méthanol), trois injections de différentes masses (10, 20, 60, 80 et 100  $\mu\text{g}$ ) de la fraction saturée pure du gasoil 1 et nous avons mesuré l'aire des pics obtenus en fluorescence. Nous avons également renouvelé l'opération en injectant, sur deux plaques, différentes masses (10, 20, 30, 40, 60 et 80  $\mu\text{g}$  d'une part et 20, 40, 60, 80, 100, et 120  $\mu\text{g}$  d'autre part) de la fraction aromatique pure de ce gasoil, les mesures d'aire ayant été faites en UV. Dans ce cas, les plaques n'étaient pas imprégnées par la berbérine.

**b) Taille du faisceau de balayage lors de la détection en fluorescence.**

Nous avons étudié l'influence de la taille du faisceau de balayage sur la réponse en fluorescence des composés saturés. Les tailles de faisceau que nous avons utilisées sont les suivantes (hauteur x largeur) :

- A : 1 x 1 mm
- B : 1 x 2 mm
- C : 0,4 x 5 mm
- D : 1 x 5 mm
- E : 0,4 x 10 mm
- F : 1 x 10 mm

Pour cette étude, nous avons injecté différentes masses (10, 25, 35 et 50  $\mu\text{g}$ ) de la fraction saturée pure du gasoil 2 sur une plaque imprégnée de berbérine.

Nous rappelons, à titre comparatif, que la taille du faisceau est moins déterminante en UV, dans la mesure où le balayage est effectué en "zig-zag" et permet de couvrir toute la surface des taches.

**c) Conditions d'imprégnation.**

Etant donné que nous utilisons la réponse en fluorescence de la berbérine pour détecter les hydrocarbures saturés, la quantité de berbérine imprégnant la silice va directement influencer cette réponse. Cette quantité dépend de la concentration de la solution méthanolique de berbérine dans laquelle la plaque est immergée, et de la durée de cette immersion.

Pour étudier l'influence de l'imprégnation sur la réponse du détecteur nous avons utilisé trois concentrations pour les solutions de berbérine et deux temps d'imprégnation. L'échantillon analysé est la fraction saturée du gasoil 1 pure.

Les conditions d'imprégnation des plaques sont indiquées dans le tableau XXVI.

TABLEAU XXVI : Conditions d'imprégnation des plaques par la berbérine.

Expérience N°	Concentration de la berbérine ( mg/l )	Temps d'imprégnation ( s )
A	20	20
B	20	50
C	40	20
D	60	20
E	40	50

#### II.3.2.7. Etalonnage du détecteur.

L'étalonnage du détecteur est indispensable lorsqu'on a pour objectif la connaissance de la concentration en masse d'hydrocarbures d'un échantillon inconnu. Si nous parvenons à déterminer la composition centésimale pondérale en fractions (saturés, aromatiques et polaires) d'un mélange d'hydrocarbures, il suffit alors de connaître la concentration en masse de l'une de ces fractions dans un échantillon contenant une quantité inconnue de mélange pour accéder à cette quantité.

Etant donné l'influence de l'imprégnation sur la réponse, nous avons utilisé, pour réaliser l'étalonnage, les conditions d'imprégnation nous permettant d'utiliser un large intervalle de masses d'hydrocarbures avec une bonne répétabilité, soit une solution méthanolique de berbérine à 20 mg/l avec un temps d'imprégnation de 20 s.

Nous avons utilisé deux méthodes d'étalonnages :

- la première, que nous appelons étalonnage direct est réalisée à partir du gasoil 1 sans isolement préalable des fractions. Les aires des pics correspondants aux fractions saturées et aromatiques sont mesurées pour chaque masse injectée, ce qui permet d'obtenir une courbe d'étalonnage pour chaque fraction, donnant l'aire du pic en fonction de la masse de gasoil injecté. Cette méthode permet de déterminer directement la masse de gasoil 1 injectée à partir des aires des pics correspondant aux fractions saturées ou aromatiques. Les quantités de gasoil 1 utilisées se situent dans deux intervalles de masses, 3-30 µg et 40-140 µg respectivement. Pour cette méthode d'étalonnage, nous avons appliqué un ajustement par régression linéaire :

$$\text{Aire du pic} = a \times (\text{masse de gasoil 1 injectée}) + b$$

Pour vérifier la précision de l'étalonnage direct nous avons injecté différentes masses de gasoil 1 et nous avons calculé ces masses à l'aide des aires des pics correspondant aux composés saturés et aromatique . Cette méthode ne permet pas d'accéder aux pourcentages pondéraux de chaque fraction.

- La seconde méthode, que nous appelons l'étalonnage absolu, est réalisée à partir des fractions pures (saturée et aromatique) séparées préalablement. Différentes quantités de chacune des fractions sont injectées séparément et les aires des pics sont mesurées, ce qui permet d'obtenir deux courbes d'étalonnage, une pour chaque fraction, qui ne tiennent plus compte de la quantité de gasoil 1 injectée, mais de la quantité de fraction considérée. Dans ce cas nous avons également utilisé divers intervalles de masses, 10-80 µg et 20-120 µg pour la fraction aromatique et 10-40 µg, 10-80 µg et 20-120 µg pour la fraction saturée. Dans ce cas nous avons appliqué trois types d'ajustement :

- ajustement linéaire : Aire du pic = a x ( masse de saturés injectée ) + b
- ajustement semi logarithmique : Aire du pic = a x log ( masse de saturés injectée ) + b
- ajustement logarithmique : log ( Aire du pic ) = a x log ( masse de saturés injectée ) + b

En ce qui concerne l'étalonnage absolu, nous avons utilisé les courbes pour déterminer les pourcentages pondéraux en fractions saturées et aromatiques dans des quantités différentes de gasoil 1. Si les pourcentages obtenus sont les mêmes quelle que soit la quantité de gasoil 1 utilisée, l'étalonnage peut être considéré comme précis.

### **II.3.3. Résultats et discussion.**

En imprégnant les plaques de silice avec de la berbérine et en effectuant un balayage en UV et en fluorescence, nous avons détecté toutes les fractions des différents produits pétroliers étudiés, et nous avons obtenus des chromatogrammes, sur lesquels figurent les pics correspondant à chacune de ces fractions. Nous donnons, sur la figure 36, quelques exemples de chromatogrammes. La ligne fine représente le chromatogramme obtenu en mode fluorescence alors que la ligne épaisse représente le chromatogramme obtenu en UV.

Les pics numérotés 1 correspondent aux composés saturés, les pics numérotés 2 correspondent aux composés aromatiques et les pics numérotés 3 correspondent aux composés polaires.

Les chromatogrammes montrent que les familles sont parfaitement séparées et détectées.

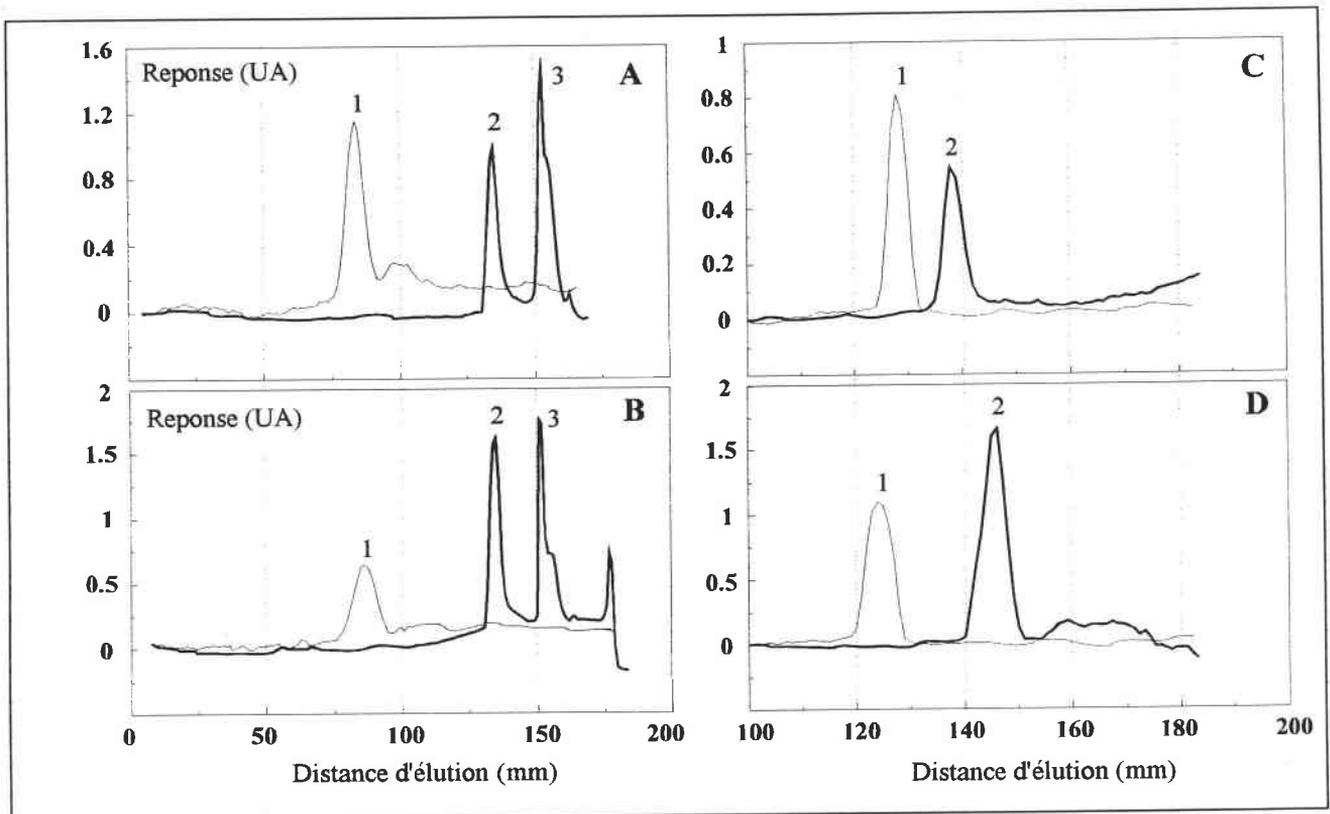


Figure 36 : Chromatogrammes UV et Fluorescence de produits pétroliers.

( A : huile lourde; B : fuel de vis-breaking; C : lubrifiant; D : gasoil 2; UA = unités d'aires arbitraires; ligne claire : fluorescence; ligne épaisse : UV)

### II.3.3.1. Etude de la réponse en fluorescence du détecteur en fonction de la nature des alcanes et de la masse injectée.

La figure 37 représente la réponse du détecteur, en fluorescence, en fonction de la nature et de la masse de l'échantillon injecté.

