

N° D'ORDRE : 2405

UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNOLOGIES DE LILLE

THESE

présentée en vue de l'obtention du titre de

DOCTEUR

de l'Université des Sciences et Technologies de Lille
mention : Sciences

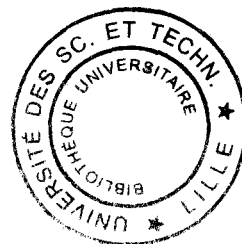
Spécialité : Chimie Organique et Macromoléculaire

ANALYSE MULTI-RESIDUS DE MICROPOLLUANTS ORGANIQUES EN TRACES – COMPARATIF ET ADAPTATION A L'ETUDE DES SOLS POLLUES

APPORT DE LA METHODE DE BALAYAGE PAR SPECTROMETRIE DE MASSE

par

Stéphane DUPEYRON



Soutenu le 9 décembre 1998, devant la commission d'examen

M. D. COUTURIER	Professeur à l'Université des Sciences et Technologies de Lille	Directeur de thèse
M. P. GARRIGUES	Directeur de Recherche à l'Université de Bordeaux 1	Rapporteur
M. M. LAFOSSE	Professeur à l'Université d'Orléans	Rapporteur
M. F. WALLART	Professeur à l'Université des Sciences et Technologies de Lille	
M. J.M. DELATTRE	Chef de service à l'Institut Pasteur de Lille	
M. P.M. DUDERMEL	Chef de laboratoire à l'Institut Pasteur de Lille	

Travaux réalisés dans le cadre d'une collaboration de trois ans avec l'Institut Pasteur de Lille

*A ma famille,
et à ceux qui me sont chers*

Les travaux présentés dans ce mémoire ont été réalisés au sein du Laboratoire d'Analyse des Micropolluants Organiques du Service des Eaux et Environnement de l'Institut Pasteur de Lille.

Ce projet n'aurait pas pu être mené à terme sans une étroite collaboration avec le Laboratoire d'Ingénierie Moléculaire de l'Université des Sciences et Technologies de Lille.

Je tiens à remercier Monsieur le Professeur D. Couturier, Directeur du Laboratoire d'Ingénierie Moléculaire, d'avoir accepté de présider la commission d'examen. Je le remercie également pour avoir assuré la direction de cette thèse et pour l'autonomie qu'il m'a laissé pour mener à bien ces recherches.

Je suis très sensible à l'honneur que me fait Monsieur le Professeur M. Lafosse, de l'Université d'Orléans, en acceptant d'être rapporteur et membre du jury malgré ses nombreuses obligations.

J'adresse mes remerciements à Monsieur le Professeur P. Garrigues, Directeur de Recherche CNRS à l'Université de Bordeaux 1, qui a bien voulu se déplacer jusqu'à Lille pour juger ce travail et siéger au jury.

Monsieur F. Wallart, Professeur à l'Université des Sciences et Technologies de Lille, a accepté de participer à la soutenance de cette thèse. Qu'il trouve ici l'expression de ma gratitude.

Ma reconnaissance s'adresse tout particulièrement à Monsieur P.M. Dudermel, Responsable du Laboratoire d'Analyse des Micropolluants Organiques de l'Institut Pasteur de Lille, membre de la commission d'examen, dont les conseils avisés m'ont beaucoup apporté pour l'avancement de l'étude. Au cours de ces années, j'ai pu apprécier toute son expérience dans ce domaine, ses conseils ainsi que son sens de l'humour.

Je remercie très sincèrement Monsieur J.M. Delattre, Responsable du Service des Eaux et Environnement, pour sa participation au sein du jury et pour son accueil au sein de ses équipes.

Que Monsieur le Professeur A. Capron, Directeur de l'Institut Pasteur de Lille, soit assuré de mes remerciements pour la confiance qu'il a pu me porter en me permettant d'intégrer une équipe dynamique et volontaire.

Je remercie également le FEDER (Fonds européens de développement régional) qui a subventionné l'acquisition de matériels, contribuant ainsi à la réalisation de ces travaux.

Je tiens finalement à dire un grand merci à tout le personnel du Service des Eaux et Environnement, pour son accueil et sa gentillesse. Plus particulièrement, je remercie l'équipe du laboratoire de "chromato" avec qui j'ai partagé les crises de fous rires mais aussi les permanents "coups de bourre". Je n'oublierai pas non plus mes dépannages informatiques "de la dernière chance", mon initiation quotidienne aux joies du ch'ti et les autres moments plus ou moins heureux qui ont pimenté toutes ces années.

**ANALYSE MULTI-RESIDUS DE MICROPOLLUANTS ORGANIQUES EN TRACES –
COMPARATIF ET ADAPTATION A L'ETUDE DES SOLS POLLUES**

APPORT DE LA METHODE DE BALAYAGE PAR SPECTROMETRIE DE MASSE

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION.....	1
PROBLÉMATIQUE LIÉE À L'ÉTUDE DES SOLS.....	3
CHAPITRE I : LES MICROPOLLUANTS ORGANIQUES DANS LES SOLS.....	3
1. Présentation du compartiment sol	3
1.1. Phénomènes de dispersion.....	4
1.2. Phénomène de volatilisation.....	4
1.3. Conclusion.....	4
2. Evolution des matières organiques naturelles dans le sol	5
2.1. Processus de transformation.....	5
2.1.1. Minéralisation primaire	5
2.1.2. Humification.....	5
2.1.3. Minéralisation secondaire.....	6
2.2. Fractionnement par voie chimique des composés humifiés.....	6
3. Phénomène de sorption des micropolluants organiques dans le sol : adsorption - absorption - désorption	8
3.1. Définitions.....	8
3.2. Influence de la matière organique humifiée	9
3.3. Transfert de masse au sein de la MO et d'une particule minérale	10
3.4. Mécanismes.....	10
3.4.1. Pénétration dans la matière organique.....	11
3.4.2. Chimisorption	11
3.4.2.1. Réactions avec la MO	11
3.4.2.2. Réactions avec les sites des surfaces minérales	11
3.5. Réversibilité de l'adsorption	12
4. Devenir des micropolluants organiques dans le sol	13
5. Conclusion.....	14

EVALUATION ET SÉLECTION DE MÉTHODES D'EXTRACTION..... 15

CHAPITRE II : EXTRACTION DE SOLS CONTAMINÉS EN HPA ET PHÉNOLS : APPORT DE L'EXTRACTION SOUS CHAMP MICRO-ONDES FOCALISÉES, DE L'EXTRACTION EN PHASE SUPERCRITIQUE ET DE L'EXTRACTION SUBCRITIQUE PAR SOLVANT VIS-À-VIS DES TECHNIQUES CONVENTIONNELLES SOXHLET ET ULTRASONS..... 15

1. Introduction	15
2. Presentation des nouvelles techniques d'extraction utilisées : Theories et principes	20
2.1. Micro-ondes focalisées (MOF).....	20
2.2. Extraction en Phase Supercritique (EPS)	25
2.2.1. Introduction.....	25
2.2.2. Principe de l'EPS	26
2.2.2.1. Propriétés des fluides supercritiques	26
2.2.2.2. Pouvoir solvant.....	28
2.2.2.3. Choix d'un fluide supercritique	29
2.2.2.4. Modificateurs polaires.....	31
2.2.3. Techniques d'extraction	33
2.2.3.1. Appareillage - techniques off-line / on-line	33
2.2.3.2. Modes d'extraction	35
2.2.3.3. Volumes morts	35
2.2.3.4. Interférences	35
2.2.3.4.1. Impuretés	35
2.2.3.4.2. Colmatage.....	36
2.2.3.4.3. Soufre	36
2.2.4. Matrice.....	37
2.2.4.1. Nature et taille de l'échantillon.....	37
2.2.4.2. Matrices dopées / matrices naturellement contaminées	37
2.2.4.3. Effets de matrices	38
2.2.5. Influence de la température sur les rendements d'extraction	39
2.2.5.1. Volatilisation	40
2.2.5.2. Cinétique de désorption.....	40
2.2.5.3. Effets observés	40
2.2.5.4. EPS / Soxhlet.....	41
2.2.5.5. Combinaison température élevée / modificateur polaire	41
2.3. Extraction Subcritique par Solvant (ESS).....	41
3. Procédure analytique	42
3.1. Réactifs et solutions étalons	42

3.2. Conditionnement de l'échantillon.....	43
3.3. Méthodes d'extraction	44
3.3.1. Soxhlet.....	44
3.3.2. UltraSons	44
3.3.3. Extraction sous champ Micro-Ondes Focalisées.....	44
3.3.4. Extraction en Phase Supercritique.....	45
3.3.5. Extraction Subcritique par Solvant.....	46
3.4. Concentration de l'extrait	46
3.5. Acétylation	47
3.6. Analyse.....	48
3.7. Validation de la méthode analytique utilisée pour l'évaluation des procédures d'extraction.....	49
3.7.1. Linéarité.....	49
3.7.2. Limite de détection	49
3.7.2.1. Définition normalisée.....	49
3.7.2.2. Définition utilisée.....	50
3.7.3. Limite de quantification.....	51
3.7.4. Répétabilité et reproductibilité	52
3.7.5. Précautions particulières lors des analyses	52
4. Résultats et discussion.....	53
4.1. Sol réellement contaminé	53
4.1.1. Influence du solvant d'extraction et de la teneur en eau (du système) sur l'efficacité des micro-ondes focalisées.....	53
4.1.1.1. Dichlorométhane	53
4.1.1.2. Mélange DCM/acétone	54
4.1.1.3. Comparaison DCM et DCM/acétone	55
4.1.1.4. Conclusion	58
4.1.2. Etude préliminaire sur l'ESS.....	58
4.1.3. Apport des techniques MOF, EPS, ESS vis-à-vis des techniques conventionnelles (Soxhlet, ultrasons).....	63
4.1.3.1. Comparaison entre l'extraction MOF et les techniques Soxhlet et Ultrasons	64
4.1.3.2. Comparaison entre l'EPS et les techniques Soxhlet et Ultrasons.....	65
4.1.3.3. Comparaison entre l'ESS et les techniques Soxhlet et Ultrasons.....	67
4.1.3.4. Choix de la méthode d'extraction.....	67
4.1.3.5. Conclusion	69
4.2. Sol dopé.....	70
4.2.1. Procédure de dopage.....	70
4.2.2. Evaluation de l'étape de concentration	71
4.2.3. Evaluation de l'EPS et de l'ESS.....	71
5. Conclusion.....	74

DESCRIPTION DU BALAYAGE PAR SPECTROMÉTRIE DE MASSE..... 75

CHAPITRE III : ANALYSE MULTI-RÉSIDUS - MÉTHODE DE BALAYAGE PAR SPECTROMÉTRIE DE MASSE..... 75

1. Principe du balayage par spectrométrie de masse (Evaluation d'un outil analytique en vue d'un balayage chromatographique).....	75
1.1. Analyte connu.....	76
1.2. Analyte inconnu.....	76
2. étude des paramètres d'acquisition	78
2.1. Influence du paramètre nombre de scan par seconde lors de l'acquisition en GC/MS ionisation par impact électronique en mode fullscan	78
2.1.1. Problématique	78
2.1.2. Domaine spectral	79
2.1.3. Nombre de scan.s ⁻¹	82
2.1.3.1. Hydrocarbures aliphatiques.....	82
2.1.3.2. Chlorophénols	84
2.1.4. Conclusion	86
2.2. Conditions chromatographiques.....	86
3. Evaluation de l'analyse qualitative et semi-quantitative	86
3.1. Choix des étalons internes	86
3.2. Limites d'identification.....	88
3.3. Evolution des temps de rétention relatifs (éléments complémentaires d'aide à l'identification).....	90
3.4. Approche semi-quantitative.....	96
3.4.1. Etalonnage interne - zone d'influence des étalons internes	96
3.4.2. Facteur de réponse	98
3.4.3. Facteur d'estimation.....	99
3.4.4. Conclusion	100
4. Etude de l'étape de concentration	100
4.1. Choix du mode de concentration.....	100
4.1.1. Mode opératoire.....	100
4.1.2. Résultats et discussion	102
4.2. Ajout des étalons internes.....	103
5. Détermination du protocole global de la méthode d'analyse de balayage par spectrométrie de masse	103

EVALUATION ET APPLICATION À L'ÉTUDE DE SOLS..... 111

CHAPITRE IV : MISE EN ŒUVRE D'UN OUTIL D'OPTIMISATION : ÉTUDE DU PROTOCOLE D'EXTRACTION DE LA PROCÉDURE DE BALAYAGE PAR SPECTROMÉTRIE DE MASSE À L'AIDE DE LA MÉTHODE SIMPLEX.....111

1. Présentation de l'outil d'optimisation	111
1.1. Méthodes d'optimisation	111
1.1.1. Choix de la méthode d'optimisation	111
1.1.2. Description de la méthode Simplex.....	113
1.1.2.1. Calcul du point symétrique	114
1.1.2.2. Expansion.....	115
1.1.2.3. Symétrie	115
1.1.2.4. Contraction positive	115
1.1.2.5. Contraction négative	117
1.1.2.6. Arrêt de l'optimisation.....	119
1.2. Coefficient d'optimisation	119
2. Optimisation des conditions d'extraction sur sol Dopé.....	120
2.1. Réseau initial	120
2.2. Résultats et discussion.....	122
2.3. Conclusion.....	127
3. Optimisation des conditions d'extraction sur sol réellement contaminé	127
3.1. Réseau initial	127
3.2. Résultats et discussion.....	128
3.3. Conclusion.....	135
4. Application de la méthode de balayage par spectrométrie de masse à des échantillons réellement contaminés	135
4.1. Conditions expérimentales	135
4.2. Résultats et discussion.....	136
4.3. Conclusion.....	141
5 Limitations de la méthode de balayage par spectrométrie de masse.....	141
5.1. Echantillonnage	141
5.2. Domaine d'application de la CPG	142
5.3. Protocole expérimental.....	143
5.4. Procédure de traitement des données chromatographiques.....	143
5.5. Conclusion.....	145

CONCLUSION.....	147
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	151
ANNEXES	165
ANNEXE 1 : CALCULS DU COUT D'UTILISATION PAR ECHANTILLON.....	165
ANNEXE 2 : SPECTRES DE MASSE DES ETALONS INTERNES DEUTERES	167
ANNEXE 3 : PROGRAMME RELATIF A LA METHODE D'OPTIMISATION SIMPLEX A PAS VARIABLE DEVELOPPEE PAR NELDER & MEAD.....	169
ANNEXE 4 : CALCULS DES COORDONNEES DU POINT DE SYMETRIE EN COORDONNEES REDUITES ET REELLES.....	175
ANNEXE 5 : CALCUL DU NOMBRE DE COMPOSES EXTRAITS (CRITERE N) POUR LA DETERMINATION DU COEFFICIENT D'OPTIMISATION (CO).....	177
ANNEXE 6 : CHROMATOGRAMMES TIC ET DES ETALONS INTERNES ISSUS DES ANALYSES DES ECHANTILLONS DE SOLS N°3 ET N°5	179
LISTE DES ABRÉVIATIONS	181

PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS SUR CES TRAVAUX

Publications

➤ Extraction sous champ micro-ondes focalisées d'hydrocarbures aromatiques polycycliques issus de sols contaminés : rôle de l'acétone et impact de la teneur en eau sur l'efficacité des micro-ondes.

S. DUPEYRON, P.M. DUDERMEL, D. COUTURIER

Analisis, 1997, 25, 286-292.

➤ Extraction de sols contaminés en HPA : apport de l'extraction sous champ micro-ondes focalisées, de l'extraction en phase supercritique et de l'extraction subcritique par solvant vis à vis des techniques conventionnelles Soxhlet et ultrasons.

S. DUPEYRON, P.M. DUDERMEL, D. COUTURIER

Guide de l'Echantillonnage et de la Préparation d'Echantillons, *PREP Conférence 98*, 1998, 39-50.

➤ Extraction of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from soil : a comparison between Focused Microwave Assisted Extraction, Supercritical Fluid Extraction, Subcritical Solvent Extraction, sonication and Soxhlet techniques.

S. DUPEYRON, P.M. DUDERMEL, D. COUTURIER, P. GUARINI, J.M. DELATTRE

Soumis à *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*.

➤ Méthode Simplex : description et adaptation d'un outil d'optimisation rapide et performant aux analyses de micropolluants organiques présents dans les sols.

S. DUPEYRON, P.M. DUDERMEL, D. COUTURIER

Soumis à publication.

➤ GC/MS screening contribution to the monitoring of organic micropollutants in contaminated soil. Description and interest in environmental assessment.

P.M. DUDERMEL, S. DUPEYRON, D. COUTURIER

En cours de rédaction.

Communications

✓ "Extraction de sols contaminés en HPA : apport de l'extraction sous champ micro-ondes focalisées, de l'extraction en phase supercritique et de l'extraction subcritique par solvant vis à vis des techniques conventionnelles soxhlet et ultrasons."

S. DUPEYRON, P.M. DUDERMEL, D. COUTURIER

PREP Conférence 98, 10-11 juin, 1998, Paris, France.

✓ "Soil pollution - mass spectrometry contribution in qualitative and quantitative approaches."

P.M. DUDERMEL, S. DUPEYRON, D. COUTURIER

Consoil '98, Sixth International FZK/TNO Conference on Contaminated Soil, May 17-21, 1998, Edinburgh, UK.

INTRODUCTION

INTRODUCTION

La prise de conscience, depuis quelques années, de l'interaction multi-compartimentale des micropolluants organiques et notamment de leur possible stockage, transformation ou transfert, ont poussé les laboratoires de surveillance environnementaux à élargir leurs champs d'action et ainsi, à s'intéresser aux éventuelles pollutions de sols ou de sédiments [Goss K.U. 1993, Lin T.F. *et al.* 1994, Witt G. 1995, Salkinoja-Salonen M. *et al.* 1995, Herbes S.E. et Schwall L.R. 1978].

La contamination des sols par ces composés n'a pas toujours un impact aussi direct, sur l'environnement et sur l'homme, que celle des eaux ou de l'air. En effet, ce type de pollution engendre des risques liés à la présence et au devenir de ces molécules dans les sols. Le caractère ubiquiste de certains xénobiotiques vient renforcer cette constatation. Ceci soulève des problèmes d'une part, de protection des nappes phréatiques et d'autre part, de réhabilitation des sites contaminés. De plus, les répercussions sur la chaîne trophique ne doivent pas être négligées [Pye V.I. et Patrick R. 1983, Heuvel J.P.V. et Lucier G. 1993, Golub M.S. *et al.* 1991, Reijnders P.J.H. 1986, Barron M.G. 1990, Davies R.P. et Dobbs A.J. 1984, Trapp S. 1990].

Par ailleurs, les informations concernant les sols et sites industriels pollués sont encore imprécises.

L'utilisation de nombreuses méthodes d'analyse spécifiques ne donne pas nécessairement une vision globale de la nature des contaminants et entraîne une augmentation significative du coût analytique incompatible avec les impératifs de l'étude d'un site pollué (nombre important d'échantillons à traiter, remise des résultats rapide). Effectivement, il est souvent nécessaire d'établir des méthodes dédiées pour l'identification et la quantification de composés particuliers. Ainsi, la détermination multi-élémentaire pour les métaux dans les sols est fréquente alors que celle pour les micropolluants organiques est plus rare.

De plus, les méthodes d'analyses relatives à la détermination des composés organiques dans les sols, sont encore sujettes à discussion et/ou à perfectionnement.

Des normes commencent à voir le jour dans ce domaine et une législation tente de se mettre en place au niveau européen, afin de fixer notamment des valeurs limites de contamination acceptables.

L'urgence que revêt l'élaboration d'un outil analytique d'aide à la décision en matière de pollution organique, permettant un balayage (le plus large possible) des micropolluants organiques présents dans les sols, se fait de plus en plus ressentir.

L'objectif principal de cette étude est d'édifier une stratégie globale de recherche rapide des principaux composés organiques détectables dans les sols et considérés comme majeurs. Cette méthode de balayage par spectrométrie de masse doit faire appel à une technique d'extraction qui offre la possibilité d'isoler une grande variété de composés. La séparation et l'identification sont réalisées en chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse quadripolaire.

Ces travaux s'inscrivent dans le cadre d'une étroite collaboration entre le Laboratoire d'Analyse des Micropolluants Organiques de l'Institut Pasteur de Lille et le Laboratoire d'Ingénierie Moléculaire de l'Université des Sciences et Techniques de Lille.

La première partie de ce mémoire présente les mécanismes régissant les interactions entre les composés organiques et le sol et tente de mettre en avant les difficultés rencontrées lors de l'extraction de matrice très complexe.

Une étude bibliographique est ensuite menée sur trois techniques d'extraction qui subissent un fort développement ces dernières années : l'extraction sous champ micro-ondes focalisées, l'extraction en phase supercritique et l'extraction subcritique par solvant. L'approche théorique des différents phénomènes physico-chimiques rencontrés est aussi abordée.

Lors des essais préliminaires relatifs à l'extraction sous champ micro-ondes focalisées, les rôles respectifs de l'acétone au sein d'un mélange extractant dichlorométhane/acétone et de la teneur en eau du système extrait, sont examinés pour améliorer l'efficacité des micro-ondes.