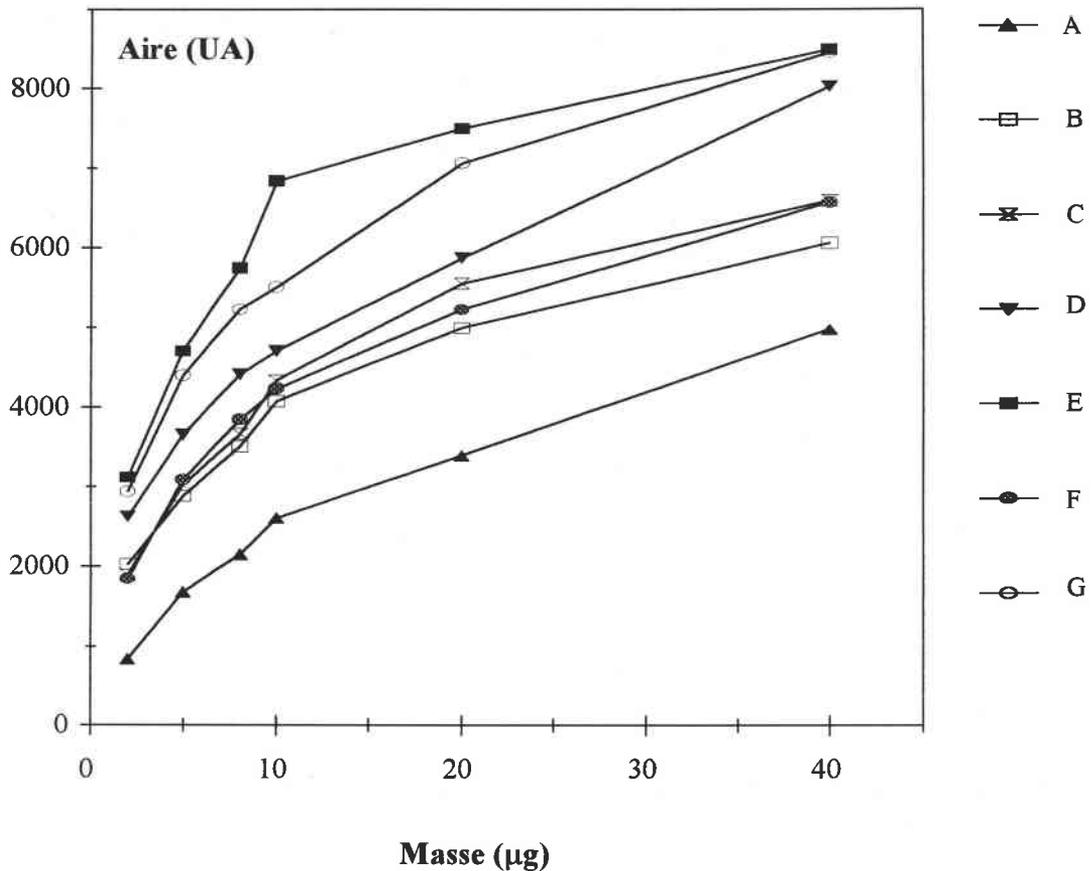


Figure 37 : Réponse en fluorescence d'alcane purs et de fractions saturées de produits pétroliers.

(A : n-C12; B : n-C16; C : n-C18; D : n-C24; E : n-C30; F : gasoil 1; G : lubrifiant)

(UA : unités d'aire arbitraires)

En ce qui concerne les alcanes, les résultats montrent que pour une longueur d'onde donnée (365 nm), et une concentration en berbérine fixée (ici 2 mg berbérine/100 ml de méthanol), la réponse augmente avec la masse d'échantillon appliquée et dépend de la structure de l'alcane. En effet, l'allongement de la chaîne des alcanes linéaires entraîne une augmentation de la réponse en fluorescence.

Les courbes de réponse obtenues pour les fractions de saturés du gasoil 1 (F) et du lubrifiant (G) montrent une certaine cohérence par rapport aux résultats obtenus pour les

n-alcane. La fraction saturée du lubrifiant, qui est constituée d'alcane à longues chaînes ( $C_n > C_{24}$ ), donne une réponse comprise entre celle du  $C_{24}$  (D) et du  $C_{30}$  (E).

Par contre, la réponse de la fraction saturée du gazoil 1 est proche de celle de  $C_{18}$  (C).

Ainsi, la cartographie de la réponse des n-alcane peut être utilisée pour obtenir quelques indications sur la nature de polluants dont la composition en alcane est inconnue, notamment dans le cas d'échantillons de terre ou d'eau contaminée par des hydrocarbures.

Cependant, étant donné les différences de réponses observées en fonction de la taille de la chaîne des alcane, il est préférable d'étalonner le détecteur à l'aide de la fraction saturée des échantillons étudiés, et non avec des alcane purs.

De plus, selon la nature des dérivés pétroliers que l'on étudie, leur composition en hydrocarbures saturés peut être très variable. Il est alors nécessaire, préalablement à tout étalonnage, d'isoler la fraction saturée de l'échantillon en question, selon le protocole de CCM préparative déjà évoqué. De même, l'étalonnage du détecteur, en mode UV, est réalisé avec la fraction aromatique pure.

### II.3.3.2. Influence des conditions opératoires.

#### a) Méthodes de dépôt des échantillons.

Nous présentons sur la figure 38 les aires des pics correspondants aux différentes fractions des produits que nous avons injectés (40  $\mu\text{g}$  dans chaque cas) : le gazoil1, le fuel de vis-breaking VB, les huiles légères LCO VI et LCO VII. La répétabilité est représentée par l'écart-type sur les mesures.

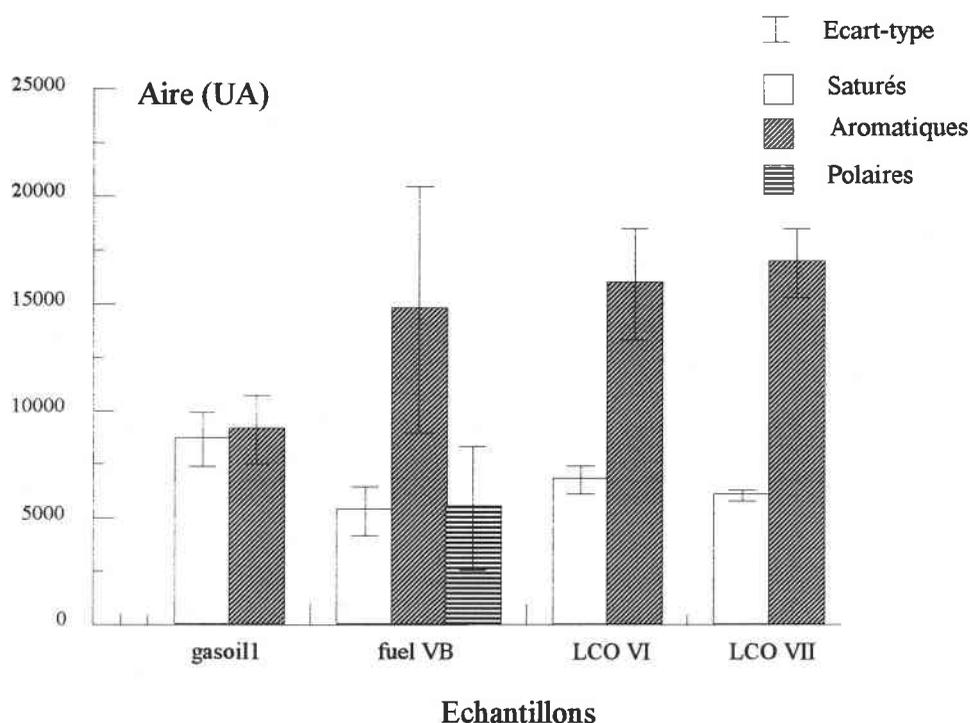


Figure 38 : Influence de l'injection manuelle sur la répétabilité de la détection.

(UA : unités arbitraires)

Les résultats montrent clairement que dans la majorité des cas, la répétabilité est variable et même mauvaise dans certains cas. Cela peut s'expliquer par le caractère aléatoire de la manipulation manuelle de la micropipette qui induit des variations de vitesse de dépôt de l'échantillon sur la plaque et par conséquent, une plus ou moins grande diffusion de cet échantillon liée à l'évaporation du solvant (le dichlorométhane) durant le dépôt. Ce gradient de diffusion ne permet pas d'obtenir des "taches" de taille et de forme homogène après l'éluion, ainsi la répétabilité de la détection s'en trouve affectée.

Par la suite nous avons utilisé l'injecteur automatique SES 3202/IS-02. Sur la figure 39 nous présentons les résultats concernant l'influence de l'injection automatique sur la répétabilité de la détection, pour différentes masses de fraction saturée du gasoil 1.

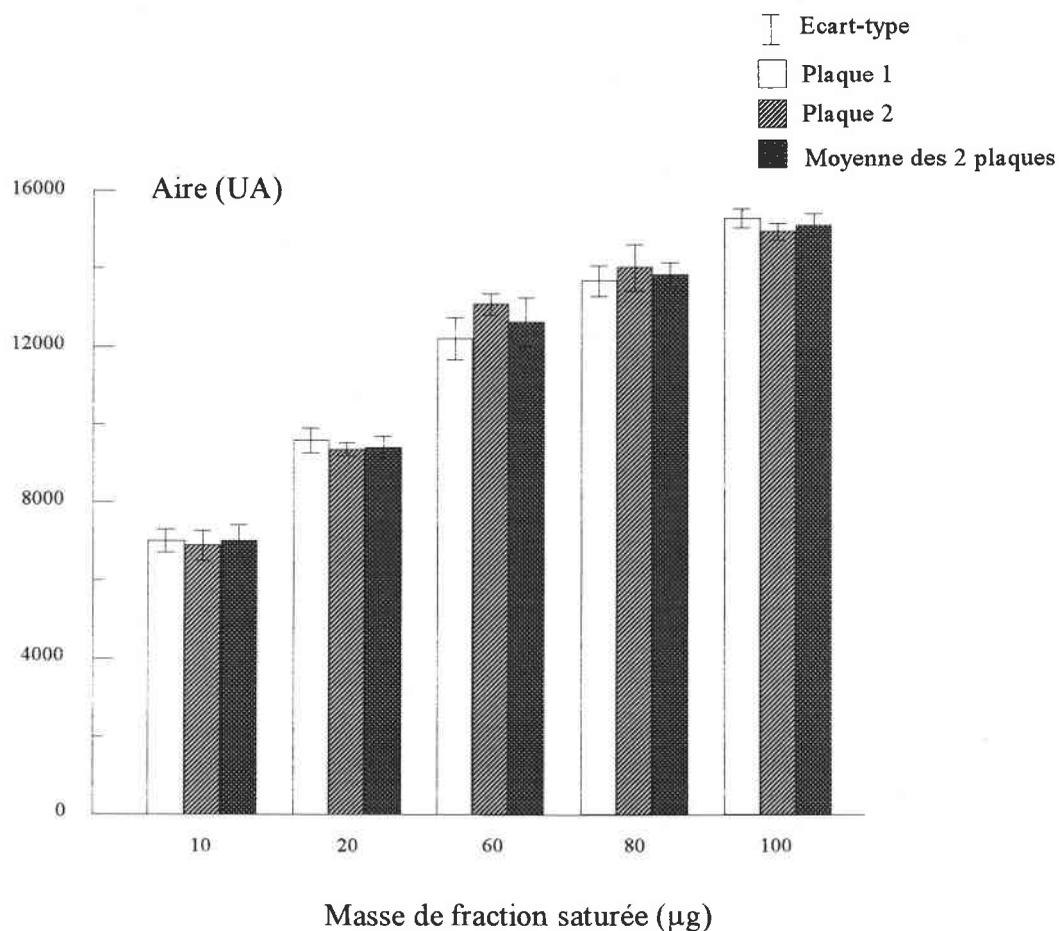


Figure 39 : Influence de l'injection automatique sur la répétabilité de la détection de la fraction saturée (concentration de la solution de berbérine : 40 mg/l).  
(UA : unités arbitraires)

Les résultats montrent que la répétabilité est relativement bonne quelle que soit la masse de fraction saturée injectée et les résultats obtenus sur deux plaques différentes sont similaires.

Nous avons effectué la même étude pour des échantillons de fraction aromatique. Les résultats sont indiqués par la figure 40.