La conception de la méthode de balayage porte dans un premier temps sur deux classes de composés : les Hydrocarbures Polycycliques Aromatiques et les Phénols. Par la suite, son champ d'application sera élargi à d'autres classes de composés organiques.

Après l'évaluation et la comparaison des différentes techniques d'extraction existantes (citées précédemment) avec les méthodes conventionnelles Soxhlet et ultrasons, l'une d'entre elles est sélectionnée pour être intégrée dans la procédure analytique de balayage.

L'élaboration du protocole expérimental ainsi que la mise en place de l'outil d'analyse sont ensuite étudiées. Une procédure d'acquisition et de traitement des données chromatographiques est développée. La définition d'un protocole expérimental pour la méthode de balayage par spectrométrie de masse est exposée.

Enfin, l'utilisation d'un outil d'optimisation permet de fixer les paramètres expérimentaux de l'étape d'extraction, de mettre en évidence et de préciser les limites de la méthode élaborée. Par ailleurs, les spécificités de l'étude d'une matrice environnementale complexe, de constitution variable et indéfinie, combinées à celles de la méthode de balayage, impliquent d'adapter cet outil d'optimisation.

PROBLEMATIQUE LIEE A L'ETUDE DES SOLS

CHAPITRE I

LES MICROPOLLUANTS ORGANIQUES DANS LES SOLS

La gestion des risques d'exposition à une pollution concernant les nappes phréatiques et plus généralement le réseau aquifère, est en partie liée au devenir des micropolluants organiques dans les sols. Ce compartiment environnemental est en perpétuel interaction avec les autres compartiments (eau, air) par divers processus : volatilisation, érosion, ruissellement, lessivage, etc. La perturbation d'une de ses propriétés peut avoir de graves incidences sur l'homme en nuisant directement ou indirectement à la qualité de ses ressources naturelles. Par conséquent, les spécificités d'un sol font partie intégrante des critères permettant d'évaluer la vulnérabilité d'un site.

Cependant, un sol est une matrice très hétérogène et ses caractéristiques physico-chimiques sont sujettes à des variations spatiales. Il en résulte des difficultés pour obtenir un prélèvement de sol représentatif lors d'un échantillonnage. L'étude de cette matrice se révèle complexe et soulève bien d'autres problèmes notamment analytiques. Ainsi, les méthodes de dosage incluent nécessairement une étape d'extraction dont le rôle principal est de briser les liaisons existant entre les composés recherchés et les sites actifs de la matrice, afin d'isoler les analytes en solution. La compréhension des mécanismes qui régissent ces interactions, est indispensable.

Aussi, il semble impératif de bien définir cette matrice et d'envisager les différentes relations qu'elle peut engager avec les composés organiques.

1. PRESENTATION DU COMPARTIMENT SOL

Le sol est un compartiment environnemental comportant trois fractions : solide, liquide (ou solution du sol) et gazeuse (ou atmosphère du sol). La fraction solide présente la plus importante contribution en volume (52 %) par rapport à la solution (26 %) et à l'atmosphère du sol (22 %) [Soltner D. 1994].

Deux classes de constituants se distinguent dans la fraction solide (ou insoluble dans l'eau) :

- les constituants minéraux provenant essentiellement de l'altération de la roche du sous-sol : sables (> 50 μm), limons (entre 2 et 50 μm), argiles (< 2 μm),
- les constituants organiques (matières organiques) provenant principalement des organismes animaux et végétaux vivants sur et dans le sol.

La solution du sol comprend l'eau du sol (issue des pluies, du ruissellement, etc.), les substances organiques dissoutes telles que sucres, alcools, acides organiques, et les substances minérales dissoutes (ions Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , PO_4^{3-} , SO_4^{2-} , CO_3^{2-} , NO_3^- , etc.).

L'atmosphère du sol contenue dans les cavités comprend les constituants de l'air extérieur (azote, oxygène, gaz carbonique) et les gaz issus de l'activité biologique telle que la respiration des micro-organismes et la décomposition de la matière organique (gaz carbonique, hydrogène, méthane, etc.).

La texture et la structure d'un sol caractérisent un type de sol et déterminent la taille des pores ainsi que leur distribution au sein du sol. Elles sont des facteurs déterminants du comportement des micropolluants organiques dans un sol. En effet, les trois fractions interagissent et sont l'objet d'échanges dominés par divers phénomènes physico-chimiques.

1.1. Phénomènes de dispersion

Les dispersions (longitudinale ou transversale) de composés organiques dans le sol correspondent à l'apparition d'un faisceau de contamination à partir d'un point d'entrée.

Elles sont grandement tributaires de la structure du sol (porosité), des activités biologiques (trous, galeries) et végétales (développement des racines entraînant des craquèlements), mais pratiquement pas des propriétés du composé.

Elles sont provoquées par la variation de vitesse de la solution du sol entre et au sein des pores. Ainsi, le mouvement de la solution du sol dépend de la taille des pores. Il peut être quasiment nul dans les éléments de structure.

Dans des conditions climatiques modérées, le phénomène de diffusion est considéré comme négligeable face à celui de dispersion.

1.2. Phénomène de volatilisation

La taille des pores, associée à la présence de l'atmosphère du sol, conditionne aussi la volatilisation des composés organiques. Il en est de même pour l'humidité, les régimes de température du sol ainsi que les propriétés du soluté.

Un sol caractérisé par une texture à fines particules (sol argileux) dispose d'une faible porosité remplie d'air. Les transferts des gaz vers l'atmosphère ou vers les eaux souterraines sont plus lents que ceux effectifs dans un sol de type sableux.

Le coefficient d'Henri (H) permet de traduire la tendance d'un composé à passer de la solution du sol vers l'atmosphère du sol [Loch J.P.G. 1991] :

$$H = 0,12 \times \frac{P \times p_m}{T \times S} \quad (1)$$

avec :

P : pression de vapeur saturante du composé pure (Pa),

p_m : poids moléculaire du composé,

T : température (K),

S : solubilité dans l'eau (mg.L^{-1}).

Pour un composé, une forte valeur de H traduit une aptitude à la volatilisation. Il faut remarquer qu'une faible pression de vapeur saturante peut impliquer une volatilisation élevée, si la solubilité dans l'eau est très faible (cas de l'hexachlorobenzène).

1.3. Conclusion

Les phénomènes de transformations biologiques ou abiotiques et d'adsorptions des micropolluants organiques au sein du sol viennent retarder les phénomènes de dispersion et de volatilisation en entrant en compétition avec eux.

Si la dispersion et la volatilisation sont à l'origine du transport des micropolluants et présentent des risques pour le réseau aquifère et l'atmosphère d'un site pollué, l'adsorption n'est

pas sans poser problème quant aux risques encourus au niveau du sol lui-même, par le biais de l'accumulation des matières actives.

2. EVOLUTION DES MATIERES ORGANIQUES NATURELLES DANS LE SOL

2.1. Processus de transformation

Au sein d'un sol, les matières organiques (MO) subissent diverses étapes de transformation. Elles peuvent être classées en trois catégories selon leur degré de dégradation :

- les matières organiques fraîches qui proviennent essentiellement des débris de végétaux et d'animaux. Ce sont de très grosses molécules sensiblement proches des tissus vivants dont elles sont issues (feuilles, racines, micro-organismes, engrais organiques, etc.). Elles comprennent des sels minéraux, des substances hydrocarbonées (composées de C, O, H telles que sucres solubles, cellulose, amidon, matières grasses, résines, lignine, etc.) et des matières azotées (principalement des protéines),

- les produits transitoires qui sont les constituants organiques en cours de décomposition (alcools, composés phénoliques solubles, acides organiques, lignine, polypeptides, acides aminés, protéines, etc.). Divers auteurs ont proposé des mécanismes de dégradation qui conduisent à la formation de métabolites plus polaires que les composés parents [Cerniglia C.E. *et al.* 1980(a), Atlas R.M. et Cerniglia C.E. 1995, Dean-Ross D. et Cerniglia C.E. 1996],

- les composés humiques issus principalement de la matière organique végétale humifiée (acides créniques, acides hymatomélaniques, acides fulviques, acides humiques, humines). Ils forment l'humus.

La transformation des matières organiques dans les sols (figure 1) peut être subdivisée en trois étapes principales [Duchaufour P. et Souchier B. 1983, Soltner D. 1994] :

2.1.1. Minéralisation primaire

La plupart des matières organiques fraîches incorporées dans le sol (environ 90 %) subissent une décomposition rapide suite à l'activité des micro-organismes. Cette minéralisation primaire (M1) comprend une phase de prolifération microbienne (dégradation des substances facilement décomposables) suivie d'une phase de décroissance microbienne. La micro-faune associée à cette décomposition provoque la libération d'énergie sous forme de chaleur et de petites molécules telles que de l'eau, du CO₂ et des matières minérales (phosphates, nitrates, carbonates, sulfates, etc. de calcium, de magnésium, de sodium, de potassium, etc.). Ces substances assimilables par les plantes sont immédiatement fixées à l'argile ou à l'humus mais elles peuvent être en partie lessivées [Van Engers L. 1978].

2.1.2. Humification

L'humification entre en compétition avec le processus de biodégradation [Burgos W.D. *et al.* 1996]. Au début de la phase de décroissance microbienne, certains produits transitoires

(surtout d'origines végétales) conduisent à la formation de molécules complexes suite aux processus d'humification. Il existe trois types de processus :

- l'humification par insolubilisation : elle correspond à une série de condensations et d'oxydations des composés phénoliques solubles, conduisant à des molécules de moins en moins solubles et de poids moléculaire (pm) de plus en plus important. Leur noyau aromatique augmente de taille au détriment de leurs chaînes aliphatiques. D'abord les acides créniques et hymatomélaniques sont formés puis les acides fulviques (AF). Ces derniers donnent naissance aux acides humiques (AH) et enfin à l'humine d'insolubilisation. Les AH bruns se forment en présence de calcium contrairement aux AH gris formés en milieu pauvre en calcium.

- l'humification par héritage : elle a lieu à chaque fois que la décomposition de la lignine est bloquée (acidité élevée du milieu ou excès de calcaire actif). Ces molécules peu transformées se lient plus ou moins aux matières minérales et forment une humine résiduelle.

- l'humification par néosynthèse microbienne : certains micro-organismes peuvent utiliser les molécules simples, provenant de la minéralisation primaire, en tant qu'aliments. A leur mort, les substances issues de leur biodégradation se lient fortement à la matière minérale et constituer l'humine de néosynthèse microbienne insoluble.

L'humification conduit à la formation d'humus qui correspond à la fraction colloïdale de la matière organique. Il est constitué des trois types d'humines et des divers acides formés lors de l'humification par insolubilisation. Les conditions du milieu (aération, humidité, acidité, température, etc.) et la constitution de la matière organique (richesse en azote notamment) sont à l'origine des différents types d'humus existant (mull, moder, tourbe, etc.).

2.1.3. Minéralisation secondaire

Bien que relativement stables, les composés humiques sont lentement minéralisés par les micro-organismes à raison de 0,5 à 2 % par an. Ce processus est appelé minéralisation secondaire (M2).

Les minéralisations M1 et M2 sont uniquement liées à une activité biologique. Par contre, l'humification inclut en plus des réactions physico-chimiques (oxydations, polymérisations, dessiccation).

2.2. Fractionnement par voie chimique des composés humifiés

Les composés humifiés possèdent les propriétés de colloïdes hydrophiles, acides et électronégatifs dues à la présence de groupements $-CO_2H$.

Les différentes fractions de l'humus peuvent être séparées par des extractions consécutives [Soltner D. 1994] :

- acides créniques (pm < 500) : solubles dans l'eau,
- acides hymatomélaniques (500 < pm < 900) : solubles dans l'alcool,
- acides fulviques (900 < pm < 1 000) et humiques (1 000 < pm < 100 000) : solubles dans le pyrophosphate de sodium ($Na_2H_2P_2O_7$),
- humines (pm > 100 000) : insolubles dans tous les solvants.

Les AF et les AH sont séparés par précipitation des AH suite à un traitement à l'acide (HCl ou H_2SO_4). Enfin, les AH bruns et gris peuvent être séparés par électrophorèse.

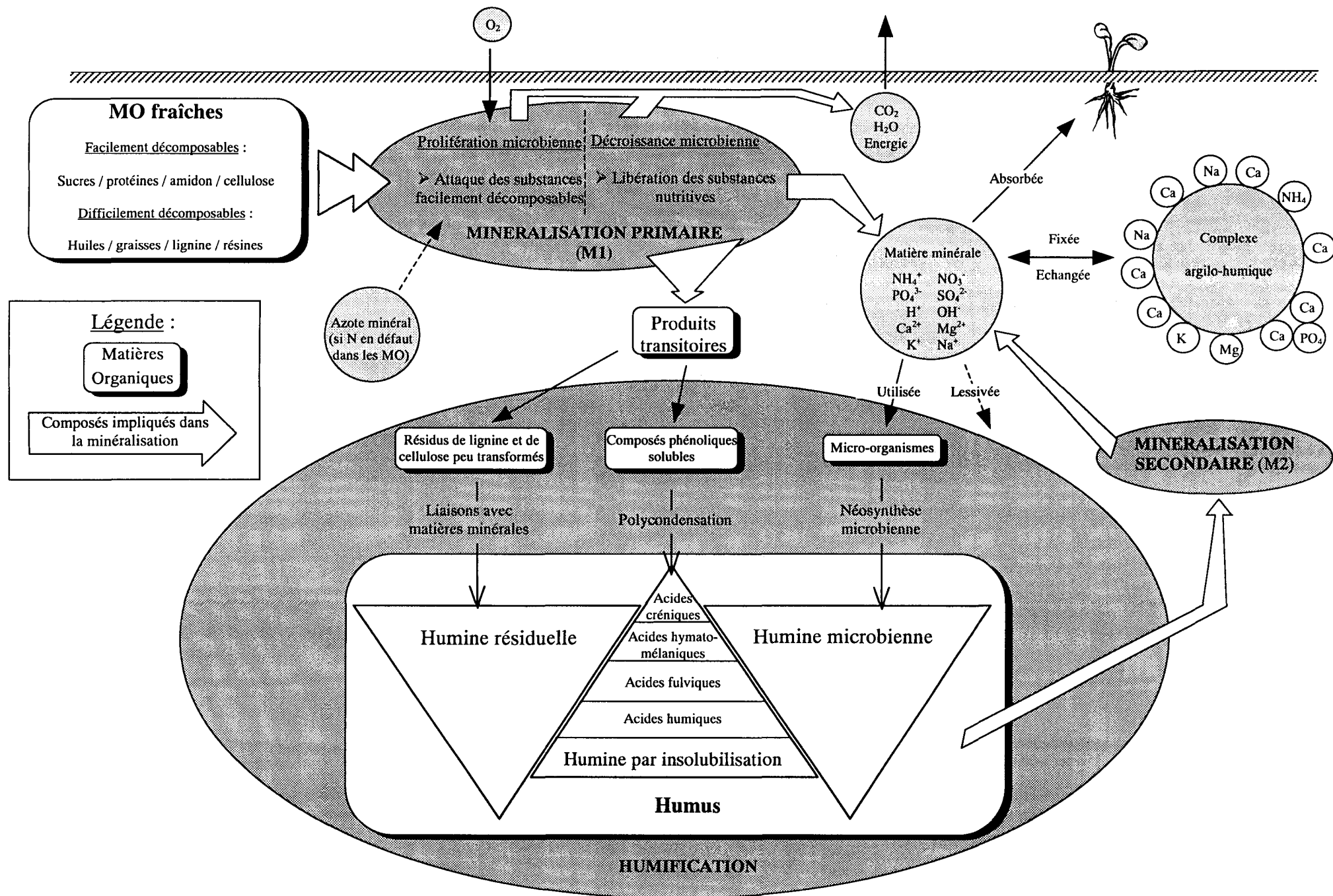


Figure 1 : Evolution des matières organiques dans le sol, d'après Soltner D. [1994].

3. PHENOMENE DE SORPTION DES MICROPOLLUANTS ORGANIQUES DANS LE SOL : ADSORPTION - ABSORPTION - DESORPTION

Le phénomène de sorption est très important pour le devenir des micropolluants organiques dans le sol car de lui découle entre autre leur rémanence et leur impact dans l'environnement (biodisponibilité, transfert, vaporisation, accumulation, biotransformation, réactions d'oxydo-réduction ou photochimiques, etc.). En effet, un composé adsorbé dans un pore d'une particule minérale (par exemple, le phénol : 20 Å), est moins accessible aux micro-organismes (bactéries : 10 000 Å), à la lumière ou aux autres composés chimiques dissous. Par conséquent, il est susceptible d'être rémanent et sa matière active (donc le risque de contamination) demeure intacte plus longtemps que s'il avait été en solution.

3.1. Définitions

Le phénomène de sorption fait référence au transfert de masse concernant les espèces chimiques (molécules organiques en phase vapeur ou en solution) associées aux phases solides :

- sur une surface à 2 dimensions : adsorption,
- dans une matrice à 3 dimensions : absorption.

L'adsorption d'un composé organique non ionique dans le sol (matrice hétérogène) est modélisée par les isothermes de Freundlich [Vidic R.D. *et al.* 1990] :

$$C_s = K_F \times C_w^{1/n} \quad (2)$$

avec :

K_F : constante de sorption ($L^{-1}.kg^{-1}$), fonction de la température et du système analyte-matrice,

C_s : concentration de l'analyte adsorbé sur la phase solide ($mg.kg^{-1}$),

C_w : concentration à l'équilibre de l'analyte en solution ($mg.L^{-1}$),

$1/n$: indice d'affinité de l'analyte pour le sol.

La constante de partition solide-liquide (K_p) est aussi rencontrée pour caractériser ce phénomène [Lara R. et Ernst W. 1990(a)] :

$$K_p = \frac{C_s}{C_w} \quad (3)$$

Cette relation implique la linéarité des isothermes pour des niveaux et des domaines de concentrations faibles [Grathwohl P. 1990]. En effet des relations (2) et (3), nous en déduisons que :

$$K_p = K_F \times C_w^{((1/n)-1)} \quad (4)$$

Si nous faisons l'hypothèse que K_p est constant sur un certain domaine de concentrations :

$$\frac{dK_p}{K_p} = \left(\frac{1}{n} - 1 \right) \times \frac{dC_w}{C_w} \quad (5)$$

Ainsi, soit $n = 1$, c'est à dire que l'isotherme est linéaire; soit la variation de la concentration en solution est suffisamment faible pour assurer aussi une faible variation de K_p .

Les constantes K_F et n peuvent être mesurées expérimentalement en déterminant C_w avec une quantité définie de sol (M_s) et en exprimant de façon logarithmique l'expression (2) :

$$C_s = \frac{(C' - C_w)}{M_s} \quad (6)$$

avec C' : concentration initiale de l'analyte, puis :

$$\log C_s = \log K_F + \frac{1}{n} \log C_w \quad (7)$$

Le tracé de la courbe $\log C_s = f(\log C_w)$ permet de calculer $1/n$ (pente) et $\log K_F$ (ordonnée à l'origine).

Pour un isotherme linéaire ($n=1$), nous avons donc :

$$K_p = \frac{(C' - C_w)}{(M_s \times C_w)} \quad (8)$$

3.2. Influence de la matière organique humifiée

Les MO agissent sur la structure et l'évolution du sol qui, réciproquement, conditionne la transformation des MO [Petronio B.M. *et al.* 1993]. La structure des composés humiques est très complexe. Elle est à l'origine de leur stabilité dans le temps car difficilement biodégradable. Il est impossible de déterminer une structure fixe car cette dernière est directement liée à la nature des MO fraîches originelles.

La matière organique humifiée est principalement constituée d'atomes de carbone, d'atomes d'oxygène et, dans une faible proportion, d'atomes d'azote, de soufre, etc.. Dans certains cas, la quantité des atomes d'oxygène peut être aussi importante que celle des atomes de carbone (humines). Elle présente des fonctions oxygénées de surface relativement polaires, telles que des groupements carboxy-, phenoxy-, hydroxy- ou carbony-, qui peuvent engager des liaisons de type hydrogène.

Divers auteurs ont étudié leur structure. Wershaw *et al.* [1993] ont proposé un modèle structural comportant des micelles constitués de sousstructures hydrophiles et hydrophobes.

Les composés organiques hydrophobes en solution aqueuse peuvent pénétrer dans les sousstructures de même nature et s'y adsorber. Ils s'y réfugient préférentiellement afin de trouver une meilleure stabilité énergétique [Voice T.C. et Weber W.J. 1983]. Cependant, l'augmentation du nombre de fonctions oxygénées dans la MO engendre la diminution du phénomène de sorption [Grathwohl P. 1990].

Les composés organiques polaires, par contre, s'adsorbent sur les surfaces externes hydrophiles des micelles [Engebretson R.R. *et al.* 1994, 1996].

Les constantes de sorption pour un composé donné, varient selon le sol considéré. Aussi, afin de prendre en considération l'influence de la MO sur le phénomène de sorption et de réduire la variabilité des valeurs calculées, un coefficient de partage normalisé (K_{oc}) est défini [Dzombak D.A. et Luthy R.G. 1984] :

$$K_{oc} = \frac{K_p \times 100}{OC\%} \quad (9)$$

avec OC% : teneur en carbone organique dans le sol (en %).

Le coefficient K_p diminue lorsque le pourcentage massique de carbone organique dans la phase solide décroît.

Cependant, les propriétés physico-chimiques de la MO influencent grandement les valeurs de K_{oc} [Murphy E.M. *et al.* 1990].

La matière organique joue donc un rôle important dans le phénomène de sorption des composés non ioniques. A l'opposé, les argiles et les hydroxydes régissent le comportement des composés ioniques et ionisables [Chiou C.T. *et al.* 1979, Lara R. et Ernst W. 1990(b), Karickhoff S.W. *et al.* 1979, Weber W.J. *et al.* 1983].

3.3. Transfert de masse au sein de la MO et d'une particule minérale

Le composé organique s'adsorbe à la surface de la MO ou à l'entrée d'un pore dans un premier temps. Par la suite, il va y pénétrer lentement par diffusion. Lorsque le pore est de petite taille, il se produit la condensation des composés organiques dans la porosité. Le facteur limitant de la désorption est le transport par diffusion au sein de la MO ou du pore [Brusseau M.L. *et al.* 1991]. Une adsorption irréversible apparente peut alors être constatée, due à cette limitation physique de transfert de masse [Ball W.P. et Roberts P.V. 1991].

Les études d'adsorption/désorption ont montré que la cinétique d'adsorption est généralement plus rapide que celle de désorption [Lin T.F. *et al.* 1994]. Cette limitation dans le transfert de masse a été utilisée pour expliquer le processus de sorption en deux étapes observé par Weber W.J. et Miller C.T. [1988].

3.4. Mécanismes

Lors de l'adsorption/désorption, différents mécanismes sont mis en jeu selon la forme dans laquelle se trouve le composé organique (neutre ou ionisé) :

- la pénétration dans la matière organique,
- l'association avec la surface minérale par des interactions de type Van der Waals, dipôle-dipôle ou liaisons hydrogènes pour les composés polaires,
- l'attraction électrostatique lorsque la matrice est ionisable et le composé ionisé en solution aqueuse,
- l'établissement de liaisons avec la phase solide dû à la réaction du composé (ou un de ses métabolites) sur un site actif de la matrice lorsqu'ils possèdent mutuellement des groupements fonctionnels réactifs tel que -OH.

Tous ces mécanismes ont lieu simultanément et le phénomène qui prédomine dépend notamment des propriétés structurales du composé organique considéré ainsi que de la matrice étudiée [Kay B.D. et Elrick D.E. 1967, Haderlein S.B. et Schwarzenbach R.P. 1993, Petronio B.M. *et al.* 1995]. Ils se produisent au niveau des particules minérales ou organiques (argile, complexe argilo-humique, composés humifiés, etc.), à leur surface ou dans les pores (macro- et micro-). Il est donc très difficile d'appréhender ce type de phénomène.

3.4.1. Pénétration dans la matière organique

Le phénomène de sorption analyte-solide met généralement en jeu la fraction solide et, selon le taux d'humidité du sol, une pellicule d'eau monomoléculaire ou une fine couche d'eau [Goss K.U. 1993]. En effet, beaucoup de minéraux présentent des surfaces polaires à groupements hydroxy- (-OH) et/ou à sites réactifs (-O⁻ et >C=O). Ces surfaces vont interagir avec l'humidité du sol (création de liaisons hydrogène). La pellicule d'eau qui en résulte (modèle de Stern de la double couche : couche liée/couche diffuse), devient une "barrière" difficilement franchissable par les composés organiques non polaires, du fait des énergies à mettre en œuvre. Ils vont alors préférentiellement pénétrer la MO, au lieu de rester en solution. Ainsi pour les composés organiques non ionisés, l'adsorption sur la surface de la MO est moins significative que la fixation par partition [Chiou C.T. *et al.* 1990].

3.4.2. Chimisorption

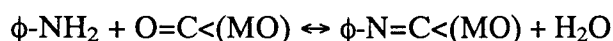
Les composés organiques aromatiques possédant des groupements hydroxy- sont susceptibles d'engendrer une réaction de chimisorption [Voice T.C. et Weber W.J. 1983]. Il peut s'agir alors de composés de type phénolique pouvant être issus du processus de biodégradation (produits transitoires).

Plus généralement, ce phénomène concerne les composés présentant des groupements fonctionnels -CO₂H, -CHO, -NH₂, -CO₂R, -PO₄H₂, etc..

Les réactions par oxydation conduisant à l'établissement de liaisons covalentes peuvent être catalysées par les minéraux argileux et les surfaces des oxydes métalliques [Wang T.S.C. *et al.* 1978, Shindo H. et Huang P.M. 1982].

3.4.2.1. *Réactions avec la MO*

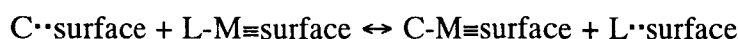
La MO présente des groupements fonctionnels carbonyle (>C=O) qui peuvent réagir avec des bases organiques telles que les amines aromatiques, non protonées au pH d'une eau naturelle (pK_a ~ 5) :



Ces réactions sont généralement extrêmement lentes (plusieurs heures, jours, voire plusieurs années).

3.4.2.2. *Réactions avec les sites des surfaces minérales*

Les réactions avec les sites des surfaces minérales se déroulent en deux étapes : l'adsorption du composé organique sur les surfaces des oxydes puis le transfert d'électrons [Schwarzenbach R.P. *et al.* 1993] :



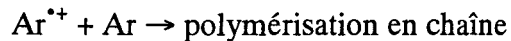
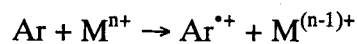
avec :

C : composé organique,
 M : métal,
 L : ligand tel que -OH,
 C^{••}surface et L^{••}surface sont des ions à proximité du site de réaction.

Les facteurs limitants de ces réactions sont la cinétique d'adsorption du composé organique et son habilité à céder des électrons lors du transfert d'électrons [Burgos W.D. *et al.* 1996]. La présence de groupements donneurs d'électrons (-OH, -NH₂) favorise ces réactions et améliore leur vitesse, contrairement aux substituants accepteurs d'électrons tels que les halogènes. De plus, ces réactions sont pH dépendantes [Szecsody J.E. *et al.* 1993, Loch J.P.G. 1991].

Par ailleurs, les métaux de transition dans l'argile se comportent comme des sites donneurs ou accepteurs d'électrons selon leur état d'oxydation. Ils peuvent servir d'initiateurs à la réaction chimique. Le fer (Fe (III)), l'aluminium (Al(III)), les traces de métaux inclus dans les feuillets tel que Cu (II) et l'oxygène adsorbé favorisent les réactions de radicaux libres [Mortland M.M. et Pinnavaia T.J. 1971, Pinnavaia T.J. et Mortland M.M. 1971, Dragun J. et Helling C.S. 1985].

Pour des composés aromatiques, il a été proposé le mécanisme suivant [Karimi-Lotfabad S. *et al.* 1996] :



Il se produit un transfert d'électrons d'un site riche en électrons (cycles aromatiques d'électrons π) vers un site accepteur d'électron (métal de transition) sur les surfaces minérales [Solomon D.H. et Loft B.C. 1968].

Les réactions par oxydation peuvent aussi être obtenues par voie biologique par des enzymes extracellulaires présents dans le sol. Deux types d'enzymes ont été mises en évidence dans ce type de processus : les peroxydases et les phénoloxydases [Bollag J.M. 1992].

3.5. Réversibilité de l'adsorption

Les énergies mises en jeu dans le processus de sorption entre le composé organique et la matrice solide, sont variables selon les types d'association (tableau 1).

Elles sont liées à la notion de réversibilité de l'adsorption et, par conséquent, elles conditionnent la remobilisation des composés organiques. Les plus faibles énergies mises en jeu caractérisent les interactions présentant le plus de risque.

Koskinen W.C. *et al.* [1995] ont constaté que les mécanismes ou les liaisons se modifient avec le temps et deviennent plus fortes. Cette évolution des micropolluants dans le sol s'opère à différents niveaux :

- redistribution des sites les plus labiles vers les sites présentant des énergies de liaisons plus fortes,
- pénétration en profondeur dans la MO due au phénomène lent de diffusion combiné à un temps de contact prolongé,
- incorporation à l'humus d'origine naturelle par humification.

Elle est à l'origine de la réduction dans le temps de l'extractibilité des micropolluants organiques.

Cependant, il apparaît que les interactions impliquées dans le phénomène de sorption n'ont pratiquement pas de caractère irréversible à court terme.

Tableau 1 : Interactions entre les composés organiques et les acides humiques, d'après Voice T.C. et Weber W.J. [1983].

Interaction (déterminée par l'enthalpie)	Energie (kJ.mol ⁻¹)	Nature	Réversibilité	Composés
London - Van der Waals	5 - 10	Int. momentanée dipôle-dipôle	oui	Tous les composés
Dipôle - Dipôle	< 10	Int. de dipôle permanent	oui	Composés ionisés
Dipôle induit	< 10	Int. de dipôle induit par dipôle ou par proximité de charges	oui	
Transfert de charges (π)	< 25	Int. entre systèmes de charges	oui	Systèmes aromatiques, à liaisons insaturées, hétérocycles
Liaison hydrogène	10 - 50	Liaison entre un atome d'hydrogène et un atome très électronégatif (Cl, O, S, etc.)	oui	Composés avec fonctions -OH, -CO, -CO ₂ H, -NH
Chimisorption	>> 40	Création de liaisons covalentes	difficile	
Coulomb - électrostatique	50	Liaison avec surface ionisée	difficile	Cations organiques (pKa dépendants) sur argiles, AH, AF
Liaison hydrophobe (déterminée par l'entropie)		Transfert sur surface hydrophobe		Composés hydrophobes (K_{ow} dépendant)

4. DEVENIR DES MICROPOLLUANTS ORGANIQUES DANS LE SOL

Les micropolluants organiques introduits au niveau du sol suivent les mêmes processus de décomposition que la MO naturelle [Federle T.W. 1988, Schmidt S.K. et Gier M.J. 1990]. Par conséquent, ils sont assimilés par la chaîne de transformation des MO pour donner des matières minérales et des composés humifiés (humus). Lors de leur introduction dans les sols, les xénobiotiques présentent une biodisponibilité importante, puis celle-ci décroît dans le temps [Haider K. *et al.* 1993, Gerstl Z. 1991]. De par les processus d'humification, leur matière active est susceptible de se concentrer dans la fraction humifiée des sols qui est relativement stable. A long terme, les risques de contamination des sols et des eaux par resolubilisation de ces matières actives sont faibles mais pas nuls [Burgos W.D. *et al.* 1996, Bollag J.M. 1992, Ball W.P. et Roberts P.V. 1991]. En effet, la minéralisation secondaire par les micro-organismes engendre un risque de remobilisation en solution, notamment à partir de fractions peu humifiées telles que les AF et les AH [Pignatello J.J. et Huang L.Q. 1991, Burgos W.D. *et al.* 1996].

La décomposition de la MO est un phénomène lent contrairement aux transferts de masse qui ont lieu dans les sols. L'action de l'eau (de pluies, de ruissellement, etc.) provoque des déplacements latéraux et verticaux (vers le bas lors du lessivage des sols et vers le haut lors de périodes de sécheresse) des éléments solubles et colloïdaux (sels de calcium, oxydes de fer,

argile, humus). Ainsi, les agents climatiques conditionnent la migration des micropolluants organiques et l'évolution du sol au cours du temps.

D'autre part, la transformation des composés organiques dans le sol, mais aussi leur répartition et les types de liaison mises en jeu dépendent essentiellement de :

- leur persistance qui est liée à leur stabilité physico-chimique et à leur dégradation,
- leur temps de résidence,
- la nature du sol.

Par conséquent, les risques de contamination par les micropolluants organiques sont liés à leur potentiel de mobilisation, lui-même associé à la nature du sol qui est conditionnée par son écosystème et par les agents climatiques.

5. CONCLUSION

Ce chapitre avait pour principal objectif de fixer le contexte dans lequel est réalisée cette étude, en décrivant les relations qui peuvent exister entre les micropolluants organiques et le sol.

Il permet de mettre en évidence la complexité des interactions mises en jeu et d'aborder le problème de l'extraction des matrices environnementales complexes.

Au vue de la diversité des interactions pouvant s'établir entre le sol et les composés organiques, de nombreuses classes de composés ayant des propriétés physico-chimiques variées, peuvent être rencontrées en même temps dans cette matrice hétérogène.

Il apparaît que l'incorporation des composés organiques dans les matières organiques ainsi que l'humification et les réactions de chimisorption avec les matières organiques ou minérales, les lient à long terme de façon irréversible. De plus, aussi bien leur structure que l'écosystème, l'humidité, la texture et la structure du sol, régissent directement les phénomènes physico-chimiques responsables de la vulnérabilité d'un site pollué. Ainsi, l'apparition de résidus liés qui est un phénomène lent, limite l'extractibilité des contaminants.

Par conséquent, la technique d'extraction permet d'isoler en solution les résidus non liés qui sont susceptibles d'être remobilisables.

Toute la difficulté réside en l'extraction des matières actives présents dans le sol par des méthodes :

- ni trop douces afin de rompre les interactions adhésives-cohésives établies avec les matières organiques et minérales,
- ni trop agressives pour ne pas dégrader les analytes ou les matières organiques qui pourraient alors engendrer des interférants analytiques,
- permettant de caractériser le plus grand nombre de matières actives susceptibles d'être (re)mobilisables (du fait de l'application de conditions d'extraction modérées, autrement dit relativement douces mais suffisamment agressives),
- qui évitent de trop modifier les échantillons à analyser. Compte tenu des échanges existant entre les fractions du sol, leur manipulation ou leur transformation par des techniques physico-chimiques telles qu'un tamisage trop fin (afin d'éviter les pertes par volatilisation), doivent être minimales. Pour y parvenir, il est nécessaire de mettre en œuvre des techniques d'extraction qui engendrent une bonne pénétrabilité du fluide extractant au sein de la matrice hétérogène, cette dernière pouvant présenter des agrégats particuliers.

**EVALUATION ET SELECTION
DE METHODES D'EXTRACTION**

CHAPITRE II

EXTRACTION DE SOLS CONTAMINES EN HPA ET PHENOLS : APPORT DE L'EXTRACTION SOUS CHAMP MICRO-ONDES FOCALISEES, DE L'EXTRACTION EN PHASE SUPERCRITIQUE ET DE L'EXTRACTION SUBCRITIQUE PAR SOLVANT VIS-A-VIS DES TECHNIQUES CONVENTIONNELLES SOXHLET ET ULTRASON.

1. INTRODUCTION

Afin d'évaluer et de contrôler les pollutions de sols ou de sédiments d'origine organique, diverses procédures analytiques sont désormais bien établies et appliquées lors d'analyses de routine. Ces dernières doivent répondre à une double exigence de plus en plus stricte : validité des résultats et impératifs des laboratoires de contrôle (rapidité, fiabilité, coût).

Les méthodes d'extraction incluses dans ces procédures sont traditionnellement l'extraction au Soxhlet, au Kumagawa (technique s'apparentant au Soxhlet) ou aux ultrasons [Fowle P.J.A. et Bulman T.L. 1986, Junk G.A. et Richard J.J. 1986, Coover M.P. *et al.* 1987, Hartmann R. 1996, Wild S.R. *et al.* 1990, Lindhart B. *et al.* 1994]. L'établissement de procédures normalisées, notamment américaines telles que les méthodes US EPA (8040, 8060, 8080, 8090, 8100, 8120, 8140, 8250, 8270 et 8310) faisant référence à ces techniques d'extraction [US EPA Method 3540 1986, US EPA Method 3550 1986], a d'une part, contribué à leur développement et d'autre part, permis de conforter leur position. Cependant, ces techniques ne paraissent vraisemblablement plus adaptées pour faire face à l'augmentation de la quantité et de la fréquence des contrôles traités en routine.

De nouvelles technologies d'extraction ont vu le jour récemment. Trois d'entre elles ont plus particulièrement été développées : l'extraction par Micro-Ondes Focalisées (MOF), l'Extraction en Phase Supercritique (EPS) et l'Extraction Subcritique par Solvant (ESS).

Deux approches sont généralement envisagées lors de l'évaluation de ces techniques : la comparaison avec l'extraction au Soxhlet ou l'utilisation de matériaux de référence. Or le Soxhlet demeure la technique la plus fréquemment mise en œuvre lors des procédures de certification. Il se présente donc comme la méthode de référence pour l'extraction de matrices solides environnementales (sols, sédiments, boues, etc.). D'autre part, ces évaluations sont souvent réalisées sur des classes de composés souvent rencontrées et surveillées dans les sols ou sédiments pollués, telles que les Hydrocarbures Polycycliques Aromatiques (HPA) ou les PolyChloroBiphényles (PCB).

Lors de ces études, les HPA ont souvent été choisis comme micropolluants types car ils présentent une large plage de poids moléculaires et de points d'ébullition. De plus, ils sont très répandus dans l'environnement (eaux, sols, sédiments, atmosphère). En effet, ils sont présents

dans les combustibles fossiles et sont formés naturellement lors des incendies de forêt ou suite aux activités volcaniques par exemple. Les quantités d'HPA intrinsèques au fond géochimique (engendrées par des sources naturelles) sont toutefois moins importantes que celles introduites par des sources anthropiques [Pavoni B. *et al.* 1987, Witt G. 1995, Lipiatou E. et Saliot A. 1991]. Les HPA sont plus généralement produits par combustions incomplètes (dues au manque d'oxygène) de la matière organique, ou par pyrolyse ou pyrosynthèse de celle-ci [Hites R.A. *et al.* 1977, Eskinja I. *et al.* 1996, Traynor G.W. *et al.* 1990]. Les activités urbaines, portuaires ou industrielles sont les principales sources de contamination des sols et des sédiments, comme par exemple la déposition atmosphérique, les pollutions accidentelles par déversement de produits pétroliers, les effluents domestiques ou industriels [Al-Saad H.T. 1987, Hong H. *et al.* 1995, Furton K.G. *et al.* 1993(a), Law R. et Andrulewics E. 1983, Douabul A.A.Z. *et al.* 1984, Zhou J.L. *et al.* 1996]. La décomposition des HPA a pour principales origines la photo-oxydation, l'oxydation chimique ou la métabolisation microbienne dans des conditions aérobies [Van der Hoek J.P. *et al.* 1989, Mihelcic J.R. et Luthy R.G. 1988(a), Heitkamp M.A. *et al.* 1987, Hambrick G.A. *et al.* 1980, Herbes S.E. et Schwall L.R. 1978] par des bactéries [Schocken M.J. et Gibson D.T. 1984, Gibson D.T. *et al.* 1975, Ensley B.D. *et al.* 1982], des moisissures [Hammel K.E. 1995, Hammel K.E. *et al.* 1992, Cerniglia C.E. et Yang S.K. 1984, Field J.A. *et al.* 1996] ou des algues [Cerniglia C.E. *et al.* 1980(a), 1980(b)]. Par exemple, certaines moisissures (*Phanerochaete chrysosporium*) sécrètent des enzymes extracellulaires catalysant les réactions d'oxydation (lignin peroxydase) [Haemmerli S.D. *et al.* 1986, Hammel K.E. *et al.* 1986, Bumpus J.A. *et al.* 1985]. La biodégradation des composés organiques est d'une part, conditionnée par leur biodisponibilité, elle-même régie par le transfert de masse (sorption et diffusion des composés) au sein de la matrice et d'autre part, contrôlée par la cinétique de biodégradation [Scow K.M. *et al.* 1995, Mahaffey W.R. *et al.* 1991, Federle T.W. 1988]. Le phénomène réversible d'adsorption/désorption dans les sols est lié au coefficient de partition octanol-eau (K_{ow}) spécifique à chaque composé [Karickhoff S.W. *et al.* 1979, Mihelcic J.R. et Luthy R.G. 1988(b)]. Le caractère hydrophobe élevé des HPA ($\log K_{ow} = 3-8$) les pousse à s'adsorber sur les matrices solides, d'autant plus facilement que leur poids moléculaire augmente [Van der Hoek J.P. *et al.* 1989, Petrasek A.C. *et al.* 1983]. Par ailleurs, les HPA de faible poids moléculaire (2 à 3 cycles) développent une toxicité aiguë alors que certains HPA plus lourds sont suspectés de posséder un potentiel mutagène et/ou cancérigène élevé pour l'homme [Hubert-Habart M. 1993, Witt G. 1995, Talaska G. *et al.* 1996, Strickland P. *et al.* 1996].

L'emploi de l'énergie micro-ondes pour l'extraction des micropolluants organiques issus de sols ou de sédiments, est un procédé relativement récent et encore peu étudié [Barnabas I.J. *et al.* 1995(b), Lopez-Avila V. *et al.* 1994, Budzinski H. *et al.* 1995, Lopez-Avila V. *et al.* 1995, Onuska F.I. et Terry K.A. 1993]. Lors de l'irradiation par micro-ondes, la nature de l'échantillon et du solvant d'extraction exposés (caractérisée par la constante diélectrique), détermine la rapidité du chauffage et l'énergie thermique générée pour une fréquence et une puissance données. Ainsi, il n'est pas recommandé d'utiliser des solvants non ou peu polaires tels que l'hexane ou le toluène qui possèdent des constantes diélectriques faibles (hexane : $\epsilon^{20^\circ\text{C}} = 1,890$; toluène : $\epsilon^{25^\circ\text{C}} = 2,379$). Le solvant d'extraction doit cependant solvater correctement l'analyte cible ce qui implique, dans certains cas, l'emploi de solvants peu polaires. L'utilisation des micro-ondes semble donc mal adaptée à l'extraction de composés apolaires. Toutefois, la combinaison de ces solvants avec d'autres plus polaires permet de remédier à ce problème.