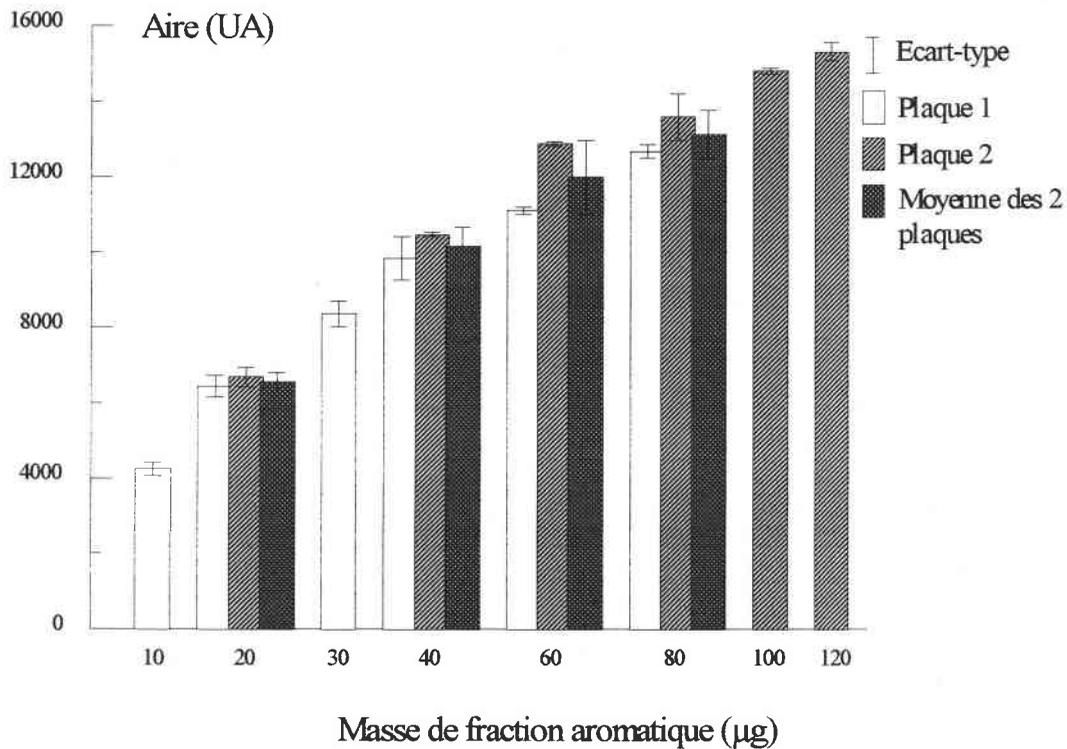


Figure 40 : Influence de l'injection automatique sur la répétabilité de la détection de la fraction aromatique (concentration de la solution de berbérine : 40 mg/l).

(UA : unités arbitraires)

Comme dans le cas de la fraction saturée, la répétabilité est bonne pour la plupart des masses injectées. Par contre, les résultats obtenus pour deux plaques différentes ne sont pas aussi proche que dans le cas de la fraction saturée.

L'ensemble des résultats qui caractérisent l'influence du mode d'injection montrent clairement la nécessité d'utiliser un applicateur automatique pour l'injection des échantillons sur les plaques de CCM.

b) Taille du faisceau de balayage.

Nous indiquons sur la figure 41 la réponse du détecteur en fluorescence en fonction de la masse de fraction saturée du gasoil 2, pour différentes tailles de faisceau.

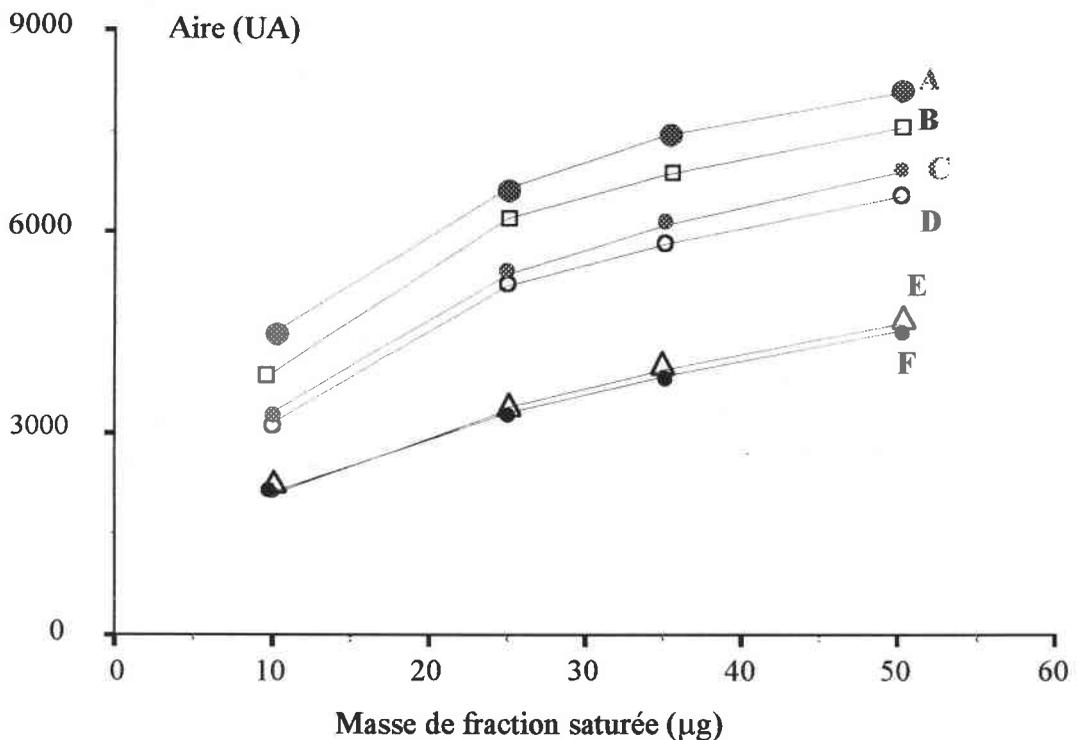


Figure 41 : Influence de la taille de faisceau sur la réponse du détecteur en fluorescence.

( A : 1 x 1 mm; B : 1 x 2 mm; C : 0,4 x 5 mm; D : 1 x 5 mm; E : 0,4 x 10 mm; F : 1 x 10 mm; Aire : unités arbitraires)

La largeur de faisceau minimale que l'on peut utiliser pour couvrir la totalité des taches est de 1 mm. Ces courbes mettent en évidence que la meilleure sensibilité est obtenue avec les dimensions de faisceau suivantes : hauteur 1 mm x largeur 1 mm. Elles ont été utilisées pour l'ensemble de notre étude.

c) Conditions d'imprégnation.

Nous présentons, sur la figure 42, l'évolution de la réponse du détecteur en fluorescence, en fonction de la masse de fraction saturée (gasoil 1) et des conditions d'imprégnation.

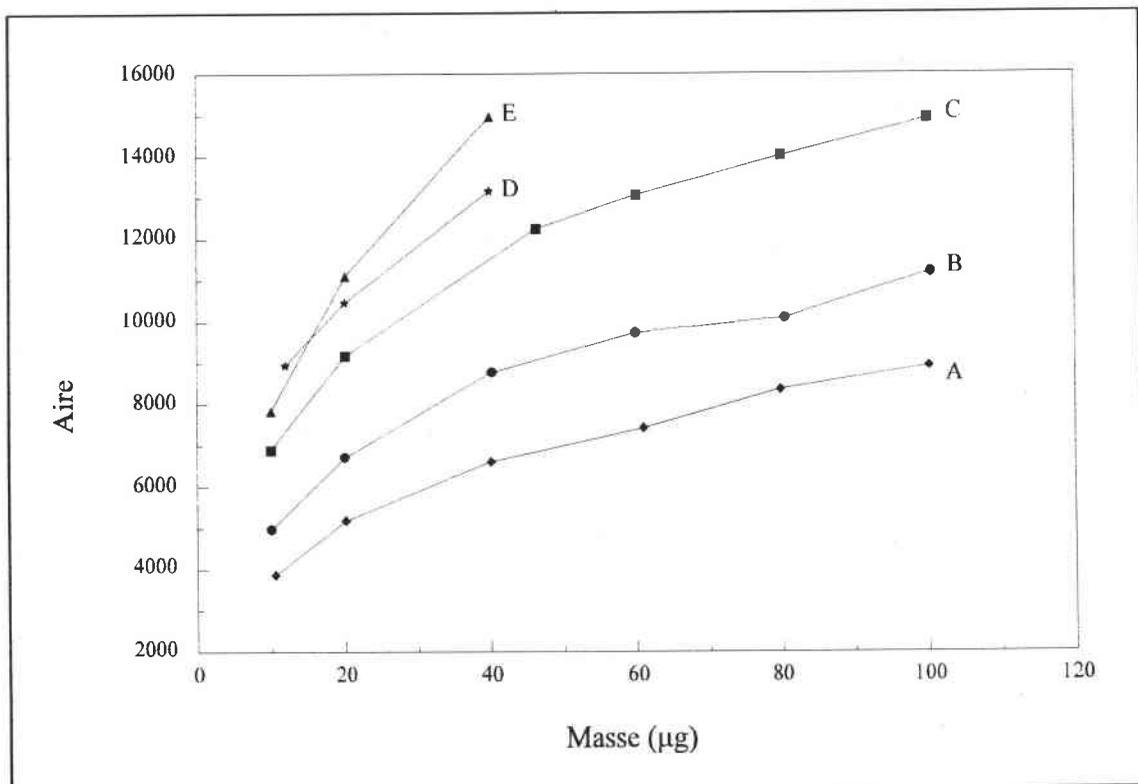


Figure 42 : Influence des conditions d'imprégnation sur la sensibilité de la détection.

(concentration de la berbérine en  $\text{mg.l}^{-1}$  / temps d'imprégnation en secondes, A : 20/20 ; B : 20/50 ; C : 40/20 ; D : 60/20 ; E : 40/50. Aire : unités arbitraires).

Pour des temps d'immersion identiques, la surface des pics augmente avec la concentration de la solution de berbérine, jusqu'à saturer le détecteur. Pour un temps d'immersion de 20 s, il n'y a pas de saturation, même pour des masses injectées de plus de

100  $\mu\text{g}$ , dans le cas des solutions de berbérine à 20 et 40 mg/l, alors qu'elle a lieu dès 40  $\mu\text{g}$  dans celui de la solution de berbérine à 60 mg/l.

Les résultats que nous avons obtenus nous ont également montré que la répétabilité est la plus faible lorsque les plaques sont imprégnées durant 50 s. De plus, lorsqu'on vérifie la réponse en fluorescence à partir de ces plaques, avant le dépôt d'échantillons, la ligne de base est moins régulière que pour les plaques imprégnées 20 s, sans doute en raison d'une détérioration de la couche de silice durant l'immersion dans la solution de berbérine.

### II.3.3.3. Etalonnage du détecteur.

Les figures 43 et 44 représentent les droites d'étalonnage direct obtenues pour les fractions saturées et aromatiques.

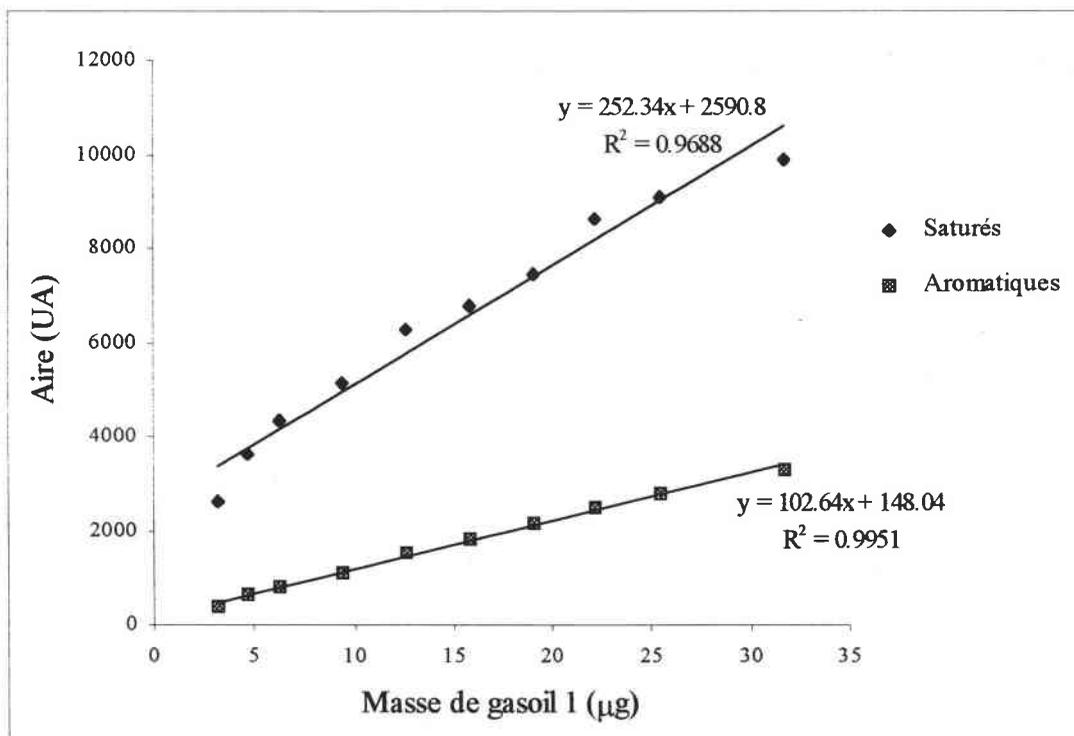


Figure 43 : Droites d'étalonnage direct des fractions aromatiques et saturées pour un intervalle de 3 à 30  $\mu\text{g}$  de gasoil 1 (UA : unités arbitraires).