Certains auteurs préconisent l'utilisation de solvant apolaire, transparent aux micro-ondes afin de limiter les phénomènes de surchauffe et d'apporter une sélectivité au niveau de l'extraction de composés susceptibles d'être piégés au sein des sites polaires de la matrice [Fournier J. 1996, Paré J.R.J. *et al.* 1994].

Lopez-Avila *et al.* [1994] ont observé le comportement de divers solvants soumis aux micro-ondes. Il ressort de leurs travaux que les mélanges toluène/méthanol (1:10) ou dichlorométhane/acétone (1:1) chauffent rapidement dans un système fermé sous pression, cette dernière combinaison de solvants permettant toutefois d'atteindre des températures plus importantes. Ils ont extrait des HPA issus de sols et de sédiments certifiés avec un mélange hexane/acétone (1:1) dans un système fermé ("bombes"). Ils obtiennent des taux de récupération variables en fonction des composés étudiés : de 50 à 85 % par rapport aux valeurs certifiées. Lors d'une autre étude menée par la même équipe sur des sols dopés avec des pesticides et des composés semi-volatils ainsi que sur un sol certifié comportant entre autre des HPA, ils concluent que la technique par micro-ondes fournit des résultats satisfaisants vis-à-vis du Soxhlet [Lopez-Avila V. *et al.* 1995].

Barnabas *et al.* [1995(b)] utilisent aussi un système fermé micro-ondes pour extraire des sols naturellement contaminés. Les écarts-type relatifs observés sont d'autant plus importants que les concentrations d'HPA extraits sont faibles. De manière générale, ils obtiennent des écarts-type plus faibles qu'avec le Soxhlet grâce à la technique micro-ondes. Ils utilisent du dichlorométhane (DCM) et expérimentent diverses compositions d'un mélange hexane/acétone. Ils concluent que l'acétone est le solvant le plus efficace parmi les mélanges testés pour extraire les HPA. Cependant, ils constatent que, selon les sols étudiés, le dichlorométhane employé seul permet d'atteindre des taux de récupération tout aussi satisfaisants que l'acétone pur. Ils attribuent alors ces observations aux effets de matrice.

Les quelques travaux rencontrés dans la littérature, relatifs à un système ouvert mettant en jeu des MOF pour extraire des HPA, ont été réalisés par Budzinski H. *et al.* [1995] sur des sédiments de référence. Ils obtiennent des taux de récupération supérieurs à 69 % (par rapport aux valeurs certifiées) en employant du dichlorométhane.

Il ressort de ces différentes études que le rôle du solvant d'extraction en présence de micro-ondes apparaît primordial mais reste encore mal défini pour des matrices hétérogènes telles que les sols.

De nombreuses études ont été entreprises sur l'extraction des HPA par des fluides supercritiques (tableau 1). Ainsi, Hawthorne et Miller ont basé leurs travaux sur l'EPS de matrices solides environnementales (sols, sédiments, cendres, poussières urbaines, etc.). Ils ont expérimentés divers fluides supercritiques (FS) lors de l'extraction de sédiments dopés par des HPA deutérés (phénanthrène- d_{10} , pyrène- d_{10} , pérylène- d_{12}) à 2 mg.kg^{-1} [Hawthorne S.B. et Miller D.J. 1987(a)]. L'éthane et le dioxyde de carbone pur conduisent à des rendements d'extraction similaires pour les HPA (dus à des solubilités proches dans ces FS) mais faibles (inférieurs à 55 % dans le meilleur des cas) dans des conditions de température basse ($45 \text{ }^\circ\text{C}$), de pression élevée (30,4 MPa) et pour 30 min. d'extraction en mode dynamique. Le protoxyde d'azote permet d'améliorer les taux de récupération d'autant plus si un cosolvant est ajouté (5 % de méthanol). Le CO_2 modifié de la même manière se situe d'un point de vue efficacité de récupération entre N_2O pur et N_2O modifié. Ils expliquent ces différences de récupération au fait que N_2O soit plus éluant que le CO_2 [Wright B.W. *et al.* 1985, Lauer H.H. *et al.* 1983]. Cependant, le CO_2 reste le FS le plus rencontré car la manipulation d'autres FS peut s'avérer plus difficile et nécessite par ailleurs des règles de sécurité plus strictes (§ 2.2.2.3.). La récupération off-line est le mode de collecte le plus répandu, notamment le barbotage dans le DCM ainsi que la détermination analytique par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS). La chromatographie liquide haute performance (HPLC) couplée à un fluorimètre (bien que plus sensible) est plus rare pour des raisons d'identification et de compatibilité avec les solvants de collecte (la plupart du temps nécessité d'opérer un changement de solvant). Les tests immuno-enzymatiques (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay ou

ELISA*) qui subissent un fort développement dans le domaine des matrices solides environnementales, ont aussi été employés avec l'EPS pour détecter des PCB [Johnson J.C. et Van Emon J. 1996] et des herbicides [Stearman G.K. *et al.* 1995]. Ces analyses sont basées sur l'utilisation d'anticorps spécifiques à une classe de composés et d'enzymes qui amplifient la réponse [McDonald P.P. *et al.* 1994, Lawruk T. *et al.* 1996, Pilette J.F. 1992, 1995]. Cette technique entraîne des problèmes d'identification des composés réagissant au test et d'interprétation des résultats. En effet, une réponse globale de 1 mg.kg^{-1} d'HPA peut correspondre à $4,9 \text{ mg.kg}^{-1}$ de benz(a)anthracène ou $2,7 \text{ mg.kg}^{-1}$ de benzo(b)fluoranthène ou $0,8 \text{ mg.kg}^{-1}$ de benzo(a)pyrène ou $4,3 \text{ mg.kg}^{-1}$ de chrysène ou $6,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ d'indeno(1,2,3-c,d)pyrène [Pilette J.F. 1995]. Or tous ces HPA ne possèdent pas la même toxicité. En outre, la procédure analytique mise en œuvre nécessite tout de même une étape d'extraction afin de se trouver en milieu liquide auquel cas le test pourra être appliqué. L'extraction couramment réalisée consiste en une simple agitation de la matrice en présence de méthanol suivie d'une filtration. Johnson *et al.* [1996] ont démontré que cette manière de procéder engendre des résultats qui ne sont pas en accord avec ceux issus d'une procédure classique (Chromatographie en Phase Gazeuse ou CPG). Par contre, l'emploi du Soxhlet ou de l'EPS en amont du test ELISA fournit une corrélation satisfaisante. Ainsi, l'extraction par agitation se révèle inappropriée pour les sols ou les sédiments.

La technique d'EPS a récemment fait l'objet d'une méthode normalisée américaine [US EPA Method 3561 1995] basée en partie sur les travaux de Gere *et al.* [1993].

Tableau 1 : Extraction en phase supercritique des HPA issus de sols ou de sédiments.

Matrice	FS	T (°C)	P (MPa)	Mode EPS	Collecte	Analyse*	Année	Source
Sédiments de rivière dopés	CO ₂ , N ₂ O, C ₂ H ₆ ,	45	35,5	30 min. dynam.	Bullage (CH ₂ Cl ₂)	GC/MS	1987(a)	Hawthorne S.B. et Miller D.J.
	CO ₂ / méthanol (5%), N ₂ O / méthanol (5%)	65						
Sédiments de rivière dopés	N ₂ O	45	30,4	10 min. dynam.	On-line	GC/MS GC/FID	1987(b)	Hawthorne S.B. et Miller D.J.
Sable dopé et Sol contaminé	CO ₂ / méthanol (5%)	65	35,5	3 h, 5 h ou 7 h	Off-line	GC/MS	1990	Yu X. <i>et al.</i>
Sédiments marins	CO ₂ , N ₂ O	50	40,5	10 min. dynam.	On-line	GC/MS	1990(a)	Hawthorne S.B. <i>et al.</i>
Sols et sédiments marins certifiés	CO ₂ / méthanol (10%)	70	40,5	3 fractions de 30 min. stat. Chacune	Bullage (CH ₂ Cl ₂)	GC/MS	1990	Lopez-Avila V. <i>et al.</i>
Sédiment certifié	CO ₂	60	40,5	10 min. dynam.	Flacon vide	GC/MS	1991	Pyle S.M. et Setty M.M.
Sols contaminés	CO ₂	100	40,0	60 min.	Bullage (CH ₂ Cl ₂)	HPLC/UV /Fluo	1992	Wenclawiak B.W. <i>et al.</i>
Boues résiduelles de raffinerie	CO ₂ , N ₂ O, CHClF ₂ , CO ₂ / méthanol (5%)	100	40,5	85 min. dynam.	Bullage (CH ₂ Cl ₂)	GC/MS GC/FID	1992	Hawthorne S.B. <i>et al.</i>
Sédiments certifiés	CO ₂ / CH ₂ Cl ₂ (10%)	125	50,7	40 min. dynam.	Bullage (CH ₂ Cl ₂)	GC/MS	1992	Porter N.L. <i>et al.</i>
Sol dopé et contaminé	CO ₂ suivi par CO ₂ / méthanol (10%)	60	40,5	2 fractions de 30 min. stat. Chacune	Bullage (CH ₂ Cl ₂)	GC/MS GC/FID	1993	Burford M.D. <i>et al.</i>
Sol dopé	CO ₂ puis CO ₂ / méthanol / (eau ou CH ₂ Cl ₂) (95:1:4)	120	12,1 puis 33,7	3 fractions : 12 min., 31 min. puis 15 min.	Piégeage sur adsorbant	GC/MS HPLC/UV	1993	Gere D.R. <i>et al.</i>

* certaines abréviations sont conservées en anglais pour rester homogène avec la littérature.

Sédiments certifiés et contaminés	CO ₂ / méthanol-CH ₂ Cl ₂ (1:1) (5%)	120	36,0	5 min. stat./ 20 min. dynam.	Piégeage sur adsorbant	HPLC/UV /Fluo GC/MS	1993	Lee H.B. <i>et al.</i>
Sols et sédiments contaminés	CO ₂	150	45,6	10 min. stat./ 45 min. dynam.	On-line, Piégeage sur adsorbant	GC/MS GC/FID	1993	Levy J.M. et Ravey R.M.
Sédiments marins certifiés	CO ₂ / méthanol (10%)	80	30,4	15 min. stat./ 15 min. dynam.	Bullage (toluène)	GC/MS GC/FID	1993	Hills J.W. et Hill H.H.
Sol certifié	CO ₂	200	65,9	40 min. dynam.	Bullage (CH ₂ Cl ₂)	GC/MS	1993	Langenfeld J.J. <i>et al.</i>
Sol contaminé	CO ₂ , CO ₂ / (hexane ou eau ou CH ₂ Cl ₂ ou acétone ou méthanol)	40	27,1	2 min. stat./ 60 min. dynam.	Piégeage sur adsorbant	HPLC/UV	1994	Tena M.T. <i>et al.</i>
Sols contaminés et dopés	CO ₂ / méthanol (5%), toluène	80	40,0	45 min. dynam.	Bullage (acétone)	HPLC/UV /Fluo	1994	Reindl S. et Hofler F.
Sols contaminés	CO ₂	200	40,5	30 min. dynam.	Bullage (CHCl ₃)	GC/MS	1994(a)	Hawthorne S.B. et Miller D.J.
Sols contaminés	CO ₂	60	40,5	20 min. stat./ 10 min. dynam.	Bullage (CH ₂ Cl ₂)	GC/MS	1995	Hawthorne S.B. <i>et al.</i>
Sols contaminés	CO ₂ / méthanol (5%)	70	19,9	5 min. stat./ 60 min. dynam.	Bullage (CH ₂ Cl ₂)	GC/MS	1995(a)	Barnabas I.J. <i>et al.</i>
Sols et sédiments contaminés et dopés	CO ₂	200	65,9	10 min. dynam.	Bullage (CH ₂ Cl ₂)	GC/MS	1995	Langenfeld J.J. <i>et al.</i>
Sédiments marins certifiés	CO ₂ / méthanol (10%), diéthylamine, toluène	200	40,5	15 min. stat./ 15 min. dynam.	Bullage (CH ₂ Cl ₂)	GC/MS	1995(a)	Yang Y. <i>et al.</i>
Sols dopés	CO ₂	40	28,1	0,5 min. stat./ 15 min. dynam.	On-line	Fluo	1996	Tena M.T. <i>et al.</i>
Sol contaminé	CO ₂	120	40,5	20 min. dynam.	Bullage (méthanol et/ou CH ₂ Cl ₂)	HPLC/Fluo	1996	Brown R.S. <i>et al.</i>
Sédiments marins certifiés	CO ₂ / méthanol (10%) / tolène	80	40,5	30 min. stat./ 60 min. dynam.	Bullage (hexane)	GC/MS	1997	Heemken O.P. <i>et al.</i>
Sol dopé	CO ₂ / méthanol (5%)	50	31,4	100 min. stat./ 60 min. dynam.	Piégeage sur adsorbant	HPLC/UV /Fluo	1997	Young T.M. et Weber W.J.Jr

* abréviations utilisées : GC (Gas Chromatography), MS (Mass Spectrometry), FID (Flame Ionisation Detection), HPLC (High Performance Liquid Chromatography), UV (UltraViolet), Fluo (Fluorescence detection).

Peu d'articles concernant l'extraction subcritique par solvant se trouvent référencés dans la littérature [Richter B.E. *et al.* 1996, Hawthorne S.B. *et al.* 1994(b), Yang Y. *et al.* 1995(b), Woolley C. *et al.* 1995, Donnelly J.R. *et al.* 1996].

Hawthorne *et al.* [1994(b)] ont déjà extrait en EPS et en ESS des HPA issus de sols réellement contaminés, en employant de l'eau comme fluide extractant. Ils observent une amélioration des rendements d'extraction lorsque la température passe de 50 °C à 400 °C à pression constante (35,0 MPa). Cette amélioration est liée à la diminution de la constante diélectrique du fluide (de $\epsilon^{50^\circ\text{C}} = 71$ à $\epsilon^{400^\circ\text{C}} = 8$), l'eau devenant ainsi moins polaire. La variation

de température et, dans une moindre mesure, de pression permettent de couvrir une large plage de polarité. Cependant, à partir de 300 °C, les auteurs constatent une détérioration rapide de la cellule d'extraction et des lignes de transfert après seulement quelques utilisations. De plus, les risques de fuites sont plus importantes lorsque la température et la pression sont aussi élevées. Ils soulèvent ici le problème des limitations matérielles dues aux contraintes physiques imposées par des conditions expérimentales extrêmes rencontrées aussi bien en ESS qu'en EPS.

Woolley *et al.* [1995] utilisent du CO₂ sous pression pour pousser un mélange extractant DCM/acétone (1:1), provenant d'un réservoir, dans la cellule d'extraction pressurisée (10,3 MPa), chauffée à 100 °C et contenant l'échantillon de sol certifié. Un volume de 15 mL de solvant ainsi que 2 extractions successives de 5 min. sont nécessaires pour extraire convenablement 6 HPA de 10 g de sol (récupérations comprises entre 72 % et 104 % des valeurs certifiées).

Une pompe haute pression (HPLC) a été utilisée par Richter *et al.* [1996] pour extraire 16 HPA d'un sédiment marin certifié. Une phase statique suivie par une phase dynamique de 5 min. chacune (5 g d'échantillon, 100 °C, 13,9 MPa) permettent d'obtenir des taux de récupération compris entre 57 % et 198 % selon les composés.

Ainsi, les MOF, l'EPS et l'ESS semblent présenter un fort potentiel pour l'extraction des sols ou des sédiments. Il apparaît désormais intéressant de faire le point sur les capacités respectives de chacune de ces méthodes afin de les confronter.

La première partie de ce chapitre présente les principes théoriques des trois nouvelles techniques d'extraction testées, mettant en jeu des phénomènes physico-chimiques différents : MOF, EPS et ESS.

Après la description des conditions expérimentales pour l'ensemble des méthodes d'extraction, les capacités de récupération de l'EPS et de l'ESS sont évaluées grâce à l'emploi de sol dopé avec 13 phénols et 16 HPA à 12 mg.kg⁻¹.

Par la suite, des études préliminaires sur sol réellement contaminé sont exposées pour les MOF et l'ESS.

Enfin, un comparatif regroupant les deux méthodes conventionnelles (Soxhlet et ultrasons) ainsi que les trois techniques précédemment citées (MOF, EPS, ESS), est réalisé sur sol réellement contaminé. A l'issue de ces travaux, nous essaierons d'établir un choix parmi ces cinq techniques, en s'appuyant sur des critères quantitatifs et des considérations plus pragmatiques.

2. PRESENTATION DES NOUVELLES TECHNIQUES D'EXTRACTION UTILISEES : THEORIES ET PRINCIPES

2.1. Micro-ondes focalisées (MOF)

Le rayonnement micro-ondes est constitué d'une onde magnétique et d'une onde électrique, sinusoïdales, couplées en phase dans deux plans perpendiculaires lors d'une propagation libre.

Il n'existe aucune discontinuité dans les propriétés des radiations électromagnétiques. Ainsi, la détermination des domaines spectraux usuels (micro-ondes, rayons x, rayons γ , infrarouge, etc.) a essentiellement des origines, soit historiques, soit liées au mode de production de ces radiations. Les micro-ondes ou hyperfréquences appartiennent à la gamme des radiofréquences (30 kHz - 300 GHz) et couvrent une bande de fréquence de 300 MHz à 300 GHz.

La fréquence la plus souvent employée dans les appareils commerciaux et domestiques est de 2450 MHz afin de se conformer au règlement des radiocommunications (RR) mis en place en 1985 [Thuéry J. 1989]. Ce dernier détermine des bandes de fréquences réservées aux utilisations

particulières (en dehors de la télécommunication) ne perturbant pas les radiocommunications. 2450 MHz est la fréquence centrale de la bande réservée 2400-2500 MHz (article RR 752).

Les micro-ondes focalisées sont générées par un magnétron (figure 1). Elles sont introduites par un guide d'onde dans la cavité (surface conductrice fermée) résonante ou surdimensionnée, constituant le four. Les parois internes du four sont entièrement en métal afin de réfléchir complètement les micro-ondes. Le faisceau MOF permet d'obtenir un champ plus homogène et plus uniforme que lorsque les ondes ne sont pas focalisées, comme c'est le cas dans les fours domestiques par exemple.

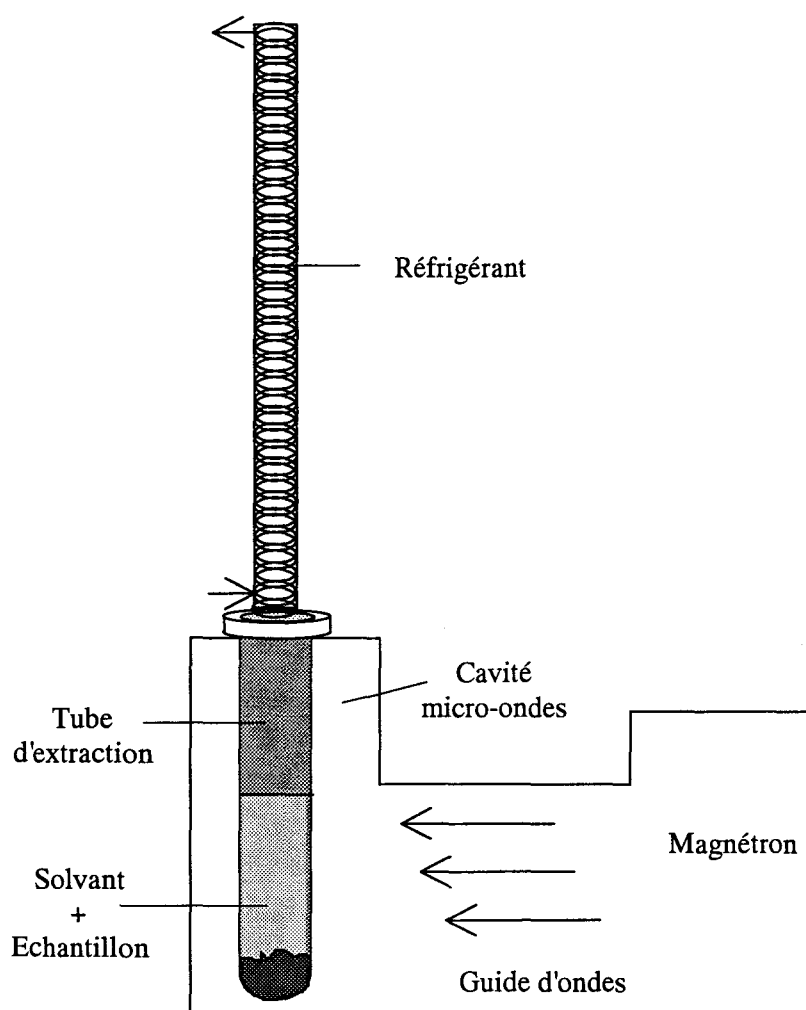


Figure 1 : Schéma du système d'extraction sous champ micro-ondes focalisées utilisé.