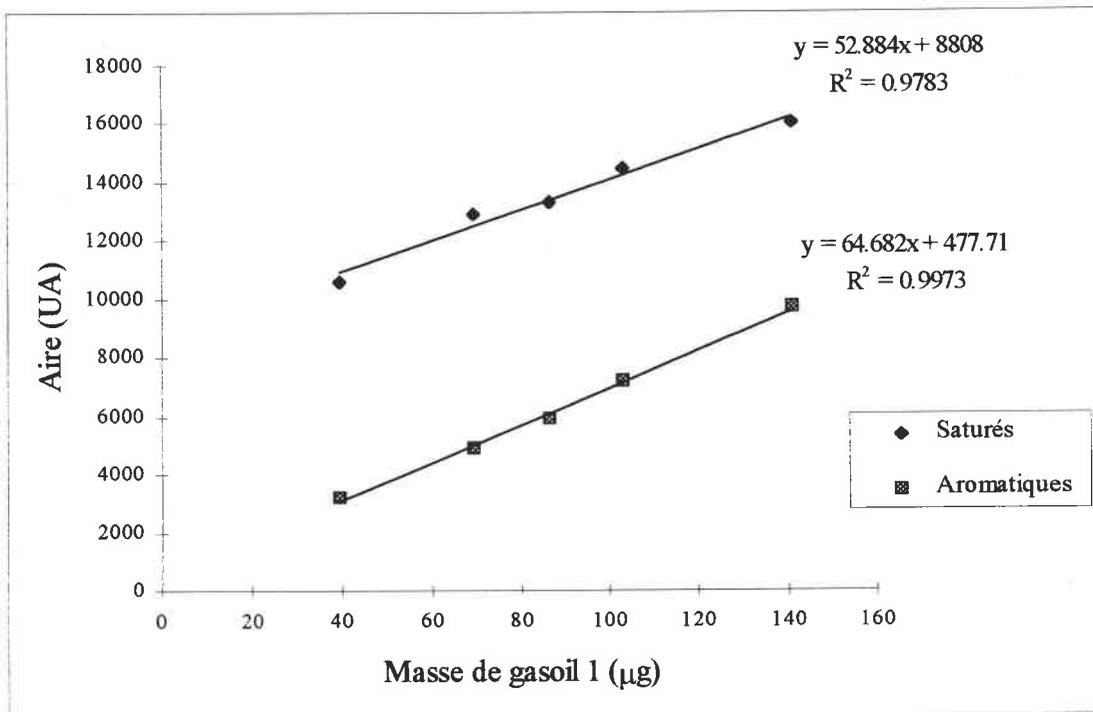


Figure 44 : Droites d'étalonnage direct des fractions aromatiques et saturées pour un intervalle de 40 à 140 µg de gasoil 1 (UA : unités arbitraires).

Nous avons obtenu des droites d'étalonnage avec de bons coefficients de corrélation, surtout pour la fraction aromatique, quel que soit l'intervalle de masses considéré.

Pour étudier la précision de ce type d'étalonnage, nous avons vérifié si en injectant des quantités quelconques de gasoil 1, il était possible de retrouver ces masses à partir de l'aire des pics aromatiques et saturés. Malheureusement, les résultats que nous avons obtenus n'étaient pas précis et, de plus, les masses de gasoil déterminées par l'intermédiaire des courbes d'étalonnage de chaque fraction étaient différentes.

Cela s'explique par le fait que l'étalonnage de chaque fraction est réalisé à partir de la masse de gasoil injecté et non pas la masse correspondante de chaque fraction. Or en UV, les facteurs de réponse (Aire/masse) varient selon la nature des composés injectés. Ils sont différents pour des

composés saturés et des composés aromatiques. On ne peut donc pas étalonner le détecteur en considérant que la réponse d'une seule fraction est la même que celle d'un mélange.

C'est pour cette raison que nous n'avons pas poursuivi nos travaux dans ce sens, et nous nous sommes intéressés à l'étalonnage absolu.

Les tableaux XXVII et XXVIII regroupent l'ensemble des ajustements que nous avons utilisés en fonction des intervalles de masses de fractions injectées.

TABLEAU XXVII : Droites d'étalonnage pour la fraction saturée.

Intervalle de masses ( $\mu\text{g}$ )	Ajustement linéaire			Ajustement semi-logarithmique			Ajustement log,arithmique		
	a	b	r	a	b	r	a	b	r
10-40	83,29	$3,6 \times 10^3$	0,9774	$4,2 \times 10^3$	-57,43	0,9985	0,35	3,28	0,9971
20-120	47,26	$4,7 \times 10^3$	0,9852	$6,2 \times 10^3$	$-3,1 \times 10^3$	0,9956	0,37	3,24	0,9993
40-120	40,69	$5,3 \times 10^3$	0,9948	$6,8 \times 10^3$	$-4,2 \times 10^3$	0,9957	0,36	3,26	0,9985
40-100	44,71	$5,1 \times 10^3$	0,9951				0,36	3,25	0,9977
20-60				$5,4 \times 10^3$	$-1,8 \times 10^3$	0,9999			
60-120				$7,7 \times 10^3$	$-5,9 \times 10^3$	0,9993			

( conditions d'imprégnation : 20 s dans une solution de berbérine à 20 mg/l)

(a : pente; b : ordonnée à l'origine; r : coefficient de corrélation)

TABLEAU XXVIII : Droites d'étalonnage pour la fraction aromatique.

Intervalle de masses ( $\mu\text{g}$ )	Ajustement linéaire			Ajustement semi- logarithmique			Ajustement logarithmique		
	a	b	r	a	b	r	a	b	r
10-30	220,,3	$2 \times 10^3$	0,9981						
10-80	113,86	$4,2 \times 10^3$	0,9647	$9,3 \times 10^3$	$-5,4 \times 10^3$	0,998	0,5296	3,1156	0,9906
20-60	153,67	$3,8 \times 10^3$	0,9911						
20-120	80,30	$6,6 \times 10^3$	0,9365	$11,2 \times 10^3$	$-7,6 \times 10^3$	0,994	0,4622	3,2537	0,9792

( conditions d'imprégnation : 20 s dans une solution de berbérine à 20 mg/l)

(a : pente; b : ordonnée à l'origine; r : coefficient de corrélation)

Au vu des coefficients de corrélations caractérisant les différents ajustements, il apparaît que selon l'intervalle de masse utilisé, il est possible d'appliquer plusieurs types d'ajustements pour l'étalonnage.

Afin d'évaluer la fiabilité de cette méthode d'étalonnage, nous avons déterminé les pourcentages massiques en fractions saturées et aromatiques pour différentes quantités de gasoil 1 injectées. Dans chaque cas, nous avons utilisé les courbes d'étalonnage caractérisées par un coefficient de corrélation supérieur à 0,99.

Nous avons rassemblé l'ensemble des résultats sur les figures 45 et 46.

Le pourcentage moyen de saturés dans le gasoil 1 est obtenu avec une bonne répétabilité d'ensemble, l'écart-type étant de 5,97 pour un pourcentage égal à 55,34 %. Par contre, on peut noter que la répétabilité est très variable selon la masse de gasoil injectée. C'est pour les masses les plus faibles qu'elle est la meilleure.

Le pourcentage moyen de fraction aromatique dans le gasoil 1 est de 36,87 %. Il est obtenu avec une bonne répétabilité d'ensemble, l'écart-type étant de 2,42. En ce qui concerne la répétabilité des pourcentages obtenus pour chaque masse de gasoil 1 injectée, elle est meilleure et plus homogène que dans le cas des saturés.

Il faut cependant rappeler que les chromatogrammes de ces fractions sont obtenus suivant deux modes de détection différents, ce qui ne permet pas de comparaison directe.

En ce qui concerne l'objectif de que nous nous sommes fixé, il apparaît clairement que cette méthode d'étalonnage est applicable. En effet, elle nous a permis de déterminer de manière relativement répétable les pourcentages massiques en saturés et en aromatiques dans le gasoil 1. Cependant, ces pourcentages ne peuvent être directement comparés aux valeurs établies par le fournisseur qui sont données en valeurs volumiques.

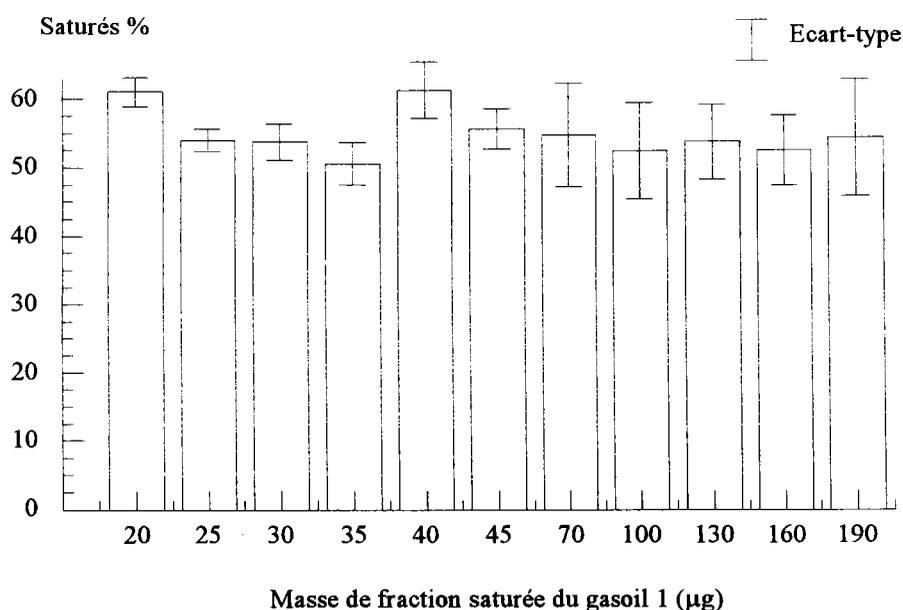


Figure 45 : Pourcentages massiques de fraction saturée déterminés pour différentes quantités de gasoil 1

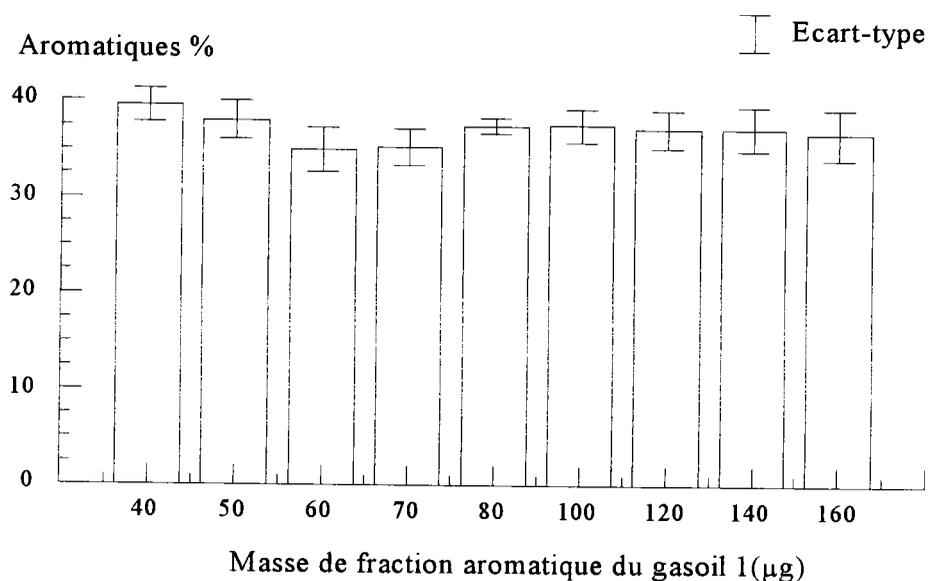


Figure 46 : Pourcentages pondéraux de fraction aromatique déterminés pour différentes quantités de gasoil 1.

L'étape suivante de ce travail consiste à appliquer les méthodes développées à d'autres échantillons dont la composition centésimale massique est connue et à les optimiser afin de les rendre plus répétables et précises. De plus, il serait préférable de pouvoir utiliser un seul mode de détection afin d'obtenir des points de comparaison directe entre la fraction aromatique et la fraction saturée. Cet objectif rend nécessaire une étude du rôle de la berbérine sur la détection en fluorescence.

#### II.3.3.4. Rôle de la berbérine dans la détection des hydrocarbures.

L'étude concernant le rôle de la berbérine dans la détection des hydrocarbures saturés a été menée en collaboration avec l'équipe de F. Cossio, professeur à la Faculté de Chimie de l'Université Euskal Herriko de San Sébastien (Espagne).

Elle est basée sur des calculs de modélisation théorique dont nous ne donnerons pas ici le détail et qui font l'objet d'une publication (Cossio et col. soumise à Anal. Chem.).

Rappelons que les hydrocarbures saturés (surtout les alcanes) sont généralement considérés comme des composés peu réactifs. Ils ne permettent pas d'obtenir des spectres UV ou de fluorescence aux longueurs d'onde usuelles.

Mais si les plaques de CCM sont imprégnées de berbérine, la présence de composés paraffiniques augmente le signal de fluorescence de cette berbérine, lorsque les échantillons sont irradiés par une lumière UV monochromatique (de longueur d'onde 365 nm).

Des calculs théoriques de F. Cossio ont permis d'optimiser la géométrie de la molécule de berbérine et d'arriver à la conclusion qu'elle se présente sous la forme d'un cation quasiment plan et doté d'une rigidité conformationnelle remarquable. La figure 47 montre qu'il n'y a pas de changements des longueurs de liaison au sein de la molécule de berbérine dans son état fondamental (nombres en gras), lorsqu'elle forme un complexe avec un composé paraffinique (ici le pentane). Ces observations excluent des hypothèses d'interaction alcanes/berbérine basées sur des changements de conformation de cette dernière, comme cela a pu être proposé pour d'autres systèmes (Buterbaugh et col. 1997; Parusel et col. 1997; Di Césare et col. 1998).

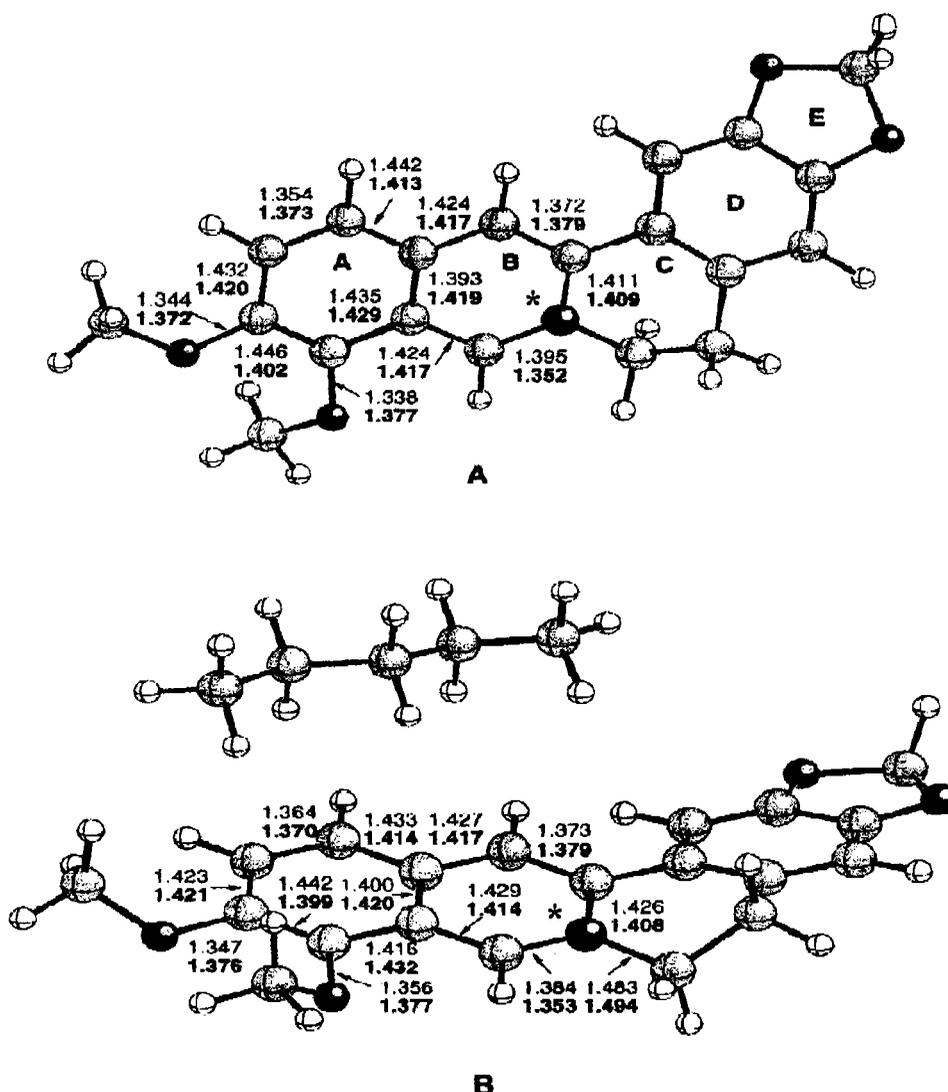


Figure 47 : Géométrie de la berbérine (A) et du complexe pentane-berbérine (B) d'après Cossio et col. ( les distances sont données en Angström, dans l'état fondamental en gras et dans le premier état excité, les couleurs des atomes sont les suivantes : H en blanc, C en gris, O en noir et N en noir\*).

Les calculs montrent également qu'il y a une interaction électrostatique entre la molécule de l'alcane et le système électronique  $\pi$  déficient de la molécule de berbérine, et qu'en certains sites, les distances intermoléculaires sont proches des contacts de Van der Walls.

De plus, l'analyse théorique indique également que le rôle de l'alcane est de fournir un environnement apolaire au cation berbérine excité, ce qui favorise l'émission de fluorescence et empêche d'autres mécanismes de relaxation. Cet alcane adopte une configuration allongée le long de l'axe principal de la molécule de berbérine, pour maximiser les interactions (figure 47).

A partir de cette étude, il est possible d'utiliser la berbérine pour détecter et quantifier des composés autres que les alcanes, à structure partiellement saturée et qui ont une réponse UV faible (acide stéarique, acide oléique, cholestérol, etc... qui sont des molécules d'intérêt biologique).

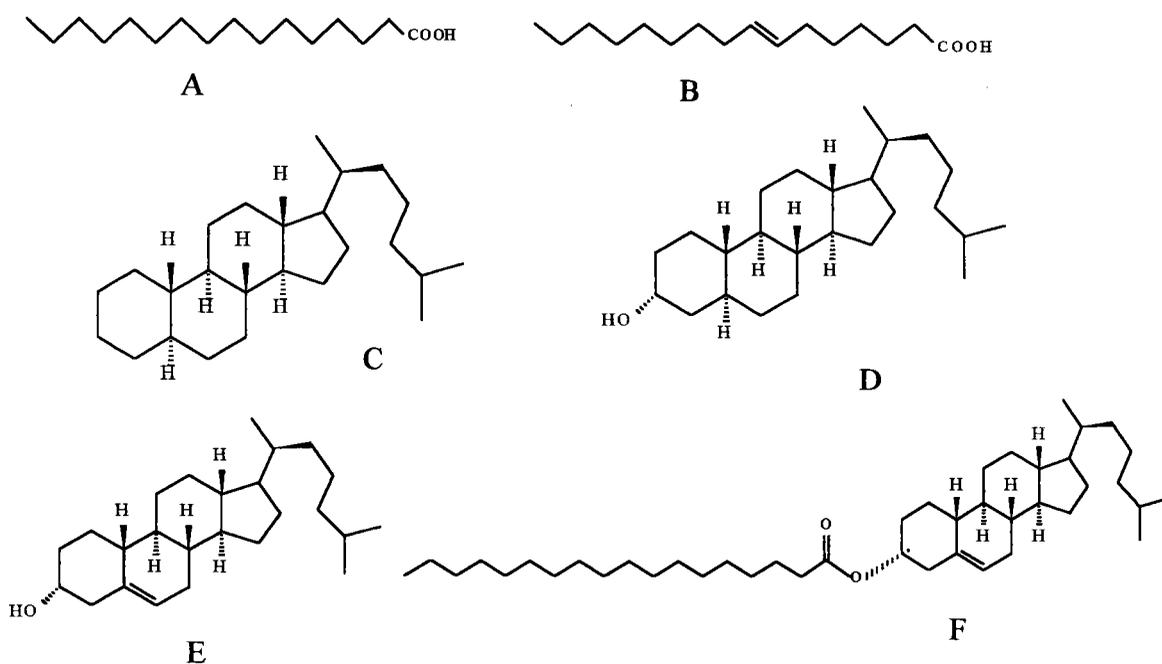


Figure 48 : Structure de quelques molécules pouvant donner lieu à une exaltation de la fluorescence de la berbérine (A : acide stéarique ; B : acide oléique ; C : 5 $\alpha$ -cholestane ; D : 5 $\beta$ -cholestane-3 $\alpha$ -ol ; E : cholestérol ; F : stéarylcholestérol)

Plus le composé est saturé et plus la réponse en fluorescence est importante . Pour les différents composés testés (cf figure 48), l'étude théorique a montré que les molécules adoptent préférentiellement des configurations dans lesquelles leurs chaînes apolaires sont situées au-dessus des cycles apolaires de la berbérine et leurs groupes polaires (comme les groupes hydroxy -OH) sont très proches de l'atome d'azote chargé positivement.

Enfin, d'autres molécules à structure électronique  $\pi$  déficiente, rigides et planes, la caféine et la tétranitrofluorénone (TNF) ont été testées comme agent d'imprégnation (tableau XXIX).

TABLEAU XXIX : Facteur de réponse obtenu pour du  $n\text{-C}_{24}$  en fonction de l'agent d'imprégnation.

Agent d'imprégnation	Facteur de réponse (Aire/masse)
Berbérine	1168
Caféine	6,5
TNF	8,5

Le facteur de réponse représente le rapport entre l'aire du pic obtenu en fluorescence et la masse d'échantillon déposé. Dans le cas de la berbérine, le  $\text{C}_{24}$  est élué 9 min à l'hexane alors que dans les deux autres cas, il n'a pas été élué.

Bien que la caféine et la TNF interagissent avec les composés saturés et permettent d'obtenir des augmentations de fluorescence, la réponse est environ 150 à 200 fois inférieure à celle obtenue avec la berbérine.

Ainsi, les systèmes  $\pi$  accepteurs constituent une condition nécessaire mais insuffisante pour augmenter la fluorescence de manière importante. Cela est en accord avec les explications proposées précédemment : la berbérine est un cation et son interaction avec les composés saturés est plus forte que dans le cas de la caféine et de la TNF, qui sont des accepteurs non chargés.

### II.3.3.5. Optimisation de la détection des composés saturés en fluorescence et application aux composés aromatiques.

Etant donné le rôle primordial de la berbérine dans la détection des composés saturés, pour la suite des travaux de mise au point les plaques ont été imprégnées avec une solution méthanolique de berbérine à 60 mg/l avec une étape d'immersion de 20 s.

Dans ces conditions opératoires, nous avons obtenu la meilleure sensibilité (voir le paragraphe concernant l'imprégnation p 130) qu'avec une solution à 40 mg/l, la répétabilité étant également meilleure. Mais comme nous avons observé une saturation du signal à partir de 40 µg d'échantillon déposé, nous avons utilisé un volume faible d'injection (0,4 µl) et par conséquent de faibles masses ont été appliquées.