Ces radiations électromagnétiques non ionisantes provoquent la polarisation de la matière qui se traduit par le mouvement moléculaire issu de la rotation des dipôles. Elles n'ont donc aucun effet sur les structures moléculaires.

Un milieu qui peut être polarisé par un champ électrique extérieur, sans séparation complète des charges, est appelé diélectrique. Ce terme est souvent utilisé dans le sens isolant électrique en électrotechnique ou en électronique. Cependant, tous les matériaux présentent des propriétés

diélectriques déterminées par la mobilité des porteurs de charges (atomes, molécules, ions) et caractérisées par la permittivité relative (ϵ_r) :

$$\epsilon_r = \epsilon / \epsilon_0 \quad (1)$$

où ϵ est la permittivité du matériau et où ϵ_0 est la permittivité du vide [Chabanel M. et Gressier P. 1991, Van De Vorst A. 1991].

La permittivité relative est aussi appelée en optique la constante diélectrique. Elle traduit la capacité du matériau à bloquer l'énergie du champ électromagnétique qui le traverse. Elle est dépendante de la température.

La polarisation des molécules soumises à un champ électrique extérieur, est régie par divers processus :

- la polarisation électronique, conséquence du déplacement des charges négatives par rapport au centre des charges positives (noyaux supposés fixes dans la structure du diélectrique), faisant ainsi apparaître des moments dipolaires induits.

- la polarisation atomique, correspondant aux déformations de la molécule dans le champ extérieur. Ce terme est le plus souvent négligeable vis-à-vis des autres contributions.

- la polarisation ionique, se produisant dans les cristaux ioniques où les ions d'un signe peuvent se déplacer par rapport aux ions de signe opposé.

- la polarisation dipolaire (ou d'orientation) dans laquelle les molécules ayant un moment dipolaire permanent (molécules polaires, ions), tendent à s'orienter de telle sorte à avoir leur moment dipolaire parallèle au champ électrique appliqué. Cet effet d'orientation rentre en compétition avec l'effet de désordre résultant du phénomène d'agitation thermique. Cette polarisation n'est pas un phénomène de résonance contrairement aux polarisations électronique et ionique. Lorsque le champ électrique est enlevé, le retour au désordre thermique moléculaire nécessite une certaine durée (temps de relaxation) qui varie selon la nature du matériau. Plus le temps de relaxation (τ) est important, plus le matériau est considéré comme bon "isolant".

D'autres facteurs peuvent venir modifier le phénomène de polarisation, notamment lorsqu'il existe des associations de molécules très importantes, comme c'est le cas pour les solides et les liquides.

Les atomes des solides cristallins possèdent souvent des charges qui peuvent se déplacer plus facilement dans certaines directions. Cette caractéristique implique une dépendance directionnelle des propriétés diélectriques. La polarisation peut alors se produire dans une direction différente de celle du champ électrique appliqué (anisotropie).

Dans les liquides polaires purs, les moments permanents induisent des moments importants dans les molécules voisines, imprimant une corrélation d'orientation entre les dipôles voisins.

Par ailleurs, si l'on considère le matériau diélectrique, et non plus uniquement la molécule, un autre phénomène de polarisation intervient surtout pour les matériaux hétérogènes : la polarisation interfaciale. Lors de la polarisation d'un matériau diélectrique, il apparaît des charges sur sa surface ou aux interfaces structurales. Ces charges d'espace sont "liées" à des atomes ou des molécules déterminés assurant les liaisons chimiques. Elles peuvent migrer sur de très petites distances généralement inférieures aux distances interatomiques. Toutefois, elles ne sont pas libres de se mouvoir à travers le réseau cristallin constituant le matériau, comme c'est le

cas des électrons de conductivité ("libres") dans les métaux [Lorrain P. et Corson D.R. 1979, Roux P. 1993].

La polarisation d'un diélectrique sous l'action d'un champ électrique est donc un phénomène complexe, les charges mises en jeu étant distribuées localement dans les atomes, les molécules ou dans les structures des solides et des liquides. La polarisation totale issue de la somme des différentes contributions (ionique, dipolaire, etc.) varie selon la nature du diélectrique (ϵ_r). Par conséquent, les diélectriques peuvent présenter des phénomènes de résonance liés aux polarisations électroniques et ioniques, ainsi que des phénomènes de relaxation liés à la polarisation dipolaire.

En régime sinusoïdal, les interactions de l'ensemble du diélectrique sur le porteur de charge peuvent être modélisées par des forces d'amortissement et de rappel élastique. Ce modèle du second degré issu de la mécanique classique, est appelé modèle de Drude-Lorentz. Il s'applique correctement au mouvement du porteur de charge lors de la polarisation électronique ou ionique. Après résolution de l'équation différentielle caractérisant ce mouvement, il apparaît que la permittivité relative est de type complexe.

Dans le cas de la polarisation dipolaire, le phénomène de relaxation implique une modélisation de type premier degré. La permittivité relative acquiert aussi une notation complexe :

$$\epsilon_r(\nu) = \epsilon_r'(\nu) - j \epsilon_r''(\nu) \quad (2)$$

où ϵ_r' est le facteur de dispersion (partie réelle) et ϵ_r'' est le facteur de dissipation (partie imaginaire). La partie imaginaire de ϵ_r traduit la perte diélectrique du matériau qui mesure sa capacité à dissiper l'énergie micro-ondes. La permittivité relative du matériau dépend du temps de relaxation (τ) et de la fréquence (ν) du champ électrique. Le matériau est alors appelé dispersif.

Les parties réelle et imaginaire sont dépendantes l'une de l'autre par les relations de Krönig-Kramers. Lorsque la partie réelle est constante, la partie imaginaire est nulle. La variation de ϵ_r' entraîne l'existence de ϵ_r'' et confère un caractère complexe à la permittivité relative. Ainsi, le mouvement des porteurs de charges n'arrive pas à être synchrone avec les variations du champs électromagnétique : à basses fréquences, les molécules et les ions sont en premier lieu touchés par ce phénomène, puis ce sont les atomes, pour finir avec les électrons à très hautes fréquences. Un déphasage (ou hystérésis) se produit entre la polarisation totale et le champ électrique appliqué. Ce phénomène est lié à la fréquence du champ électrique sinusoïdal.

Les variations de ϵ_r' et de ϵ_r'' en fonction de la fréquence du champ impliquent que celle-ci détermine le type de polarisation qui prédomine le processus de polarisation du diélectrique. La représentation graphique de ϵ_r' en fonction de la fréquence possède des allures différentes selon le modèle explicité [Vander Vorst A. 1994, Pérez J.P. *et al.* 1991]. Le diagramme de Debye (figure 2) montre que l'alignement des moments dipolaires des molécules se produit dans le domaine des micro-ondes tandis que les résonances ioniques et électroniques se produisent respectivement dans l'infrarouge et dans le visible.

Il apparaît donc que seules les polarisations dipolaire et interfaciale contribuent à la polarisation totale lors de l'irradiation par micro-ondes.

La polarisation interfaciale peut s'avérer importante lors de l'exposition aux micro-ondes d'échantillons hétérogènes tels que des sols. En effet, ce type de polarisation peut se traduire par l'apparition d'un effet Maxwell-Wagner qui correspond à la chute de la constante diélectrique du système lors de l'augmentation de la fréquence du champ électrique et de la chute de la perte

diélectrique (ϵ_r'') liées entre elles par les relations de Krönig-Kramers [Böttler C.J.F. et Bordewijk P. 1978].

La polarisabilité dipolaire (α_d) traduit l'aptitude avec laquelle les charges peuvent s'orienter. Elle est décrite par l'équation de Debye :

$$\alpha_d = p^2 / (3kT\epsilon_0 (1 + j \omega \tau)) \quad (3)$$

avec p = moment dipolaire permanent, $k = 1,380.10^{-23} \text{ J.K}^{-1}$ (constante de Boltzmann) et $\omega = 2\pi\nu$ (pulsation du champ électrique alternatif) [Vander Vorst A. 1994].

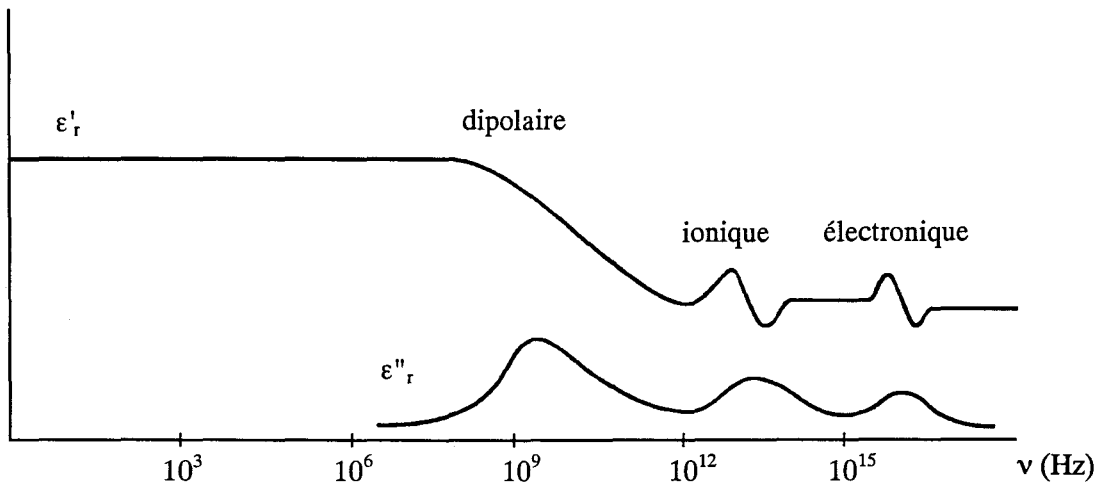


Figure 2 : Diagramme de Debye : variation de ϵ'_r et de ϵ''_r en fonction de la fréquence du champ électromagnétique appliqué et contribution des diverses polarisations à la polarisation totale [d'après Vander Vorst A. 1994].

A la fréquence de 2450 MHz, l'alternance orientation dipolaire/désordre thermique s'effectue $4,9.10^9$ fois par seconde [Barnabas I.J. *et al.* 1995(b)]. Lorsque le champ électrique alternatif change de direction, les molécules sont donc forcées de se réaligner. Les frictions issues des rotations dipolaires qui s'ensuivent, engendrent un échauffement rapide de la matière irradiée. La dissipation d'énergie par unité de temps dans un diélectrique idéal est déterminé par la relation suivante [Böttler C.J.F. et Bordewijk P. 1978] :

$$W = \omega (E^\circ)^2 \epsilon_r'' / 8\pi \quad (4)$$

avec E° = amplitude du champ électrique alternatif.

Cette création de chaleur est liée à la dissipation d'une partie de l'énergie micro-ondes par le matériau. Elle se produit pendant la période de relaxation et est optimale lorsque ϵ_r'' devient maximale. Elle se propage alors au sein du diélectrique selon trois mécanismes : conduction, rayonnement et convection (pour les liquides uniquement).

Tout le volume du matériau est le siège de l'action des micro-ondes. Par conséquent, ce mode de chauffage par pertes diélectriques est plus homogène que le chauffage classique par conduction qui génère un gradient décroissant de température, de la surface du matériau vers l'intérieur de celui-ci.

La chaleur ainsi produite fournit un apport d'énergie qui compense l'énergie d'activation mise en jeu dans les interactions de type Van der Waals, hydrogènes et dipolaires, rencontrées entre les analytes et les sites actifs de la matrice. Le franchissement de cette barrière d'énergie permet de rompre les interactions cohésive (analyte-analyte) et adhésive (analyte-matrice) présentes, favorisant ainsi le processus de désorption.

La puissance calorifique dissipée au sein du diélectrique est liée à la puissance du champ électromagnétique appliqué [Onuska F.I. et Terry K.A. 1995, Thuéry J. 1989]. Une puissance trop importante peut conduire à la dégradation des analytes. Toutefois, cet effet indésirable pour l'extraction de composés organiques, est sciemment utilisé dans d'autres applications telles que la minéralisation ou la digestion micro-ondes.

La présence de molécules d'eau libres dans le système à extraire est susceptible d'améliorer les performances des micro-ondes. En effet, ces molécules absorbent plus efficacement l'énergie micro-ondes par rapport aux molécules d'eau liées qui possèdent une constante diélectrique plus faible.

L'état actuel des connaissances en matière d'extraction micro-ondes ne permet pas de dire si les polarisations interfaciale ou dipolaire peuvent éventuellement avoir des effets spéciaux sur la matière irradiée autre que la production de chaleur, comme cela leur a été attribué par certains auteurs [Caddick S. 1995].

2.2. Extraction en Phase Supercritique (EPS)

2.2.1. Introduction

L'exploitation de l'extraction en phase supercritique à l'échelle analytique est un phénomène récent (une quinzaine d'années). Pourtant, les travaux de Cagniard de la Tour mettant en évidence l'état supercritique, datent de 1822. Par ailleurs, Hannay *et al.* ont montré en 1879 l'existence du pouvoir solvant des fluides supercritiques [Castioni P. *et al.* 1995, McLaren L. *et al.* 1968]. Ce n'est qu'après un développement principalement industriel dans le secteur agro-alimentaire, dans les années 1960, que l'intérêt pour les fluides supercritiques s'est accru. Les applications se sont par la suite diversifiées aux différents secteurs de la chimie :

- industrie alimentaire : préparation d'arômes à partir d'épices, extraction de bases pures, notamment lors de la décaféinisation du café,
- industrie cosmétique : extraction d'huiles essentielles, de bases de parfums,
- industrie pharmaceutique : extraction de principes actifs à partir de plantes.

Parallèlement, la chromatographie en phase supercritique (CPS) fit son apparition au milieu des années 1960. Elle tira partie des avantages des fluides supercritiques par rapport aux gaz et aux liquides, et notamment de l'influence de la température et de la pression sur le pouvoir solvant.

Malgré ce démarrage très lent, les fluides supercritiques suscitent un regain d'intérêt ces dernières années, depuis la commercialisation de systèmes d'extraction. Ces instruments bénéficiant des innovations de la CPS et découlant des acquis des procédés industriels, offrent

une alternative aux techniques d'extraction conventionnelles (Soxhlet, extraction liquide-liquide, ultrasons, etc.) dans le domaine de l'environnement.

Par ailleurs, les bases théoriques de l'EPS commencent à être établies. La conception de modèles et les observations expérimentales permettent une meilleure compréhension des mécanismes régissant l'extraction. La connaissance des interactions liant les FS aux composés à extraire est fondamentale pour l'optimisation de la technique. Par exemple, l'EPS s'avère particulièrement adaptée pour l'analyse de matrices solides telles que les sols (les FS ont des coefficients de diffusion plus importants que les liquides).

Les propriétés des FS d'une part, la diminution des durées et des coûts d'extraction d'autre part, ont contribué au rapide développement de l'EPS. Cette technique nécessite peu de solvant organique et peu de verrerie. Les quantités de solvant à recycler, provenant de l'extraction et du lavage du matériel, se trouvent donc réduites. Par conséquent, cette technologie émergente ouvre de nouvelles perspectives, notamment aux laboratoires de contrôles et d'analyses.

Nous allons regarder en détail les différents aspects de cette technique. En effet, sa mise en œuvre nécessite une étude bibliographique préalable afin d'appréhender toutes les difficultés qu'elle implique et de fixer le degré des connaissances nécessaires pour aborder cette technique.

2.2.2. Principe de l'EPS

La courbe délimitant les domaines gazeux et liquide dans le diagramme des phases (P, T) d'un corps pur s'arrête au point critique (P_c , T_c). Dans ces conditions de pression et de température, la phase gazeuse a la même densité que la phase liquide. Au dessus de sa température critique (T_c), un gaz ne peut pas se liquéfier quelle que soit la pression exercée. De même, au dessus de sa pression critique (P_c), un corps pur à l'état solide ou liquide ne peut passer à l'état gazeux, quelle que soit la température appliquée (figure 3).

Un fluide supercritique se caractérise donc par une température et une pression supérieures ou égales à celles de son point critique.

2.2.2.1. Propriétés des fluides supercritiques

Les propriétés chimiques d'un fluide supercritique sont proches de celles de son état liquide tandis que son comportement physique ressemble à celui de son état gazeux (tableau 2).

Tableau 2 : Propriétés des fluides supercritiques (FS) d'après Camel V. *et al.* [1992].

	Gaz	FS	Liquide
Masse volumique (g cm^{-3})	$(0,6-2).10^{-3}$	0,2-0,9	0,6-1,6
Viscosité (Pa s)	$(1-3).10^{-5}$	$(1-3).10^{-4}$	$(0,2-3).10^{-3}$
Coefficient de diffusion ($\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$)	0,1-1,0	$(0,1-5).10^{-4}$	$(0,2-3).10^{-5}$

La compressibilité, le coefficient de diffusion, la viscosité, la densité, le pouvoir solvant du FS sont des caractéristiques importantes en extraction en phase supercritique :

- la masse volumique (ρ) des FS est 100 à 1000 fois plus élevée que celle des gaz.
- une faible variation de pression, à température constante, entraîne une importante modification de la densité (qui varie rapidement autour du point critique) et du pouvoir solvant. Une élévation de pression se traduit par une augmentation de la masse volumique du FS, ce qui a pour effet d'accroître le pouvoir solvant au détriment de la sélectivité [Richard H. *et al.* 1992].

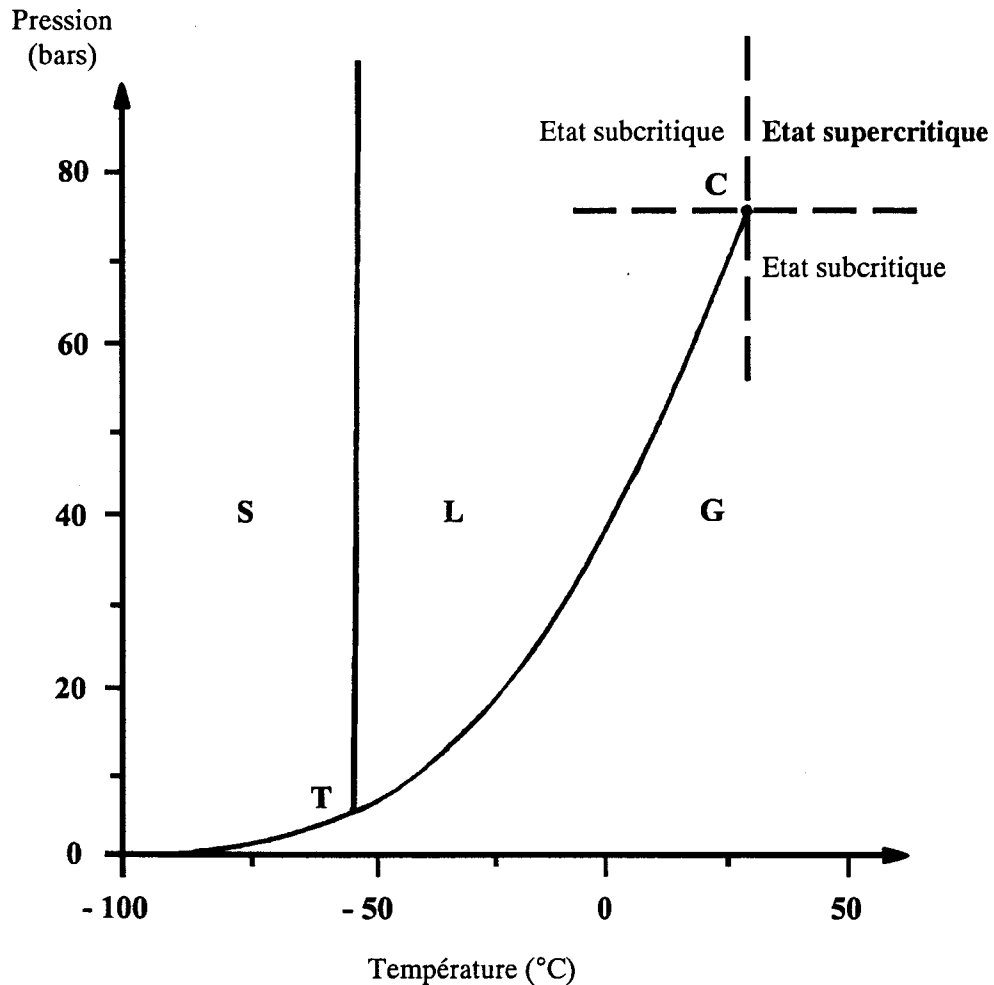


Figure 3 : Diagramme des phases (P, T) du CO₂. T : point triple (-56 °C, 5,1 atm), C : point critique (31 °C, 72,8 atm), S : état solide, G : état gazeux, L : état liquide.

- le coefficient de diffusion pour un FS est plus grand que pour un liquide, impliquant un transfert de masse plus conséquent et une meilleure efficacité de séparation qu'avec les liquides. De plus, la pénétration des FS dans les matériaux macroporeux est d'autant plus importante que la tension de surface des FS est nulle.

- la viscosité d'un FS influe sur le transfert de masse mais aussi sur le pompage et le balayage des échantillons par le FS. En effet, la viscosité des fluides supercritiques se situant entre celle des gaz et celle des liquides, la circulation du FS et l'efficacité du pompage se trouvent améliorées par rapport à l'emploi d'un liquide. De plus, l'absence de tension superficielle dans les fluides supercritiques combinée à une faible viscosité, améliore la vitesse de percolation du FS à travers le système d'extraction et, par conséquent, le passage du FS dans les interstices de la matrice [Furton K.G. et Rein J. 1991].

- la densité des FS est proche de celle des liquides. De ce fait, elle améliore les interactions, au niveau moléculaires, qui sont engagées dans le processus de solvation. Elle est facilement contrôlable par la pression et la température, d'où la possibilité d'ajuster les caractéristiques de solvation et de séparer les classes de composés. Si la densité est maintenue constante, une élévation de température provoque une augmentation du pouvoir solvant, notamment à cause d'une pression de vapeur du soluté et d'un coefficient de diffusion supérieurs

[Rouessac F. et Rouessac A. 1992, Rizvi S.S.H. *et al.* 1986]. Par conséquent, une succession d'extraction dans des conditions de température et de pression différentes, permet d'obtenir un fractionnement de l'extrait ou une sélectivité dans l'extraction d'un composé. Dans le cas du CO₂, une faible densité permet d'extraire les composés les plus volatils, tandis qu'une densité élevée permet de récupérer les composés les plus lourds [Wuchner K. et Grob R. 1995].

2.2.2.2. Pouvoir solvant

Au vu des propriétés physico-chimiques des fluides supercritiques, leur pouvoir solvant est donc modifiable par ajustement de la pression et de la température. Ceci rend l'emploi de FS très intéressant pour l'extraction de composés organiques.

Un FS présente une capacité à solvater les analytes proche de celle des liquides (lorsque leur densité augmente), mais avec les avantages de posséder une viscosité plus faible et donc d'une cinétique de transfert de masse plus importante. Le transfert de masse étant un des facteurs limitants lors de l'extraction, il influe sur les rendements d'extraction et sur le temps d'analyse.

Le pouvoir solvant des FS couvre un large domaine : de la similitude entre le dichlorométhane et le dioxyde de carbone supercritique jusqu'à la force de solvation phénoménale de l'eau supercritique qui dissout les métaux et la silice.

Les prédictions d'équilibre de solubilité de composés dans les solvants supercritiques sont très importantes pour l'optimisation des conditions en EPS. Cependant, les modèles théoriques sont très délicats à élaborer car les phénomènes qui régissent les équilibres de solubilisation sont complexes. Des déterminations expérimentales de la solubilité des composés dans les FS ont été réalisées en percolant le FS à travers un lit de solutés dans des conditions de température et de pression spécifiques. La pression est alors diminuée et les solutés précipitent. La solubilité est finalement calculée par granulométrie ou en collectant les composés pour une mesure quantitative par chromatographie ou spectroscopie [Mitra S. et Wilson N.K. 1991].

Une autre approche, la plus fréquemment rencontrée, est utilisée pour décrire la solubilité. Elle implique le paramètre de solubilité de Hildebrand (δ) proposé par Giddings, calculé empiriquement :

$$\delta = 1,25 P_c^{0,5} (\rho/\rho_{liq}) \quad (5)$$

avec δ exprimé en (cal.cm⁻³)^{0,5}; P_c en atm; ρ en g.cm⁻³ et ρ_{liq} en g.cm⁻³.

Le paramètre ρ_{liq} est défini comme étant la masse volumique du fluide dans son état liquide [Camel V. *et al.* 1992, Hawthorne S.B. 1990(b), Castioni P. *et al.* 1995, King J.W. 1989, Hawthorne S.B. et Miller D.J. 1987(a), Hawthorne S.B. *et al.* 1992].

Le pouvoir solvant est donc proportionnel à la masse volumique du FS et varie dans le même sens. Le terme en $1,25 P_c^{0,5}$ représente l'effet chimique dépendant de la nature chimique du FS (présence de moments dipolaires ou quadripolaires, polarisabilité, etc.). Les conditions de pression et de température (fonctions d'état) dans lesquels se trouve le FS, fixent l'effet d'état qui se traduit par le terme ρ/ρ_{liq} . Cette seule propriété du solvant la rend très particulièrement intéressante.

Tous ces modèles et théories semi-empiriques basés sur les contributions thermodynamiques (solvation, partition et diffusion) et cinétiques ne permettent pas de prévoir systématiquement, à partir des paramètres de solubilité, les résultats vérifiables expérimentalement [Barnabas I.J. *et al.* 1994, Hawthorne S.B. *et al.* 1992, Pawliszyn J. 1993, Langenfeld J.J. *et al.* 1992, Kane M. *et al.* 1993]. En effet, Ashraff-Khorassani *et al.* extraient par le protoxyde d'azote supercritique toutes les classes d'amines dans des sols pollués, alors

qu'ils ne parviennent qu'à extraire des amines aliphatiques tertiaires et aromatiques avec le CO₂ supercritique [Ashraf-Khorassani M. *et al.* 1990(a)]. Le CO₂ peut réagir avec les amines aliphatiques primaires et secondaires et former des carbamates insolubles. Par conséquent, le N₂O convient mieux pour ce type d'extraction bien qu'il ait, dans des conditions déterminées, un paramètre de solubilité voisin du CO₂.

Lors d'analyses de composés à l'état de traces dans l'environnement, la solubilité n'est pas un facteur limitant absolu car les quantités à extraire sont faibles. L'équation (5) devient moins importante à considérer. Toutefois, l'échantillon doit être extrait de façon représentative. Le FS doit donc avoir un pouvoir solvant élevé vis à vis du soluté cible. Lorsqu'il manifeste des affinités proches pour deux solutés, la sélectivité de l'extraction s'en trouve affectée. King [1989] suggère de trouver alors un compromis entre les conditions de solubilité maximale pour un soluté donné et la pression seuil (= threshold pression) pour déterminer le domaine de pression dans lequel il faut opérer. L'auteur définit la pression seuil comme étant la pression à partir de laquelle le soluté commence à être soluble dans le FS. Dans cet intervalle de pression, il est possible de régler la solubilité d'un composé par rapport à un autre.

Toutes ces relations et ces données de solubilité sont difficilement applicables lors d'extraction de composés à l'état de traces. Elles peuvent cependant donner un ordre d'idée pour fixer les conditions expérimentales initiales. Par ailleurs, les conditions optimales d'extraction doivent être souvent fixées pour des groupes de composés et non pas pour un seul, ce qui complique les prédictions. L'aspect de la solubilité n'est pas le seul paramètre qui entre en compte dans le processus de l'extraction. En effet, la distribution du soluté entre le FS et les sites d'adsorption de la matrice de l'échantillon, ainsi que la faculté du FS à rentrer en compétition avec les solutés pour ces sites sont autant de facteurs qui jouent des rôles importants dans la détermination des conditions optimales d'extraction. Les interactions entre les solutés, la surface de la matrice et le FS, ainsi que les cinétiques qui contrôlent ces interactions sont encore mal connues. Les modèles de mécanismes d'extraction pourraient alors être très utiles lors de l'emploi de FS modifiés.

Peut être du fait que l'extraction en phase supercritique provienne du monde industriel, où elle a été beaucoup exploitée, le pouvoir solvant est souvent contrôlé par les conditions de température et de pression. A température constante, l'augmentation de pression entraîne une amélioration du pouvoir solvant. De même, une variation de température agit sur le pouvoir solvant mais agit dans une bien moindre mesure. L'ajout en petites quantités de modificateurs polaires peut aussi permettre l'ajustement du pouvoir solvant.

La solubilité d'un composé dépend aussi de sa volatilité. Sur les diagrammes solubilité en fonction de la pression obtenus pour le système triglycérides/CO₂ (soluté/FS), les isothermes se coupent aux alentours de 350 atm [King J.W. 1989]. Lorsque la pression est supérieure à ce point d'inversion, la solubilité du soluté dans le FS varie proportionnellement à la température. Au contraire, lorsque la pression est inférieure au point d'inversion, une élévation de température diminue la solubilité. Ce phénomène s'explique par une augmentation exponentielle de la pression de vapeur du soluté. Par conséquent, la relation existant entre la solubilité et la volatilité du soluté peut rendre complexe l'optimisation des conditions expérimentales.

2.2.2.3. Choix d'un fluide supercritique

Un solvant supercritique doit répondre à plusieurs critères pour pouvoir être utilisé en EPS. Il doit être :

- capable de solubiliser les composés à extraire,
- stable dans les conditions d'extraction,
- inerte chimiquement vis à vis du soluté et de la matrice (pas de risque d'oxydation de certains composés),

- miscible avec les solvants de récupération et les modificateurs polaires,
- non corrosif vis à vis du système d'extraction,
- sélectif dans la séparation de composés.

Divers FS sont susceptibles de répondre à ces paramètres (tableau 3).

Par ailleurs, le FS doit présenter une pureté élevée pour ne pas polluer l'extrait. Bernal *et al.* ont montré que le FS pouvait introduire des interférences au niveau de l'extrait [Bernal J.L. *et al.* 1995]. Par exemple, les impuretés possibles du CO₂ supercritique sont de différentes natures. Des hydrocarbures chlorés ou fluorés et des alkylbenzènes sont détectés dans un CO₂ de qualité C₄₅ (99,995 %). Divers pics chromatographiques dont un correspondant au 4,4'-thiobis (2-tert-butyl-6-méthyl) phénol, sont présents lors de l'analyse d'un CO₂ de qualité C₆₀ EPS-CPS (99,9999 %). Dans les deux précédents CO₂ ainsi que dans un CO₂ de qualité C₅₀ (99,999 %), il apparaît d'une manière non systématique, des traces d'hydrocarbures aliphatiques. Curieusement, les impuretés contenues dans le CO₂ de qualité C₆₀ sont plus conséquentes que celles du CO₂ de qualité C₅₀. Ces deux gaz provenaient du même fournisseur : Air Products and Chemicals, mais pas du même site de production. Ces impuretés peuvent être d'autant plus gênantes que la quantité de dioxyde de carbone utilisée lors de l'extraction, est importante (cas du mode dynamique). Elles se concentrent sur l'adsorbant lorsque les solutés sont piégés en fin d'extraction. Par ailleurs, elles entraînent une perte de sensibilité (augmentation des limites de détections) au niveau de l'analyse [Onuska F.I. et Terry K.A. 1989]. La contamination du CO₂ peut être liée au procédé de production, à d'éventuels résidus de lubrifiants employés au cours de la fabrication ou aux conditions de stockage des bouteilles de gaz.

Tableau 3 : Caractéristiques de FS rencontrés en EPS.

FS	Poids moléculaire ^a	T _c ^a (°C)	P _c ^a (atm)	Densité critique ^a (g.cm ⁻³)	Facteur de compression critique ^a	Moment dipolaire ^a (debye)	Paramètre de solubilité de Hildebrand ^b (cal.cm ⁻³) ^{0,5}
CO ₂	44,01	31,0	72,8	0,468	0,274	-	10,7
N ₂ O	44,01	36,5	71,7	0,452	0,274	0,161	10,6
SF ₆	146,05	45,6	37,2	0,735	0,283	-	
NH ₃	17,03	132,4	112,0	0,235	0,244	1,471	13,2
H ₂ O	18,02	374,0	217,7	0,322	0,229	1,854	
CH ₃ OH	32,04	239,5	79,8	0,272	0,224	1,70	14,4
C ₂ H ₄	28,05	9,2	49,7	0,214	0,280	-	6,6
C ₂ H ₆	30,07	32,3	48,2	0,203	0,285	-	6,6
C ₃ H ₆	42,08	91,7	45,4	0,233	0,274	0,366	
C ₃ H ₈	44,10	96,7	41,9	0,217	0,281	0,084	
C ₆ H ₁₄	86,18	234,6	29,7	0,233	0,264	-	
CHClF ₂	86,47	96,2	49,2	0,513	0,274	1,42	
CClF ₃	104,46	28,9	38,2	0,579	0,278	0,50	
CHF ₃	70,01	26,2	47,9	0,528	0,259	1,651	7,8

^a: d'après réf. [Handbook of chemistry and physics, 1992, 72nd edition, CRC Press]; ^b: calculé pour des valeurs maximales de pression critique, d'après réf. [Hawthorne S.B. 1990(b)].

Par ailleurs, la mise en œuvre de certains FS est contraignante, voir dangereuse. En effet, certains fluides sont très réactifs (méthanol, ammoniac), possèdent une température critique très élevée (méthanol, eau), sont toxiques ou même inflammables (protoxyde d'azote, alcanes)

[Hawthorne S.B. *et al.* 1987(a), 1992, 1994(b); Howard A.L. *et al.* 1993]. Le N₂O présente un point critique proche de celui du CO₂ mais un moment dipolaire différent. Il permet l'extraction d'un plus grand nombre de classes d'amines par rapport au CO₂ mais est moins sélectif. Son utilisation génère plus d'interférences sur les chromatogrammes (GC/FID) obtenus à partir de sols dopés, que celle du CO₂ [Ashraf-Khorassani M. *et al.* 1990(a)]. De plus, des précautions d'usages doivent être prises afin d'éviter des explosions dues à l'emploi de grandes quantités de N₂O (oxydant puissant) à pressions élevées. Par exemple, l'installation d'une valve de sécurité est recommandée pour permettre une dépressurisation rapide du système de pompage et de la cellule d'extraction lorsque la pression dépasse 400 atm [Hawthorne S.B. et Miller D.J. 1987(a), 1987(b)].

Le dioxyde de carbone est par conséquent le FS le plus communément rencontré en EPS. Il possède un certain nombre d'avantages, notamment d'être à l'état gazeux à température ambiante et pression atmosphérique. Cette propriété permet une élimination (par détente) facilitée lors de la récupération des extraits et évite toute dégradation de l'extrait. Ses faibles T_c (31,0 °C) et P_c (73,8 bars) permettent l'extraction de composés thermodégradables. Il est ininflammable, peu toxique, miscible avec pratiquement tous les solvants (sauf l'eau et l'acide formique) et peut être obtenu très pur à moindre coût. Cependant, sa faible polarité, comprise entre celle du pentane et celle du chloroforme, ne lui permet d'extraire que des composés apolaires à moyennement polaires, tels que les :

- alcanes,
- alcools,
- aldéhydes,
- esters,
- HPA,
- PCB,
- pesticides organochlorés,
- herbicides,
- lipides,
- terpènes.

Cependant, la molécule de CO₂ peut présenter certaines affinités avec des composés plus polaires. En effet, le CO₂ supercritique peut former un complexe donneur-accepteur avec les électrons π fortement polarisables de certaines liaisons. L'ordre de solubilisation étant sensiblement identiques à l'ordre des insaturations [Andersen M.R. *et al.* 1989, McLaren L. *et al.* 1968].

D'une manière générale, les composés analysés par chromatographie en phase gazeuse sont également extraits quantitativement par le CO₂ supercritique [Hawthorne S.B. 1990(b), Wuchner K. et Grob R. 1995].

2.2.2.4. Modificateurs polaires

Afin d'augmenter la plage de polarité du CO₂ supercritique et la quantitativité de l'extraction, l'ajout de modificateurs polaires dans de faibles proportions est fréquemment pratiqué. Dans ce cas, la sélectivité de l'extraction se trouve alors réduite. Le mélange binaire obtenu ne possède pas le même point critique que le FS pur, un réajustement de la température et de la pression peut être alors nécessaire pour maintenir les conditions d'extraction supercritiques.

Le mode d'action du cosolvant est encore mal défini et a fait l'objet de nombreuses hypothèses. Il interviendrait à deux niveaux (les plus couramment exposés) : il augmente la solubilité des composés à extraire dans le mélange supercritique et peut agir comme agent mouillant au niveau de la matrice afin de faciliter la désorption des composés par une

compétition solutés/modificateur sur les sites d'adsorption de la matrice [Barnabas I.J. *et al.* 1995(a), Yang Y. *et al.* 1995(a), Fahmy T.K. *et al.* 1993, Pawliszyn J. 1993].

Si le volume de cosolvant ajouté est trop important, le FS modifié peut se trouver dans un état subcritique. Il arrive que le pourcentage de cosolvant dans le FS aille jusqu'à 30 % selon le type de modificateur employé. Le gain de polarité obtenu implique une augmentation du pouvoir solvant vis à vis des solutés polaires. Il est généralement plus conséquent que la diminution des coefficients de diffusion qui résulte des conditions subcritiques.

Peu de données sur la solubilité des fluides supercritiques modifiés sont connues ou répertoriées dans la littérature [Bartle K.D. *et al.* 1991], ce qui rend le choix des modificateurs un peu empirique. Les phénomènes de distribution du soluté entre la matrice et le FS modifié sont comparables à ceux observés en chromatographie en phase supercritique entre la phase stationnaire et le FS, ce qui peut donner un point de départ pour le choix du cosolvant. Il semble raisonnable de choisir un modificateur qui solubilise, dans son état liquide, le composé cible.

En faisant varier le pourcentage de cosolvant, il est possible de séparer les solutés selon leur classe ou de fractionner l'extrait. Cependant, une quantité maximale de cosolvant (pour le méthanol notamment) ne doit pas être atteinte car le FS modifié deviendrait trop polaire et produirait un effet nuisible sur les colonnes CPG non polaires [Barnabas I.J. *et al.* 1995(a)]. La modification des conditions opératoires influe aussi sur la séparation [Hawthorne S.B. et Miller D.J. 1986, Hawthorne S.B. 1990(b)]. A température constante, l'extraction à basse pression défavorise les solutés polaires. Des conditions de pressions élevées favorisent, au contraire, l'extraction des solutés plus polaires et de poids moléculaires plus importants. Un autre moyen sélectif consiste à piéger les solutés sur un adsorbant et de les éluer ensuite avec quelques millilitres d'un solvant approprié. Dans ce cas, le cosolvant modifie les propriétés de l'adsorbant qui peut alors perdre de son efficacité [Andersen M.R. *et al.* 1989].

Le FS modifié peut être préparé de différentes manières :

- le modificateur est pompé puis ajouté au FS au niveau du système de pompage.
- l'échantillon, placé dans la cellule d'extraction, est mélangé au cosolvant avant extraction.
- le gaz est prémélangé avec le modificateur dans la bouteille. Ce procédé n'est que très rarement utilisé du fait de la variation de la composition du mélange survenant lorsque la bouteille est presque vide [Camel V. *et al.* 1992, Reindl S. et Hofler F. 1994].

La manière de mélanger le cosolvant au CO₂ n'influe pas beaucoup sur les rendements de récupération. Cependant, lorsque le cosolvant est ajouté à l'échantillon, les rendements d'extraction en mode dynamique sont légèrement inférieurs à ceux obtenus lorsque le cosolvant est introduit au niveau du système de pompage. En effet, il est éliminé par le FS qui l'entraîne avec lui. Une période statique est alors souhaitable afin de prolonger son action [Gere D.R. *et al.* 1993, Bowadt S. *et al.* 1995].

L'effet du cosolvant dépend de sa nature, du composé cible et de la matrice de l'échantillon, quelque soit la température appliquée [Langenfeld J.J. *et al.* 1994].

Les modificateurs polaires rencontrés dans la littératures couvrent une grande variété de composés : alcools (notamment le méthanol qui est le plus utilisé), eau, acétone, acétonitrile et dichlorométhane [Reindl S. et Hofler F. 1994, Lee H.B. *et al.* 1993]. Par exemple, l'aniline (C₆H₅NH₂) a été décrit comme un bon modificateur polaire pour les PCB et les HPA mais il n'est pas particulièrement un bon solvant d'injection en CPG [Langenfeld J.J. *et al.* 1994].

2.2.3. Techniques d'extraction

2.2.3.1. Appareillage - techniques off-line / on-line

Divers auteurs ont décrit des systèmes d'extraction en phase supercritique plus ou moins élaborés [Castioni P. *et al.* 1995, Davies I.L. *et al.* 1988, Hawthorne S.B. *et al.* 1990(a), Veuthey J.L. *et al.* 1990, Ashraf-Khorassani M. *et al.* 1990(b), Mitra S. et Wilson N.K. 1990, Camel V. *et al.* 1993, Levy J.M. et Rosselli A.C. 1989(b), Onuska F.I. et Terry K.A. 1989]. Deux montages sont possibles : l'un consistant à la récupération des solutés dans un premier temps, suivi d'une analyse par une technique conventionnelle (chromatographie, infrarouge,...), indépendamment de la première étape (off-line). L'autre mettant en œuvre un couplage EPS/méthode d'analyse (on-line) qui est couramment de la chromatographie.