De plus, nous avons vu que le phénomène d'exaltation de fluorescence est aussi observé pour des composés à structure partiellement saturée, à condition qu'ils adoptent une configuration étendue le long de l'axe principal de la berbérine. Or c'est le cas des composés de la famille des alkylaromatiques qui sont ainsi détectables en fluorescence, si leur chaîne alkyle est suffisamment longue. Cette hypothèse suggère la possibilité de réaliser une analyse complète des dérivés pétroliers en utilisant uniquement la fluorescence.

Nous indiquons dans le tableau XXX les données concernant l'étalonnage du détecteur en mode fluorescence, en utilisant les nouvelles conditions opératoires. Les produits analysés sont l'huile lourde, le fuel de vis-breaking et le lubrifiant. Afin de ne pas multiplier les méthodes de régression, seule la régression linéaire a été utilisée.

**TABLEAU XXX : Données et précision de l'étalonnage du détecteur en fluorescence, pour l'analyse de produits pétroliers (fraction saturée)**

Echantillons	*RSD%	Intervalle linéaire ( $\mu\text{g}$ )	Constantes de régression linéaire		
			Pente	Ordonnée	Coeff. Corr.
Huile lourde	6,85	3-16	567,5	4574	0,999
VB	1,85	4-20	979,7	4876	0,996
Lubrifiant	2,21	4-16	306,8	2464	0,993

\* :  $\text{RSD \%} = 100 \times \text{écart-type/moyenne}$

Dans les trois cas, l'ajustement linéaire est parfaitement adapté à la réponse du détecteur, avec une bonne précision, dans l'intervalle de masses utilisé, à savoir 3 à 20  $\mu\text{g}$  environ.

Les courbes d'étalonnage obtenues nous ont permis de déterminer les pourcentages pondéraux en saturés de chacun de ces produits (tableau XXXI).

**TABLEAU XXXI : Pourcentages massiques en saturés de différents produits pétroliers, déterminés par CCM-fluorescence et par d'autres techniques.**

Echantillons	CCM-Fluorescence	Autres techniques
Huile lourde	35,2	36,1
VB	12,3	12,1
Lubrifiant	56,2	56,8

Les résultats obtenus en CCM couplée à la détection en fluorescence s'accordent parfaitement avec ceux obtenus à l'aide d'autres techniques (la CCM-FID pour l'huile lourde et le fuel de vis-breaking, et par pesée pour le lubrifiant que nous avons préparé nous-mêmes).

Par la suite, nous avons réalisé l'étalonnage du détecteur en fluorescence avec la fraction aromatique (les alkylaromatiques) de deux produits pétroliers : le gasoil CEPSA (gasoil2) et le lubrifiant (tableau XXXII).

TABLEAU XXXII : Etalonnage du détecteur en fluorescence, pour l'analyse de produits pétroliers (fraction aromatique).

Echantillons	Intervalle linéaire ( $\mu\text{g}$ )	Constantes de régression linéaire		
		Pente	Ordonnée	Coefficient de Corrélation
Lubrifiant	3-16	432,5	4754	0,992
Gasoil 2	1-13	242,7	242,7	0,98

Comme pour les saturés, la régression linéaire est bien adaptée à la réponse du détecteur, dans des intervalles de masses similaires. Ces résultats ont été obtenus avec une bonne répétabilité.

Nous avons également déterminé les pourcentages massiques en fraction aromatique, pour les deux types d'échantillons (tableau XXXIII).

**TABLEAU XXXIII : Pourcentages massiques en fraction aromatique de deux produits pétroliers, déterminés par CCM couplée à la détection en fluorescence, et par d'autres techniques.**

Echantillons	CCM-Fluorescence	Autres techniques
Lubrifiant	43,8	43,2 (gravimétrie)
Gasoil 2	30,2	29,2 (CLHP-IR)

Les pourcentages massiques que nous avons déterminés en fluorescence sont très proches de ceux qui avaient été déterminés par d'autres méthodes. Dans le cas du gasoil 2, il s'agissait de la CLHP couplée au détecteur à indice de réfraction (CLHP-RI) selon la norme standard IP 391. Cette méthode permet d'obtenir la quantité de fraction saturée par différence alors que notre méthode utilise une détection basée sur la réponse en fluorescence et permet une détermination directe de ce contenu. La composition du lubrifiant a été déterminée lors de sa préparation par pesée des fractions avant leur mélange.

L'analyse complète d'un échantillon en utilisant uniquement la fluorescence présente des avantages pratiques évidents, notamment en termes de rapidité, puisqu'il suffit de balayer la plaque une seule fois (contre deux balayage s'il est nécessaire d'utiliser également le mode UV). La réponse en fluorescence dépend de la nature et de l'abondance de la fraction aromatique dans l'échantillon étudié. Celle-ci peut d'ailleurs avoir une réponse intrinsèque, surtout dans le cas où elle contient des noyaux aromatiques condensés. Mais même si le choix des conditions d'imprégnation permet de moduler, dans une certaine mesure, la réponse en fluorescence, il n'est pas certain que la fraction aromatique soit détectable. Il est toujours possible, dans ce cas, de déterminer la fraction aromatique en utilisant le mode UV. Cette détermination peut être effectuée sur la même plaque.

Cette possibilité est illustrée par la comparaison des contenus (pourcentages massiques) en fraction aromatique du gasoil 2 et du lubrifiant (tableau XXXIV).

**TABLEAU XXXIV : Comparaison entre les contenus en aromatiques (% en masse) déterminés en fluorescence et en UV.**

Echantillon	CCM-fluorescence	CCM-UV
Lubrifiant	43,8	42,1
Gasoil 2	30,2	27,0

Les résultats obtenus par les deux méthodes sont très comparables. Les valeurs les plus faibles sont obtenues en mode UV et on peut sans doute les attribuer à une plus faible sensibilité de la détection UV.

Sur la figure 49 sont représentées les réponses en fluorescence et en UV de la fraction aromatique des deux types d'échantillons analysés, en fonction de la masse déposée sur la plaque. Les courbes de réponses sont les suivantes :

A : lubrifiant en fluorescence.

B : gasoil 2 en UV.

C et D : lubrifiant en UV.

E : gasoil 2 en fluorescence.

La réponse en fluorescence du lubrifiant est nettement supérieure à celle du gasoil 2 alors que les réponses UV sont du même ordre de grandeur. Cela indique que les chaînes alkyles des composés aromatiques sont plus longues dans le cas du lubrifiant.

D'autre part, les courbes C et D montrent que la réponse UV n'est pas influencée par la présence de berbérine.

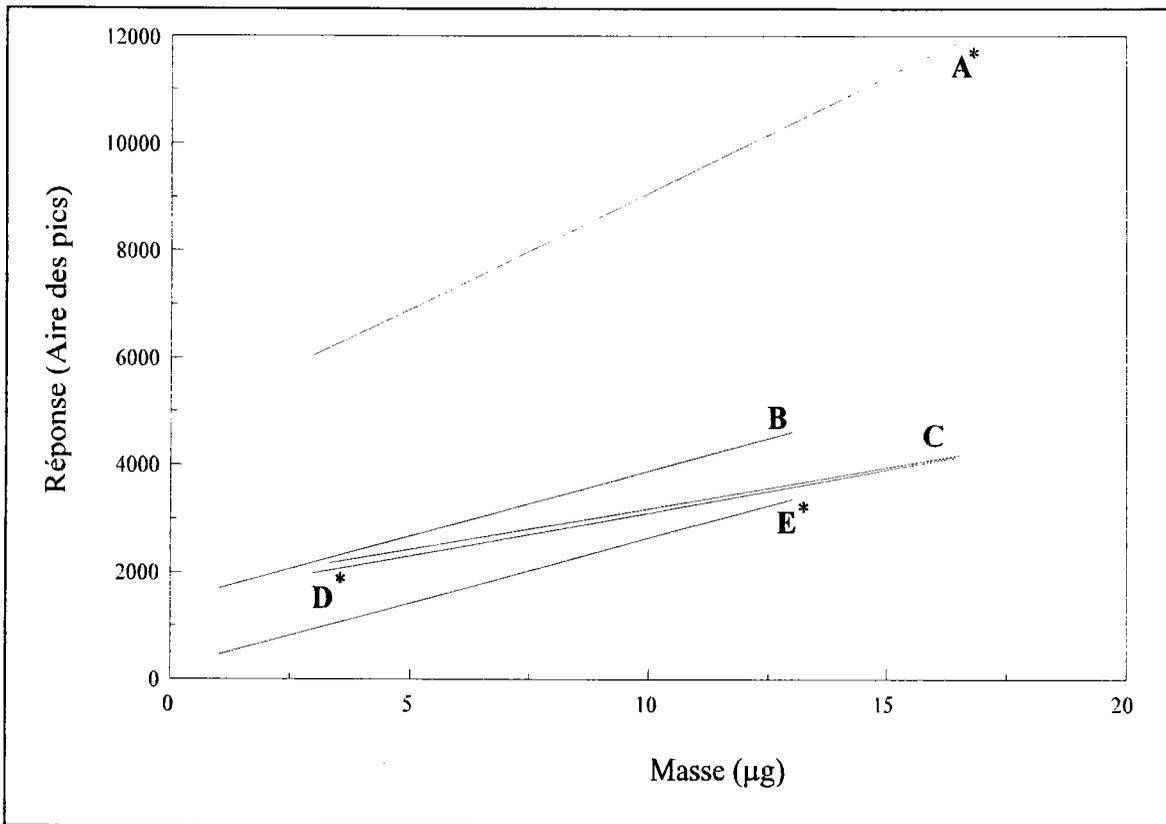


Figure 49 : Réponse en UV et en fluorescence en fonction de la masse de fraction aromatique pour le lubrifiant et le gasoil 2

(A : lubrifiant/fluorescence; B : gasoil 2/UV; C et D : le lubrifiant/UV; E : gasoil 2/fluorescence. Le symbole \* indique que les mesures ont été faites à partir de plaques imprégnées de berbérine à 60 mg/l)

### II.3.3.6. Conclusion.

Nous avons pu mettre à profit les interactions existant entre le cation berbérine et les hydrocarbures à structure au moins partiellement saturée de produits pétroliers, pour les détecter et les quantifier en fluorescence après séparation en CCM.

En y ajoutant si nécessaire la détermination en UV des composés de la fraction aromatique, nous avons pu réaliser l'analyse de ces produits pétroliers.

L'étude théorique de l'interaction berbérine-composés saturés a permis de démontrer qu'elle était également applicable à d'autres molécules, notamment d'intérêt pharmaceutique ou biologique.

L'originalité de cette méthode réside dans le fait que le balayage en fluorescence était souvent suffisant pour déterminer les saturés et les aromatiques de dérivés pétroliers. Les résultats obtenus concordent parfaitement avec ceux obtenus par d'autres méthodes bien établies et généralement utilisées par les pétroliers : la CCM-FID pour les dérivés lourds, lubrifiant, fuel de vis-breaking, huile lourde) et la CLHP-IR pour les dérivés moyens (gasoils). On peut ici souligner que notre méthode évite les inconvénients liés à l'utilisation du détecteur à indice de réfraction.

De plus, même si la réponse en fluorescence dépend directement de la longueur de la chaîne et de la quantité des structures saturées présentes, son ordre de grandeur peut être modulé par une sélection adéquate de la taille du faisceau de balayage et des conditions d'imprégnation. Et si malgré tout les aromatiques ne sont pas détectables, il est toujours possible d'utiliser la détection en mode UV.

Enfin, cette méthode se présente comme une alternative intéressante à la Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier, pour la détection et la quantification des hydrocarbures totaux dans des échantillons solides ou aqueux provenant de sites pollués (comme dans le cas de la norme AFNOR évoquée par ailleurs). En effet, des échantillons de solutions obtenues après extraction des polluants par un solvant peuvent être injectés sur des plaques et les fractions présentes sont alors quantifiées en fluorescence et si nécessaire en UV. Cela sous-entend, évidemment, que le détecteur a été préalablement étalonné.