Quelques soit la technique choisie, l'appareillage d'extraction se compose de trois parties principales (figure 4) :

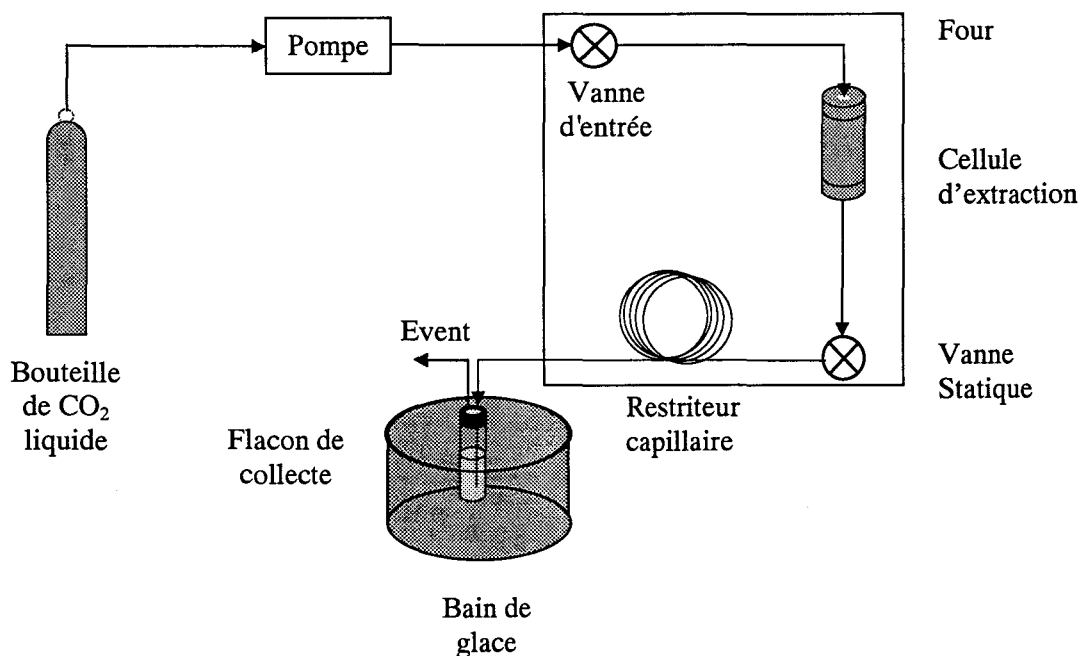


Figure 4 : Schéma du système d'extraction en phase supercritique off-line utilisé.

- le système de pompage délivre le FS et assure le contrôle de la pression à l'entrée du système. Il est constitué d'une pompe à piston ou d'une seringue (éventuellement de deux, si l'ajout de cosolvant est réalisé en amont de la cellule d'échantillon). Lors d'extraction à faibles débits, une seringue est plus appropriée car elle évite les pulsations provoquées par les pompes à pistons, et permet une meilleure maîtrise du débit. Toutefois, elle ne délivre qu'un volume limité de FS.

- la cellule d'extraction, généralement cylindrique, est enfermée dans une enceinte thermostatée. Elle accueille l'échantillon et éventuellement le modificateur polaire. Sa capacité varie en général de quelques millilitres à quelques dizaines de millilitres. Sa géométrie influe sur les rendements d'extraction. En effet, plus son diamètre est petit, plus le débit du FS traversant la

cellule sera important (pour un débit d'entrée identique). Par conséquent, si les composés cibles ont une cinétique de dissolution lente dans le FS, les rendements seront plus faibles, le temps de contact étant plus court. Dans ce cas, il est préférable d'utiliser une cellule plus grande, c'est à dire plus large mais plus courte afin d'obtenir un rapport longueur/diamètre plus important [Furton K.G. *et al.* 1991, 1992, 1993(b); Chester T.L. *et al.* 1994].

- le restricteur permet le contrôle de la dépressurisation à la sortie du système et la récupération des solutés. Il peut être soit une vanne de régulation de débit, soit un capillaire (le plus souvent) en acier inoxydable ou en silice fondue. Son diamètre intérieur (15 à 50 μm) influe sur les taux de récupération. Hawthorne et Miller [1987(b)] observent qu'une variation du diamètre du capillaire engendre une déformation des pics chromatographiques (technique on-line). Ce phénomène est dû à l'association de l'augmentation de la diffusion longitudinale, à faible vitesse linéaire, et de la faible efficacité du piégeage due à l'élévation du volume du flux [Andersen M.R. *et al.* 1989].

Un tube embobiné (de 0,5 à 1,0 m en général) placé dans l'enceinte thermostatée et reliant le système de pompage à la cellule d'extraction est couramment employé. Il permet de préchauffer le CO_2 avant son introduction dans la cellule.

La collecte de l'extrait dépend de la technique employée : off-line ou on-line. Le plus souvent, elle est réalisée en faisant barboter l'extrémité du restricteur dans quelques millilitres d'un solvant liquide de récupération (technique off-line). Les solutés entraînés par le FS se solubilisent alors dans le solvant et le CO_2 est éliminé par détente. Ce phénomène provoque le refroidissement du récipient et du solvant de récupération (effet Joule-Thompson). La viscosité du solvant ainsi refroidi s'accroît tandis que la taille des bulles de CO_2 (à l'état de gaz) diminue. Le transfert de l'analyte du gaz vers le solvant de récupération se trouve alors amélioré. Reindl *et al.* [1994] utilisent cette caractéristique en maintenant constant la température du solvant de récupération (environ 5 °C) pendant la phase de collecte pour réduire les pertes par volatilisation du solvant et des composés les plus volatils (formation d'un aérosol). Un débit important à la sortie du restricteur (débit de FS de 1 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, soit un débit gazeux voisin de 500 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$), limite les risques de colmatage par précipitation des solutés, qui intervient lors de la détente du CO_2 . Cependant, les pertes de composés volatils sont plus conséquentes et les risques de pollution de l'extrait par les impuretés contenues dans le FS, sont accrus [Chester T.L. *et al.* 1994]. Un autre moyen de collecter l'extrait consiste à piéger les solutés sur un adsorbant : gel de silice, florisil, ODS (gel de silice greffée avec des fonctions octadécyl). Un solvant approprié percolé à travers le piège permet ensuite de les désorber.

L'interface EPS/chromatographie est la principale source de problèmes survenant avec la technique on-line. En général, le FS n'est pas adapté au système d'analyse (sauf dans le cas de la CPS). L'interface doit alors faire l'objet d'une étude et d'une attention plus particulière pour pouvoir générer un transfert quantitatif de l'extrait. Le couplage EPS/CPG est le plus répandu dans la littérature, la CPS permettant une interface plus simplifiée mais impliquant des temps de séparation plus longs [Chester T.L. *et al.* 1994].

La chromatographie liquide haute performance, quant à elle, n'a été que très peu utilisée du fait de la difficulté de la mise au point de l'interface [Johansen H.R. *et al.* 1994].

Différents auteurs ont décrit précisément les interfaces possibles, mais les plus remarquables sont celles utilisant un piégeage cryogénique en sortie d'EPS, un piégeage sur adsorbant avec désorption thermique ou une récupération directe sur colonne chromatographique via un injecteur on-column ou split/splitless [Chester T.L. *et al.* 1994, Hawthorne S.B. *et al.* 1988, Ashraf-Khorassani M. *et al.* 1992, Mulcahey L.J. et Taylor L.T. 1992, Wu M. *et al.* 1993, Miller-Schantz M. et Chesler S.N. 1986, Wright B.W. *et al.* 1987, Xie Q.L. *et al.* 1989, Levy J.M. *et al.* 1989(a), Levy J.M. *et al.* 1990, Hawthorne S.B. *et al.* 1990(a)].

La technique off-line permet une gestion plus souple des appareils d'extraction et d'analyse puisque ces derniers ne sont pas dépendants l'un de l'autre. De plus, elle permet d'analyser plusieurs fois un même extrait en vue d'un contrôle de résultats. Elle est donc plus appropriée pour un laboratoire d'analyses en routine. Toutefois, les pertes de composés volatils sont réduites avec un couplage on-line, notamment dans le domaine des traces.

2.2.3.2. Modes d'extraction

L'EPS présente trois modes d'extraction : statique et/ou dynamique.

En mode statique, le FS est introduit dans la cellule d'extraction où il est maintenu à pression et température constantes pendant un temps déterminé. Un équilibre thermodynamique ternaire se crée entre la matrice, le soluté et le FS dans les conditions supercritiques fixées. La cellule est ensuite dépressurisée et l'extrait est collecté à la sortie du restricteur. Ce mode ne nécessite que peu de FS mais génère des temps de contact assez importants, prolongeant les durées des extractions, ainsi que le risque de saturer le FS en composés extraits.

En mode dynamique (le plus utilisé), le FS balaye en continu la cellule contenant l'échantillon. La pression est maintenue au sein de la cellule grâce au restricteur qui, de part son faible diamètre, limite le débit de sortie. Ce mode d'extraction permet de renouveler constamment le FS au contact de l'échantillon mais requiert un volume important de FS. Par ailleurs, les rendements de récupération sont meilleurs que ceux obtenus en mode statique. La vitesse d'extraction qui est le rendement d'extraction par unité de temps pour un débit de FS fixé, diminue exponentiellement. La plus grande partie du composé est donc isolée de la matrice en début d'extraction [Camel V. *et al.* 1992].

Très souvent ces deux modes sont combinés. La phase statique précède pendant une courte période, la phase dynamique afin d'obtenir une meilleure imprégnation du FS dans la matrice. Les rendements sont généralement améliorés par rapport à ceux obtenus simplement en mode dynamique, pour une durée d'extraction égale [Hawthorne S.B. *et al.* 1995].

2.2.3.3. Volumes morts

Les volumes morts présents dans les différentes parties du système d'extraction peuvent entraîner la contamination des extraits. Par conséquent, ils doivent être suffisamment balayés par le FS durant l'extraction ce qui implique d'imposer un débit minimum au FS. Ils affectent les durées et l'efficacité de l'extraction. Plus particulièrement, lors d'extraction par classes de composés, les fractions peuvent se remélanger partiellement [Andersen M.R. *et al.* 1989, Hawthorne S.B. 1990(b), Hawthorne S.B. *et al.* 1995].

Ils peuvent être réduits en complétant la chambre d'extraction qui contient déjà l'échantillon, par du sable purifié ou du sulfate de sodium anhydre par exemple. De plus, ce dernier assure une meilleure distribution du FS qui remplit la cellule, et augmente la surface de contact de l'échantillon [Bowadt S. et Johansson B. 1994]. Un autre moyen de restreindre les volumes morts est d'employer comme restricteur un capillaire plutôt qu'une vanne de régulation.

2.2.3.4. Interférences

2.2.3.4.1. Impuretés

Des interférences peuvent apparaître sur les chromatogrammes à la suite de l'emploi d'un volume trop important de FS (§ 2.2.2.3.) mais aussi après avoir effectué des extractions en série. En effet, des résidus provenant de la matrice peuvent s'accumuler sur les parois de la cellule d'extraction, du restricteur ou du piège (lorsqu'il est présent).

Ces impuretés sont limitées en changeant le restricteur ou en décontaminant les différentes pièces entre chaque extraction. Dans ce cas, au moins deux extractions consécutives doivent être

effectuées sans échantillon et dans les mêmes conditions opératoires [Bernal J.L. *et al.* 1995]. Toutefois, ce phénomène peut être surveillé par l'emploi régulier de blancs dans la séquence d'analyse.

2.2.3.4.2. Colmatage

L'obturation du restricteur est un des problèmes majeurs de l'EPS car plusieurs facteurs sont à l'origine de ce phénomène : CO₂, composés extraits, soufre, eau.

Lors de la récupération de l'extrait mettant en œuvre une technique off-line, la précipitation subite des analytes et des composés co-extraits peut entraîner le colmatage total ou partiel du restricteur. Il apparaît alors une variation du débit de sortie du CO₂ supercritique [Barnabas I.J. *et al.* 1994, Burford M.D. *et al.* 1993].

Le chauffage du restricteur est une méthode communément employée pour éviter la formation de solide sur les parois du restricteur [Wright B.W. *et al.* 1987, Miller D.J. *et al.* 1993].

Reindl et Höfler [1994] montrent que le volume du solvant de récupération diminue en fonction de la température appliquée. Ils préconisent un chauffage inférieur à 200 °C car une température trop élevée provoque l'évaporation forcée du solvant et accroît les risques de pertes des composés volatils. Lors de l'extraction des HPA de sols réellement contaminés, ils stabilisent la température du restricteur à 180 °C.

Par ailleurs, une température minimale de 50 °C est requise pour empêcher l'apparition de glace carbonique.

L'extraction d'échantillons contenant du soufre élémentaire entraîne aussi des problèmes de colmatage [Barnabas I.J. *et al.* 1995(a), Bowadt S. et Johansson B. 1994, Barnabas I.J. *et al.* 1994]. Pour y remédier, l'emploi de cuivre est fréquent (§ 2.2.3.4.3.).

La présence d'eau en grandes quantités dans l'échantillon provoque le colmatage lors de la récupération dans un solvant liquide. En effet, il se forme des cristaux de glace lors de la détente du CO₂ par l'effet d'abaissement de la température. L'addition d'un agent séchant (sulfate ou chlorure de magnésium ou sulfate de sodium anhydre) à l'échantillon avant extraction limite la présence d'eau et par conséquent les risques d'obturation du restricteur [Miller D.J. *et al.* 1993, Reindl S. et Höfler F. 1994].

Miller *et al.* [1993] contournent ce problème en mettant en œuvre une nouvelle technique de collecte. Ils n'utilisent pas de restricteur et collectent l'extrait dans un flacon vide scellé par un septum. Ils travaillent en mode statique et procèdent à la dépressurisation rapide (3-30 s) de la cellule d'extraction à travers un tube en acier inoxydable de diamètre élevé (178 µm i.d.). Ainsi, ils n'observent pas d'obturation du tube même lors d'extraction avec des échantillons humides. Ils montrent que par cette technique, moins de 5 % des HPA ont précipité dans le tube et la vanne de sortie.

2.2.3.4.3. Soufre

La présence de soufre à teneur élevée dans les sols peut détériorer les séparations et engendre des interférences lors de la détection chromatographique, pouvant aller jusqu'à la saturation du détecteur à capture d'électrons (ECD).

Le soufre élémentaire (S₈) est facilement extrait et se retrouve dans l'extrait final si aucune procédure de purification n'est entreprise. Généralement, le traitement par le cuivre ou le mercure métalliques est la plus répandue des pratiques. Cependant, le mercure doit être manipulé avec précaution à cause de son impact environnemental et de sa toxicité.

L'étape de purification peut être incluse dans le processus d'EPS pour limiter les pertes et les risques de contamination. Le cuivre de qualité analytique (Cu > 99,9 %) doit subir un

prétraitement avant d'être introduit dans la cellule d'extraction. Tilio R. *et al.* [1994] utilisent du cuivre en fines granules, lavé à l'acide nitrique dilué puis rincé à l'eau, à l'acétone et à l'hexane. Reindl et Höfler [1994] le placent dans la chambre d'extraction entre l'échantillon et le restricteur. Le mode statique est alors obligatoire pour obtenir une réaction (Cu/soufre) efficace [Pyle S.M. et Setty M.M. 1991]. La formation de sulfure de cuivre conduit à l'élimination du colmatage par les organosoufrés ainsi que la réduction des interférences chromatographiques.

Bowadt et Johansson [1994] montrent que le cuivre qui a un potentiel catalytique, ne présente pas cet effet lors de l'extraction des PCB de sédiments.

2.2.4. Matrice

2.2.4.1. *Nature et taille de l'échantillon*

L'échantillon est d'autant plus représentatif et homogène que sa taille est grande. Cependant, il est préférable d'employer de faibles quantités d'échantillon car la durée d'extraction ainsi que la quantité de fluide supercritique en dépendent directement. Généralement, la prise d'essai d'échantillon solide varie d'une centaine de milligrammes à une dizaine de grammes. Pour des concentrations se situant dans le domaine des traces, le choix de la taille de l'échantillon se révèle plus délicat. Les quantités les plus fréquemment rencontrées ne dépassent pas 5 g d'échantillon. Toutefois, de petites quantités d'échantillon doivent être employées avec les techniques on-line afin de prévenir toute saturation de la colonne chromatographique [Barnabas I.J. *et al.* 1994].

Les rendements de récupération dépendent de la structure, de la porosité, de la surface spécifique, de la polarité, de l'homogénéité, de la teneur en eau de la matrice, ainsi que de la taille et de la répartition des particules. Par exemple, le diamètre des grains influe sur le transfert de masse : plus les particules sont fines, plus la surface spécifique augmente, ce qui favorise les échanges. Le tamisage du sol avant extraction permet d'améliorer les rendements d'extraction ainsi que la diffusion de l'analyte et du FS au sein de la matrice. Toutefois en présence du FS, l'échantillon peut se compacter dans la cellule d'extraction et provoquer l'effet inverse si le tamisage est trop fin [Camel V. *et al.* 1993].

Lors de l'extraction de pesticides, Fahmy T.K. *et al.* [1993] constatent que l'humidité du sol peut jouer le rôle de modificateur polaire. La teneur en eau de l'échantillon influence aussi l'action des modificateurs polaires et peut être un facteur favorable à l'extraction de composés polaires. Inversement, elle peut s'avérer gênante pour les composés hydrophobes [Hawthorne S.B. 1990(b), Richard H. *et al.* 1992, Hawthorne S.B. *et al.* 1992, Camel V. *et al.* 1993]. Cependant, il y a une certaine quantité d'eau à ne pas dépasser, au delà de laquelle il peut se produire l'effet contraire escompté. De plus, Brady *et al.* [1987] constatent que la présence d'eau ralentit les extractions de PCB de sols humides.

Le prétraitement de matrices solides, tel que les sols, peut modifier l'échantillon. Des pertes en composés volatils peuvent survenir, notamment lors du séchage. Il est donc préférable de conserver les échantillons dans leur état naturel. Cependant, les conditions initiales dans lesquelles l'échantillon se trouve, ne sont plus aussi bien contrôlées (humidité, granulométrie). Dans ce cas, la transposition d'une méthode d'extraction pour un type d'échantillon à un autre, s'avère plus compliquée.

2.2.4.2. *Matrices dopées / matrices naturellement contaminées*

Si de nombreux auteurs ont utilisé des sols dopés afin d'optimiser les conditions opératoires en EPS et d'évaluer des rendements d'extraction, différentes études ont cependant montré les limites de cette procédure sur des échantillons environnementaux hétérogènes.

L'imprégnation d'analytes ne représentant pas réellement les effets de matrices rencontrés avec des sols naturellement contaminés, l'utilisation du dopage entraîne une surestimation des rendements d'extraction [Hawthorne S.B. *et al.* 1992, 1993; Langenfeld J.J. *et al.* 1993, Bowadt S. et Johansson B. 1994, Barnabas I.J. *et al.* 1995(a), Bowadt S. *et al.* 1995, Seidel V. et Lindner W. 1995].

Que ce soit lors d'une extraction par ultrasons ou lors d'une EPS, Buford *et al.* [1993] observent des différences d'autant plus marquées que les HPA sont volatils. Ces derniers présentent donc des associations beaucoup plus fortes avec les échantillons réels que lors de dopages. Ainsi le naphthalène qui se trouve généralement en majorité dans la phase vapeur lors d'une contamination, est l'HPA le plus difficilement extractible des sols, malgré qu'il soit le plus volatil, le plus soluble dans le CO₂ supercritique et le plus biodégradable des HPA [Bartle K.D. *et al.* 1991, Hawthorne S.B. et Miller D.J. 1994(a)].

La nature ainsi que le mode de contamination (formation de l'analyte suite à une dégradation ou une réaction chimique au sein de la matrice, adsorptions superficielles, imbrications, durée d'exposition analyte/matrice, etc.) influencent la force des liaisons qui s'établissent entre l'analyte et la matrice [Langenfeld J.J. *et al.* 1993, Camel V. *et al.* 1993].

Les HPA ont souvent été utilisés comme analytes tests car ils présentent une large variété de poids moléculaire et de points d'ébullition. Bien qu'ils soient relativement non polaires et solubles dans le CO₂ supercritique, ils peuvent développer des interactions fortes avec les sites actifs polaires de la matrice (notamment de type π). Ainsi, les HPA de poids moléculaire élevé sont extraits plus difficilement que les HPA plus légers. De plus, l'élévation proportionnelle au poids, du nombre de cycles benzéniques (système π) entraîne une chute de leur solubilité dans le CO₂ ou l'hexane supercritique par exemple [Johnston K.P. *et al.* 1982]. Leur désorption est donc dépendante de ces facteurs et notamment de la nature des matrices extraites [Hawthorne S.B. et Miller D.J. 1987(a), Barnabas I.J. *et al.* 1995(a), Miller D.J. *et al.* 1993].

Ainsi, la majeure partie des HPA dopés se trouvent fixés sur les sites les plus labiles de la matrice qui peuvent être facilement extraits, alors que les HPA originels se situent sur les plus résistants [Alexandrou N. et Pawliszyn J. 1989].

Lors d'un dopage, les adsorptions étant superficielles, les cinétiques de désorption sont rapides; ce qui n'est généralement pas le cas avec des échantillons réellement contaminés.

L'utilisation du dopage permet cependant d'évaluer les rendements de collection après une EPS afin de montrer que les conditions opératoires établies permettent le piégeage quantitatif des composés cibles [Miller D.J. *et al.* 1993, Hawthorne S.B. *et al.* 1992].

Quoiqu'il en soit, les conditions d'extraction doivent être beaucoup plus rigoureuses et contrôlées lors d'extractions sur sols naturellement pollués que lors d'extractions effectuées sur sols témoins où le soluté a été déposé par imprégnation [Bowadt S. et Johansson B. 1994, Seidel V. et Lindner W. 1995].

2.2.4.3. Effets de matrices

Par ailleurs, il ressort de différentes études que deux processus seraient susceptibles de contrôler l'EPS [Barnabas I.J. *et al.* 1994, Burford M.D. *et al.* 1993].