L'étalonnage et la quantification peuvent s'effectuer selon le protocole suivant :

- Extraction d'une quantité suffisante de polluant (si la source de la pollution est identifiée, elle peut alors fournir directement le polluant).
- Séparation des fractions saturées et aromatiques en CCM préparative.

- Réalisation des courbes d'étalonnage, en UV et en fluorescence, en déposant des masses connues de fractions sur une plaque.
- Détermination des pourcentages pondéraux de chaque fraction dans le polluant.
- Une fois le contenu du polluant en fractions, il suffit de déposer des échantillons des solutions obtenues après extraction du polluant de sa matrice. Les courbes d'étalonnages permettent de déterminer la masse de fractions présentes et leur pourcentages pondéraux étant connus, ils permettent de calculer la masse totale de polluant contenu dans l'échantillon injecté.

Le temps d'analyse est comparativement un peu plus long que pour une analyse en IRTF (quelques heures pour la totalité du protocole contre quelques minutes) mais La CCM permet de traiter de nombreux échantillons à la fois et surtout elle ne limite pas le choix des solvants d'extraction comme c'est le cas en IRTF.

## **CONCLUSION GENERALE**

## CONCLUSION GENERALE

### PERSPECTIVES

Le travail présenté dans ce manuscrit avait pour objectif la mise au point d'une méthode d'analyse rapide, fiable et peu coûteuse, des hydrocarbures dans des matrices polluées telles que les sols ou les eaux.

Dans le premier chapitre, une étude bibliographique exhaustive nous a permis de présenter les méthodes récentes d'extraction décrites dans la littérature, et de les comparer aux méthodes classiques (extraction liquide-liquide, liquide-solide au soxhlet ou assistée par les ultrasons). Elles ont l'avantage d'être automatisées et de réduire les temps d'analyse ainsi que les quantités de solvants consommés. Par contre, les inconvénients majeurs relèvent généralement d'un coût d'investissement très élevé et d'une mise au point difficile des conditions opératoires.

Au niveau des méthodes de dosage des polluants organiques, nous nous sommes essentiellement intéressés aux méthodes mettant en oeuvre une séparation par chromatographie sur couche mince couplée à différents modes de détection (densitométrie ultraviolet/fluorescence, détection par ionisation de flamme). Cette méthode chromatographique relativement ancienne a longtemps été négligée en raison de l'absence de moyens de détection performants. Elle connaît depuis quelques années un regain d'intérêt en raison des progrès réalisés tant au niveau de la qualité des phases stationnaires que de celui de la mise au point d'applicateurs automatiques d'échantillons et de détecteurs performants.

Dans le second chapitre, nous avons présenté les résultats obtenus par l'utilisation de méthodes liquide-liquide et liquide-solide couplées à la détection par spectrométrie infrarouge

à transformée de Fourier, dérivées d'une norme proposée par l'AFNOR dans le cadre du dosage des hydrocarbures totaux dans les eaux.

Etant donné la complexité des interactions entre les matrices et les polluants et devant la nécessité de disposer d'échantillons étalons parfaitement caractérisés, nous avons utilisé des mélanges synthétiques d'hydrocarbures pour effectuer des surcharges de matrices liquides et solides.

Cette méthodologie permet d'accéder aux rendements d'extraction . La fiabilité des rendements obtenus dépend aussi bien de l'efficacité de l'étape d'extraction que de la sensibilité de la détection.

Par rapport aux normes actuelles imposées pour la pollution par les hydrocarbures, la méthode a montré ses limites puisqu'elle ne permet des résultats précis que dans des domaines de concentrations élevées (supérieures à 50 mg/l dans le cas des échantillons aqueux et à 200 mg/kg dans le cas des échantillons solides)

Dans la dernière partie de notre étude , nous avons développé, de manière systématique et approfondie, l'analyse de différents polluants d'origine pétrolière par chromatographie sur couche mince. Un des avantages de cette technique réside dans la possibilité de séparer les mélanges d'hydrocarbures en familles de composés chimiques bien définis.

Pour le dosage quantitatif de ces familles, nous avons utilisé la détection par densitométrie en ultraviolet et en fluorescence en nous basant sur les phénomènes d'exaltation de l'émission de fluorescence par la berbérine en présence d'hydrocarbures à structure partiellement saturée.

Bien que la berbérine ait été utilisée depuis longtemps pour une approche qualitative, peu de travaux concernant une approche quantitative basée sur cette technique ont été relevés dans la littérature.

Notre démarche est d'autant plus novatrice que nous avons réussi à mieux maîtriser tous les paramètres déterminants pour une analyse quantitative :

- les conditions d'imprégnation de la phase stationnaires par la berbérine
- les paramètres instrumentaux (mode de balayage et taille du faisceau incident)

Les résultats obtenus sont en accord avec les données analytiques fournies par les compagnies pétrolières et basées sur d'autres méthodes (chromatographie sur couche mince

couplée au détecteur à ionisation de flamme, et chromatographie liquide haute performance couplée au réfractomètre).

Au niveau des perspectives de poursuite de ce travail, il serait intéressant de coupler cette méthode d'analyse à différentes techniques d'extraction et en particulier le Soxtec, dans le cadre du dosage de polluants dans des matrices solides, la nature de la matrice devant être prise en compte.

Dans un cadre plus général, l'analyse de composés lourds issus du charbon ou du pétrole peut constituer un autre axe de développement de cette méthode d'analyse qui pourrait se substituer à d'autres techniques comme la chromatographie liquide haute performance couplée au réfractomètre qui nécessite des temps d'analyse élevés et pose le problème de la stabilité du détecteur.

L'ensemble des résultats que nous avons présenté dans ce travail correspond à un nombre élevé d'analyses, aussi bien au niveau des extractions liquide-liquide et liquide-solide (un millier) que de celui des chromatogrammes réalisés pour la mise au point de la technique basée sur la CCM (plus de 2000).

**REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

**REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES****A**

- Adlard; E.R. (ed.) *Chromatography in the petroleum industrie*. Amsterdam, Elsevier, 1995
- Alak, A.; Heilweil, E.; Hinze, W.L.; Oh, H.; Armstrong, D.W. *Journal of Liquid Chromatography*, 1984, 7, 1273
- American Society for Testing of Materials : Philadelphia, PA,USA, 1989; *Manual on Hydrocarbon Analysis*, 4th ed by A.W. Drews, p353
- Arston, K. ; Menes, R. ; Widner, H.M. *Chromatographia* 1988, 26, 221.
- Ashraf-Korassani, M.; Taylor, L.T.; Zimmerman, P. *Analytical Chemistry* 1990, 62(11), 1177-1180
- Association Française de Normalisation *Eaux Méthodes d'Essais 4<sup>ème</sup> Edition*, édité par AFNOR Paris, 1990, p. 329

**B**

- Barnabas, I.J. ; Dean, J.R. ; Fowli, I.A. ; Owens, S.P. *Analyst* 1995, 120, 1897-1904.
- Baeyens, W.R.G. *Fluorescence and Phosphorescence of Pharmaceuticals, in Molecular Luminescence Spectroscopy. Methods and Applications: Part 1*. (Ed par P.J. Elving and J.D. Winefordner), Wiley Interscience: New-York, 1985; Chapitre 2.
- Bos, C.J.G.A.; Frijns, J.M.G.J. *Pharmaceutisch Weekblad* 1972, 107, 111
- Brockmann, H.; Volpers, F. 1947 *Zur Kenntnis der chromatographischen Adsorption, II. Mitteil: Ein neues Verfahren zur Trennung farbloser Stoffe*. Ber. 80, 77.
- Burford, M.D. ; Hawthorne, S.B. ; Miller, D.J. *Analytical Chemistry* 1993, 65 (11), 1447-1505.
- Burger, K. *Fresenius 'Z Analytical Chemistry* 1984, 318, 228.
- Buterbaugh, J.S.; Toscano, J.P.; Weaver, W.L.; Gord, J.R.; Hadad, C.M.; Gustafson, T.L.; Platz, M.S. *Journal of American Chemical Society* 1997, 119, 3580.

**C**

Cagniant, D., " Complexation Chromatography "; Chromatographic Science Series, vol.57, Marcel Dekker, Inc., New-York, 1992.

Camel, V.; Tambuté, A.; Caude, M. *Journal of Chromatography* 1993, 642, 263-281

Campbell, R.M. ; Djordjevic, N.M. ; Markides, K.E. ; Lee, M.L. *Analytical Chemistry* 1988, 60, 356-362.

Chee, K.K. ; Wong, M.K. ; Lee, H.K. *Journal of Chromatography A* 1996, 723, 259.

Cossio, F.P.; Arrieta, A.; Cebolla, V.L.; Membrado,L.; Domingo, M.P.; Henrion, P.; Vela J. soumise à *Analytical Chemistry*

Crowther, J.B ; Jonathan, B. ; Henion, J.D. *Analytical Chemistry* 1985, 57, 2711.

**D**

Dean, J.R. *Analytical communications* 1996, 33, 191-192.

Dhole, V.R.; Ghosal, G.K. *Journal of Planar Chromatography-Modern TLC* 1995, 8, 80-81

Di Cesare, N.; Belletête, M.; Raymond, F.; Leclerc, M.; Durocher, G. *Journal of Physical Chemistry A* 1998, 102, 2700.

**E**

Dupeyron, S. ; Dudernl, P.M. ; Couturier , D. *Analysis* 1997, 25 (8), 286-292.

Ebel, S. *Journal of Planar Chromatography-Modern TLC* 1996, 9, 4-15

Eckert-Tilotta, S.E. ; Hawthorne, S.B. ; Miller, D.J. *Fuel* 1993, 72 (7), 1015-1023.

Emery, A.P. ; Chesler, S.N. ; Mc Crehan W.A. *Journal of Chromatography* 1992, 606, 221-228.

Ezzel, J.L.; Richter, B.E.; Felix, W.D.; Black, S.R.; Meikle, J.E. *LC-GC* 1995, 13(5), 390-398

**F**

Fenske, M. *Chromatographia* 1995, 41, 175-177

- Foster, M.L. Jr.; Gonzales, S.E. *Journal of AOAC International* 1992, 75,2, 288-292
- Fried, B.; Sherma, J. *Thin-Layer Chromatography-Techniques and Applications Chromatographic Sciences*, Volume 35, Marcell-Dekker, New-York, 1986
- Frijns, J.M.G.J. *Pharmaceutisch Weekblad* 1971, 106, 865
- Funk, W.; Glük, V.; Schuch, B.; Donnevert, G. *Journal of Planar Chromatography-Modern TLC* 1989, 2, 28-33

## G

- Ganzler, K. ; Bati, J. ; Valko, K.A. *Journal of Chromatography* 1986, 371, 299-306.
- Ganzler, K. ; Salgo, A. *Zeishnift für lebensmittel - Untersuchung und Forschrung* 1987, 184, 274-276.

## H

- Harvey, T.G.; Matheson, T.W.; Pratt, K.C. *Analytical Chemistry* 1984, 56, 1277-1281
- Hasty, E. ; Revesz, R. *American Laboratory* 1995, 27 (4), 66-74.
- Hawthorne, S.B.; Miller, D.J. *Journal of Chromatographic Science* 1986, 24(6), 258-264
- Hawthorne, S.B.; Miller, D.J. *Analytical Chemistry* 1987, 59(13), 1705-1708
- Hawthorne, S.B. ; Miller, D.J. ; Krieger, M.S. *Journal of Chromatographic Science* 1989, 27, 347-354.
- Hawthorne, S.B. ; Miller, D.J. ; Langerfeld, J.J. *Journal of Chromatographic Science* 1990, 28, 2-8.
- Hawthorne, S.B.; Langenfeld, J.J.; Miller, D.J.; Burford, M.D. *Analytical Chemistry* 1992 64(14), 1614-1622
- Hawthorne, S.B.; Miller, D.J.; Langenfeld, J.J.; Eckert-Tilotta, S.; Louie, P.K. *Journal of Chromatography* 1993, 642, 301-317
- Hawthorne, S.B. ; Miller, D.J. ; Hegvick, K.M. *Journal of Chromatographic Science* 1993, 31, 26-30.
- Hawthorne, S.B.; Miller, D.J. *Analytical Chemistry* 1994, 66(22), 4005-4012
- Hedrick, J.L. ; Taylor, L.T. *Analytical Chemistry* 1989, 01, 61, 1986-
- Hedrick, J.L.; Mulcahey, L.J.; Taylor, L.T. *Mikrochimica Acta* 1992, 108, 115-132

Herold, A. *Journal of Planar Chromatography*, 1994, 7, 180-196.

Herold, A.A.; Kandiyoti, R. *Journal of Chromatography A* 1995, 708, 143-160

Ho, S.S.J.; Butler, H.T.; Poole, C.F. *Journal of Chromatography* 1983, 281, 30

Huc, A.; Roucaché, J.G. *Analytical Chemistry* 1981, 53 (6), 914-916.

## I,J

Institute of Petroleum, London, 1992, *Standard Methods for Analysis and Testing of Petroleum and Related Products 1992, Vol.2*

Janda, V.; Bartle, K.D.; Clifford, A.A. *Journal of Chromatography* 1993, 642, 283-299

## K

Kamal, T.; Matsunaga, A. *Analytical Chemistry* 1978, 50, 268-270

Kartnig, T.; Goebel, I.J. *Journal of Chromatography A* 1996, 740, 99-107

Kalasz, H. ; Bathori, M. ; Ettre L.S ; Polyak B. *Journal of Planar Chromatography* 1993, 6, 481.

Kotiaho, T. ; Lauritsen, F.R. ; Choudhury, T.K. ; Cooks, R.G. ; Tsao, G.T. *Analytical Chemistry* 1991, 63, 875 A.

Kubelka, P.; Munk, F. *Zeitschrift fur Technische Physik* 1931, 12, 593

## L

Lafleur, A.L. ; Monchamp, P.A. ; Plummer, E.F.; Wornat M.J. *Analytical Letters* 1987, 20, 1171-1192.

Langefeld, J.J.; Burford, M.D.; Hawthorne, S.B.; Miller, D.J. *Journal of Chromatography* 1992, 594, 297-307

Langefeld, J.J.; Hawthorne, S.B.; Miller, D.J.; Pavliszin, J. *Analytical Chemistry* 1993, 65(4), 338-344

Langefeld, J.J.; Hawthorne, S.B.; Miller, D.J.; Pavliszin, J. *Analytical Chemistry* 1994, 66(6), 909-916

Langefeld, J.J.; Hawthorne, S.B. ; Miller, D.J. *Analytical Chemistry* 1996, 68, 144-155.

- Levy, J.M.; Ravey, R.M.; Houck, R.K.; Ashraf-Khorassani, M. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry* 1992, 334, 517-520
- Lopez-Avila, V.; Benedicto, J.; Dodhiwala, N.S.; Young, R.; Beckert, W. *Journal of Chromatographic Science* 1992, 30, 335-343
- Lopez-Avila, V.; Bauer, K.; Milones, J.; Beckert, N.F. *Journal of AOAC International* 1993, 76 (4), 864-880.
- Lopez-Avila, V.; Young, R.; Beckert, W.F. *Analytical Chemistry* 1994, 66 (7), 1097-1106.
- Lopez-Avila, V.; Young, R.; Benedicto, J.; Ho, P.; Kim, R. *Analytical Chemistry* 1995, 57 (13), 2096-2102.

## M

- Majors, R.E. *LC-GC International* 1996, 9 (10), 638-648.
- Mamlock, L. *Journal of Chromatographic Science* 1981, 19, 53.
- Marsh, C. M.; Hlekane, C.J. *Journal of Planar Chromatography* 1991, 4, 293-298.
- Membrado, G.; Vela, J.; Ferrando, A.C.; Cebolla, V. *Energy and Fuels* 1996, 10, 1005-1011.
- Miller, J.M.; Phillips, D.L.; Thornburn Burns, D.; Bridges, J.W. *Analytical Chemistry* 1978, 50, 613-616
- Miller, D.J.; Hawthorne, S.B.; Mc Nally, M.E.P. *Analytical Chemistry* 1993, 65(8), 1038-1042
- Monin, J.C.; Barth, D.; Perrut, M.; Espitalié, M.; Durand, B. *Organic Geochemistry* 1988, 13 (4-6), 1079-1086.

## N,P

- Noble, D. *Analytical Chemistry* 1993, 65, 693 A.
- Page, B.; Lacroix, G. *Journal of Chromatography* 1993, 648, 199-211.
- Parusel, A.B.J.; Schamschule, R.; Piorun, D.; Rechthaler, K.; Puchala, A.; Rasala, K.; Rotkiewicz, K.; Köhler, G. *Journal of Molecular Structures (THEOCHEM)* 1997, 419, 63.
- Pastor A.; Vazquez E.; Ciscar, R.; Delaguardia, M. *Analytica Chimica Acta*. 1997, 344 (3), 241-249.

- Poole, C.F. *Quantitative Analysis Using Chromatographic Techniques*, ed par E. Katz; J. Wiley and Sons: New-York, 1987, chapitre 6.
- Poole, C.F. ; Poole, S.K. *Journal of Chromatography A* 1995, 703, 573-612
- Popp, P.; Keil, P.; Moder, M.; Paschke, A.; Thuss, U. *Journal of Chromatography* 1997, 774 (1-2), 203-211.
- Potter, D., Pawliszyn, J. *Environemental Sciences and Technology* 1994, 28, 298-305.
- Pratt, K.H. ; Pawliszyn, J. *Analytical Chemistry* 1992, 64, 2101-2110.

## R

- Ranny, M. *Thin-Layer chromatography with flame ioniztaion detection*, D. Reidel Publishing company, Dordrecht, 1987, pp. 1-198.
- Rao, G.A ; Riley, D.E. ; Larkin, E.C. *Lipids* 1985, 20, 531.
- Reindl, S.; Höfler, F.; *Analytical Chemistry* 1994, 66(11), 1808-1816
- Renoe, B.N. ; *American Laboratory* 1994, 26 (8), 34-40.
- Richter, B.E.; Ezzel, J.L.; Felix, D.; Robberts, K.A.; Later, D.W. *International Laboratory* 1995, 5, 18-20
- Richter, B.E.; Jones, B.A.; Ezzel, J.L.; Porter, N.L. *Analytical Chemistry* 1996, 68(6), 1033-1039

## S

- Saim, N. ; Dean, J.R. ; Adullah , M.P. ; Zakaria, Z. *Journal of Chromatography* 1997, 791 (1-2), 361-366.
- Saim, N.; Dean, J.R.; Abdullah, M.P.; Zakaria, Z *Analytical Chemistry* 1998, 70, 420-424
- Shanta, N.C. *Journal of Chromatography* 1992, 624, 21-35.
- Sherma, J.; Fried, B. *Handbook of Thin Layer Chromatography*, Marcel Dekker, New-York, 1991

## T-Z

- Tanaka, M.; Itoh, T.; Kaneko, H.; Kato, O.; Ishii, J.; Yu, R.K.; Ogawa, T.; Kawanishi, P. *Oral presentation at the 20th annual meeting of the japanese oil chemist's society, 1981* English Translation, NHA. 1981
- Uchiyama, S.; Uchiyama, M. *Journal of Chromatography* 1978, 153, 135-142
- Uchiyama, S.; Uchiyama, M. *Journal of Liquid Chromatography* 1980, 3, 681-691
- Vela, J.; Cebolla, V.L.; Membrado, L.; Andrés, J.M. *Journal of Chromatographic Science* 1995, 33, 417-425
- Wang, Y.Y.; Yen, T.F. *Journal of Planar Chromatography* 1990, 3, 376-380
- Weins, C. ; Hauck, H.E. *LC-GC International* 1996, 9 (11), 710.
- Wheeler, J.R. ; Mc Nally, M.E. *Journal of Chromatographic Science* 1989, 27, 534-539.
- Yang, M.J. ; Harms, S. ; Luo, Y.Z. ; Pawliszyn, J. *Analytical Chemistry* 1994, 66, 1339-1346.
- Zhang, Z. ; Pawliszyn, J. *Analytical Chemistry* 1993, 65, 1843-1852.
- Zhang, Z. ; Pawliszyn, J. *Journal of High Resolution of Chromatography* 1993, 16, 689-692.

## **RESUME**

**Mots clefs : Pollution - Hydrocarbures - Extraction liquide/liquide - Extraction liquide/solide - Spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier - Chromatographie sur couche mince - Détection UV - Fluorescence - Berbérine.**

Le but de ce travail est d'étudier et de mettre au point des méthodes d'analyses simples, rapides et fiables, permettant de doser les hydrocarbures dans des échantillons solides ou aqueux.

Dans un premier temps, nous avons étudié des techniques basées sur l'extraction liquide-liquide et liquide-solide des hydrocarbures, couplées à la détection par spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier. Nous avons montré que cette méthode n'était performante que pour des échantillons solides dont la concentration en hydrocarbures dépasse 200 mg/kg et pour des échantillons liquides dont la concentration est supérieure à 50 mg/l. En dessous de ces valeurs, les rendements d'extraction sont faibles.

De plus, l'IRTF nécessite l'emploi de solvants n'interférant pas sur les mesures et ces solvants, chlorés et fluorés, sont généralement toxiques ou représentent un danger pour l'environnement.

Par la suite, nous avons étudié l'extraction liquide-solide au Soxhlet avec un dosage des hydrocarbures par gravimétrie. Cette méthode a permis d'obtenir des rendements supérieurs à 80 % mais avec une répétabilité relativement faible. Cela est essentiellement dû au séchage des extraits qui peut entraîner la perte des composés les plus volatils.

Enfin, nous avons développé une méthode de dosage basée sur la séparation des hydrocarbures en familles chimiques par chromatographie sur couche mince couplée à la détection en UV et en fluorescence. Grâce à l'exaltation de la fluorescence émise par la berbérine, en présence de composés à structure partiellement saturée, nous avons pu doser ces composés dans des dérivés pétroliers. Nous avons également dosé les composés aromatiques, en UV et en fluorescence. Les résultats que nous avons obtenus sont similaires à ceux obtenus par d'autres techniques (CLHP, gravimétrie, Iatroscan).

Ainsi, cette méthode de dosage se présente comme une alternative intéressante à l'IRTF pour la détection et la quantification des hydrocarbures extraits d'échantillons solides ou aqueux, d'autant plus qu'elle ne restreint pas le choix des solvants.

## SUMMARY

**Keywords : Pollution - Hydrocarbons - Liquid/liquid extraction - Liquid/solid extraction - Fourier transform infrared spectrometry - Thin layer chromatography - UV détection- Fluorescence - Berbérin.**

The subject of this work is to study and develop easy, fast and reliable analytical techniques for the determination of hydrocarbons in soil and water.

We first studied techniques based on liquid/liquid and liquid /solid extractions coupled to Fourier transform infrared spectrometry detection. We showed that this method was effective only for samples with hydrocarbons concentration above 200 mg/kg in the case of solids and 50 mg/l in the case of liquids. Below these values, the extraction recovery was poor.

Moreover, FTIR needs the use of non interfering solvents, chlorinated and fluorinated solvents, generally toxic and dangerous for the environment.

In a second part, we studied Soxtec liquid/solid extraction with gravimetric determination of hydrocarbons. We obtained good recoveries, generally above 80 % but with low repeatabilities. This fact is due to the extract's drying that entails the loss of volatile compounds.

Finally, we developed a determination method based on hydrocarbon's separation in chemical families by thin layer chromatography with UV/fluorescence scanning densitometry. Owing to the enhancement of berberin's fluorescence, in presence of saturated compounds, we determined these compounds in petroleum's derivatives. We determined aromatics too, by UV and fluorescence. We obtained results very similar to those obtained with other techniques (HPLC, gravimetry, iatrosan).

This determination method is an interesting alternative to FTIR for determination and quantification of hydrocarbons extracted from soil and water, moreover it doesn't restrain solvent's choice.