Le premier correspondrait au transfert irréversible du composé de la matrice vers le FS. Cette étape de désorption est limitée par un phénomène cinétique.

Le second serait lié à la solubilité de l'analyte et à sa rétention chromatographique sur les sites actifs de la matrice. Cette étape d'élution serait limitée par la partition du soluté entre le FS et les sites actifs.

Hawthorne *et al.* [1995] étudient l'effet du débit du CO₂ sur les rendements d'extraction d'HPA issus de sols dopés et de sols naturellement contaminés. Ils mettent en avant la possibilité que le processus d'extraction soit dominé par l'une de ces deux étapes selon les cas.

En effet, l'étude d'un sol dopé permet l'évaluation de l'étape d'élution. Les composés étant faiblement liés à la matrice, l'étape de désorption devient négligeable.

Par contre, l'étude sur sols naturellement contaminés permet d'évaluer plus particulièrement l'étape de désorption; notamment lorsque celle-ci est plus lente que la seconde (donc limitante). Ce cas est généralement observé avec des composés de haut poids moléculaire mettant en jeu des interactions fortes avec la matrice.

De manière générale, si les rendements d'extraction varient en fonction du débit, l'étape d'élution prédomine. Le mode statique sera alors moins efficace que le mode dynamique pour une même durée d'extraction.

Au contraire, si l'accroissement du débit conduit à des variations de rendements faibles ou nulles, l'étape de désorption limite alors l'extraction. Le mode statique est souvent aussi efficace que le mode dynamique pour un laps de temps donné. Dans ce cas, le tamisage de l'échantillon permet d'améliorer la diffusion du FS à travers la matrice ainsi que les transferts de masse. De plus, la prise d'essai a peu d'effet sur les rendements contrairement au premier cas où les faibles quantités d'échantillon sont plus souhaitables (à débits de FS identiques).

2.2.5. Influence de la température sur les rendements d'extraction

L'extraction de certains composés organiques dans des conditions d'EPS considérées comme conventionnelles (200 à 400 atm et 40 à 80 °C) s'est avérée insuffisamment quantitative. Plusieurs études où le FS était du CO₂ pur, ont conduit à cette constatation pour divers échantillons environnementaux (sédiments, sols, suies de diesel, particules de l'air, etc..) [Langenfeld J.J. *et al.* 1994, Langenfeld J.J. *et al.* 1993, Alexandrou N. *et al.* 1992, Hawthorne S.B. et Miller D.J. 1987(a), Hawthorne S.B. *et al.* 1990(a), Alexandrou N. et Pawliszyn J. 1989, Hawthorne S.B. *et al.* 1992, Pawliszyn J. 1993]. Les différentes approches permettant d'améliorer la quantitativité consistent à augmenter la pression (afin d'accroître la densité du FS ainsi que la solubilité de l'analyte dans le FS), à ajouter un modificateur polaire au FS ou à changer de FS pour un fluide plus adapté mais plus contraignant d'utilisation que le CO₂ [Hawthorne S.B. *et al.* 1987(b), 1994(b)]. Lors d'une étude consacrée à l'influence de la pression, de la température, de la durée d'extraction et du pourcentage de méthanol ajouté, Barnabas *et al.* affirment que seuls les deux derniers paramètres influencent significativement les rendements d'extraction [Barnabas I.J. *et al.* 1995(a)]. Ces travaux, traitant d'HPA issus d'un sol naturellement contaminé, ont cependant été réalisés dans des domaines de pression et de température relativement peu élevés (de 100 à 290 atm et de 40 à 100 °C).

Depuis trois-quatre années, une nouvelle démarche consiste à élever la température à pression constante [Langenfeld J.J. *et al.* 1993, Hawthorne S.B. et Miller D.J. 1994(a), Lee H.B. *et al.* 1993, Levy J.M. et Ravey R.M. 1993, Tang P.H. *et al.* 1993, Meyer A. *et al.* 1993]. A l'époque, un grand nombre d'analystes était convaincu que la diminution de la densité du FS (provoquée par une élévation de température) entraînait une chute de la solubilité des composés dans le FS. Par conséquent, les températures classiquement employées étaient relativement peu élevées. Cependant, les travaux de plusieurs auteurs ont démontré que la solubilité d'un composé n'est pas uniquement fonction de la densité du CO₂, mais aussi de la pression de vapeur de l'analyte [Yang Y. *et al.* 1995(a)]. Miller *et al.* ont récemment montré que la solubilité de l'anthracène dans le CO₂ est améliorée (50 fois) lorsque la température est portée de 50 à 200 °C alors que la densité à 200 °C (0,41 g.mL⁻¹) est plus de la moitié de celle constatée à 50 °C (0,93 g.mL⁻¹) [Miller D.J. et Hawthorne S.B. 1995, Hawthorne S.B. et Miller D.J. 1994(a)]. Ils observent également que l'élévation de température à pression constante a un effet plus marqué que l'élévation de la pression à température constante.

Deux hypothèses ont été exposées quant à l'origine de l'amélioration de l'extraction après une élévation de température.

2.2.5.1. Volatilisation

Pour certains analytes, la pression de vapeur joue un rôle déterminant par rapport à celui de la diminution de la densité du FS provoquée par l'élévation de température.

Lors d'une étude de désorption thermique à 200 °C menée sur un sol pollué en HPA, Hawthorne et Miller [1994(a)] ont récupéré au mieux moins de la moitié des HPA les plus volatils (44 %) et aucun des HPA de poids moléculaire élevé. Ils ont mis en avant, lors de la comparaison EPS/thermo-désorption que le seul phénomène de volatilisation ne permet pas d'expliquer les différences de rendements entre les deux procédés.

2.2.5.2. Cinétique de désorption

D'autres auteurs ont émis l'hypothèse que la cinétique du procédé de désorption de l'analyte est améliorée par une élévation de température [Yang Y. *et al.* 1995(a), Langenfeld J.J. *et al.* 1993, Pawliszyn J. 1993]. Hawthorne et Miller [1994(a)] ont étudié l'effet de la température sur les cinétiques de désorption d'HPA issus de sols pollués. Ils concluent que différentes sortes d'interactions existent entre les HPA (pris individuellement) et les sites de la matrice. Ainsi, les HPA les plus légers montrent moins d'affinités avec le sol que les HPA de poids moléculaire élevé qui sont, par ailleurs, moins solubles dans le CO₂ supercritique [Johnston K.P. *et al.* 1982].

Langenfeld *et al.* [1993] suggèrent que l'élévation de la température permet d'augmenter la solubilité des PCB dans le FS. Toutefois, ils concluent que la désorption et non pas la solubilité, contrôle les rendements. La solubilité de l'analyte dans le FS peut être un facteur limitant seulement après le franchissement de la barrière d'énergie de désorption. Une température élevée peut alors procurer au système l'énergie suffisante pour dépasser cette barrière. Suivant la matrice et les composés cibles, la barrière d'énergie qui est directement liée à la force des interactions matrice/analytes, sera plus ou moins importante et, par conséquent, plus ou moins difficile à franchir. Au cours de leurs travaux sur des sédiments marins, Yang *et al.* [1995(a)] arrivent aux mêmes conclusions. Ils émettent l'hypothèse que les cinétiques de désorption des analytes du FS limitent les rendements d'extraction. Les modes statique/dynamique et dynamique conduisent à des récupérations sensiblement similaires pour un temps total identique. Ainsi, 15 min. statique/ 15 min. dynamique donne des résultats légèrement supérieurs à 30 min. dynamique. Par conséquent dans tous les cas, les taux d'extraction de ces échantillons sont contrôlés plus par la cinétique de désorption que par le phénomène de solubilité. Un simple ajout de cosolvant dans la cellule d'extraction (avec une étape statique) devrait être suffisant pour améliorer les rendements.

2.2.5.3. Effets observés

L'influence de la température sur les rendements d'extraction est marquée différemment selon la nature du sol ou du sédiment étudié, et selon la concentration en composé cible. Par exemple, l'élévation de la température a peu d'effet sur les rendements d'HPA extraits de sols contaminés, contrairement à l'impact observé sur des HPA extraits de particules de l'air ou sur des PCB issus de sédiments de rivière. Par ailleurs, l'augmentation de la pression de 350 à 650 atm ne permet pas d'améliorer significativement les rendements à 50 ou 200 °C [Langenfeld J.J. *et al.* 1993].

Indépendamment de la matrice étudiée, une élévation de température favorise l'extraction des polluants [Yang Y. *et al.* 1995(a)]. Ainsi, l'augmentation de la température à 200 °C accroît les rendements des HPA quel que soit leur poids moléculaire.

Cependant, Hawthorne et Miller [1994(a)] n'ont observé que peu de différences de rendements entre une EPS de sols pollués en HPA à 200 °C ou à 350 °C.

L'augmentation excessive de la température conduit à un plafonnement des rendements d'extraction, à la dégradation pyrolytique de certaines espèces (amines aromatiques notamment)

et à la production possible de composés de faible poids moléculaire [Hawthorne S.B. et Miller D.J. 1994(a), Yang Y. *et al.* 1995(a)]. Ce phénomène a donc une portée limitée. Par exemple, Hawthorne et Miller [1994(a)] s'interrogent sur la possible dégradation du pentachlorophénol en 2,4-dichlorophénol lors d'une EPS à 350 °C sur un sol industriel. Par ailleurs, les conditions expérimentales impossibles aux instruments commerciaux ne permettent pas toujours d'atteindre des températures aussi élevées.

2.2.5.4. EPS / Soxhlet

Divers auteurs font la constatation que l'EPS réalisée dans des conditions conventionnelles (50 °C, 400 atm, CO₂ pur) conduit à des rendements d'HPA généralement inférieurs à ceux obtenus après 18 heures d'extraction au Soxhlet (CH₂Cl₂ ou mélange CH₂Cl₂/acétone (50/50, v/v)). Par contre, l'EPS à 200 °C conduit à des rendements comparables ou plus importants pour certains composés que ceux provenant du Soxhlet. Ainsi dans ces conditions, l'EPS permet d'atteindre en 40 minutes les concentrations certifiées par l'EPA pour un sol contaminé en HPA, sans pour autant utiliser un cosolvant ou un FS plus dangereux [Langenfeld J.J. *et al.* 1993]. Levy J.M. et Ravey R.M. [1993] obtiennent des résultats similaires pour des HPA issus de sédiments de rivière extraits, d'une part pendant 16 à 24 heures de Soxhlet (selon EPA 8270) et d'autre part, 55 min. d'EPS (150 °C, 575 atm, CO₂ pur). Il apparaît une amélioration des rendements d'HPA lourds lors de l'élévation de température de 40 à 150 °C.

Malgré l'amélioration des rendements après l'élévation de la température à 200 °C, les HPA de haut poids moléculaire (tel que le benzo(g,h,i)pérylène et l'indeno(1,2,3-c,d)pyrène) sont mieux extraits par Soxhlet que par EPS en utilisant du CO₂ pur [Langenfeld J.J. *et al.* 1993, Hawthorne S.B. et Miller D.J. 1994(a)].

2.2.5.5. Combinaison température élevée / modificateur polaire

Le cosolvant n'agit pas de façon identique à l'élévation de température. Il occupe les sites actifs de la matrice et empêche toute partition ou réadsorption dessus [Langenfeld J.J. *et al.* 1994, Yang Y. *et al.* 1995(a)]. Il agirait sur le complexe analyte/matrice en abaissant l'énergie d'activation de désorption [Alexandrou N. *et al.* 1992]. Il aurait donc une action complémentaire à celle de la température qui fournit, quant à elle, de l'énergie au système pour pouvoir dépasser la barrière.

Les mécanismes par lesquels le modificateur polaire et la température agissent sont encore inconnus. Toutefois, les effets du cosolvant et de la température sembleraient être cumulatifs lors de l'extraction d'HPA lourds issus de matrices environnementales [Yang Y. *et al.* 1995(a)]. De plus, l'effet de l'un des deux paramètres (modificateur) est dépendant de la matrice contrairement à l'autre.

2.3. Extraction Subcritique par Solvant (ESS)

L'Extraction Subcritique par Solvant est une technique destinée aux matrices solides. Elle est dérivée du principe de l'EPS, à savoir l'amélioration des propriétés physico-chimiques des solvants par élévation de la pression et de la température. Par conséquent, nous n'approfondirons pas les différents aspects de cette technique car ils recoupent ceux de l'EPS exposés précédemment.

Le solvant se trouve dans des conditions de pression supérieures à sa pression critique mais demeure dans des conditions de température inférieures à sa température critique (état subcritique). Ainsi, le solvant reste à l'état liquide mais se trouve proche du domaine supercritique. L'avantage d'opérer avec un fluide à l'état liquide plutôt que gazeux à pression et température ambiante, réside dans le mode de collecte où des problèmes de pertes par

volatilisation sont souvent rencontrés en EPS off-line [Hawthorne S.B. *et al.* 1995, Reindl S. et Höfler F. 1994, Chester T.L. *et al.* 1994].

Les effets engendrés par l'augmentation de pression sont :

- le maintien du solvant en dessous de son point d'ébullition en dépit de l'élévation de la température,
- la pénétration du solvant dans certains pores obstrués par de l'eau ou par une bulle d'air, ce qui n'aurait pas été possible sous pression atmosphérique.

L'application d'une température élevée provoque :

- l'accroissement de la solubilité des analytes dans le solvant,
- l'amélioration de la solubilité de l'eau dans les solvants organiques,
- la diminution de la viscosité du solvant,
- la rupture plus facile des interactions existant entre les analytes et la matrice (apport d'énergie afin de compenser l'énergie d'activation),
- la baisse de la tension superficielle du solvant, de la matrice et des analytes impliquant une meilleure imprégnation de la matrice,
- l'augmentation des coefficients de diffusion et de la rapidité de la solubilisation des analytes dans le solvant.

Tous ces effets favorisent donc le transfert de masse.

Le descriptif de l'appareillage employé en ESS s'apparente à celui de l'EPS (figure 5). Il est principalement constitué d'un réservoir à solvant, d'une pompe réglable jusqu'à 3000 psi (20,7 MPa), d'une cellule d'extraction, d'un four, d'une bouteille d'azote, de plusieurs vannes pneumatiques et d'un flacon de collecte de 60 mL qui est fermé par un septum percé d'un événement. Un microprocesseur ainsi que des capteurs permettent de paramétrer et de contrôler les différentes étapes de l'extraction. Les lignes de transfert sont des capillaires de diamètre externe 1/16" (1,6 mm), en acier inoxydable.

Une fois scellée, la cellule d'extraction est introduite dans le four, remplie de solvant, pressurisée et chauffée. Après une phase statique durant laquelle un équilibre thermodynamique s'instaure, le solvant est récupéré dans le flacon de collecte lors de la dépressurisation du système. Du solvant est ensuite pompé dans la cellule (phase dynamique). Le système (cellule - lignes de transfert) est purgé par de l'azote à 150 psi (1 MPa) pendant 1 min. et la cellule est sortie du four. Le rinçage de la ligne de transfert par le solvant d'extraction est alors effectuée durant 1 min. après chaque extraction.

3. PROCEDURE ANALYTIQUE

3.1. Réactifs et solutions étalons

Les hydrocarbures polycycliques aromatiques et les phénols étudiés sont listés dans le tableau 6.

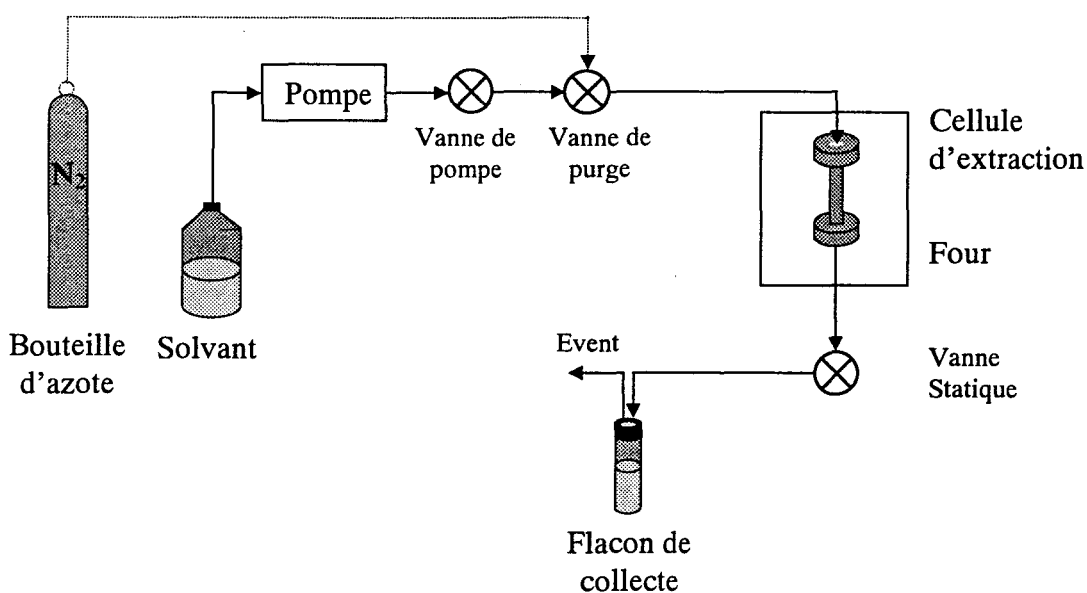


Figure 5 : Schéma du système d'extraction subcritique par solvant utilisé.

Tous les réactifs et solvants utilisés dans cette étude répondent à la qualité "pour analyse" ou sont de qualité "pesticide". L'eau déionisée utilisée est ultra pure ($18\text{ M}\Omega$) ou de qualité HPLC. Pour plus de commodité, elle sera par la suite notée ED.

La solution mère contenant les 16 HPA à 100 mg.L^{-1} dans le méthanol est obtenue à partir d'une solution commerciale (Ultra Scientific) certifiée à 2 g.L^{-1} ($\pm 1\%$ selon les composés) dans le dichlorométhane/benzène (50/50, v/v).

La solution mère contenant les 13 phénols à 100 mg.L^{-1} dans le méthanol est obtenue à partir de deux solutions commerciales à 2 g.L^{-1} dans l'isopropanol.

La solution fille de phénols et d'HPA à 48 mg.L^{-1} dans le méthanol est obtenue par dilution des deux solutions mères précédentes. Elle est utilisée pour les dopages et les études préliminaires effectuées pour les nouvelles techniques d'extraction.

Les gammes servant à la calibration lors de l'analyse chromatographique sont préparées par acétylation (§ 3.5.), dans 1 mL d'hexane, de la solution fille précédemment citée. Un étalon interne est ajouté à la phase organique lavée pour plus de détails sur les conditions d'acétylation).

3.2. Conditionnement de l'échantillon

Le sol employé lors du dopage en EPS et en ESS (sol n°1) est prélevé en dessous de la couche sédimentaire après curage d'une rivière qui est située dans le Pas-de-Calais (France).

Le sol réellement contaminé (sol n°2) en HPA et en pentachlorophénol (PCP) provient de l'entrepôt d'une gare désaffectée, située dans le Pas-de-Calais (France).

Les caractéristiques physico-chimiques des deux sols sont regroupés dans le tableau 4.

La préparation du sol se déroule de manière identique pour les deux types de sol. L'échantillon est séché à l'air pendant 24 h, broyé à l'aide d'un pilon et d'un mortier en verre, séché de nouveau à l'air durant 24 h, passé au travers d'un tamis en acier inoxydable de diamètre nominal égal à 2 mm et homogénéisé. Après ce traitement, l'humidité résiduelle du sol n°1 est de $(7,3 \pm 0,1)\%$ et celle du sol n°2 est de $(9,9 \pm 0,1)\%$.

L'échantillon de sol est enfermé dans un bocal en verre, fermé hermétiquement par un bouchon possédant un joint en caoutchouc. Une feuille en aluminium est disposée au niveau du col afin d'éviter tout contact entre le sol et le joint. L'échantillon est conservé à 4 °C dans l'obscurité.

Tableau 4 : Caractéristiques physico-chimiques des sols étudiés.

Sol	Argile g.kg ⁻¹	Limon fin g.kg ⁻¹	Limon grossier g.kg ⁻¹	Sable fin g.kg ⁻¹	Sable grossier g.kg ⁻¹	C organique total (%) ^a
n°1	143	427	280	150	-	1,1
n°2	21	80	99	248	552	2,4

^a: oxydation sulfochromique (norme AFNOR NF X31-109).

3.3. Méthodes d'extraction

Dans ce chapitre, cinq techniques d'extraction sont comparées : deux méthodes conventionnelles (Soxhlet et ultrasons) ainsi que trois méthodes qui subissent un développement important (MOF, EPS, ESS). Chacune de ces trois dernières méthodes sont expérimentées séparément afin d'évaluer les possibilités offertes pour chacune d'entre elles.

Les conditions expérimentales originellement fixées pour le comparatif (réalisé au § 4.1.3.), sont basées sur deux paramètres usuellement utilisés et définis pour le Soxhlet : 5 g de sol extrait avec du dichlorométhane; à l'exception de l'EPS où l'extractant est du CO₂ et où le DCM est employé en tant que solvant de récupération.

Tous les essais, sur sols dopés ou réellement contaminés, se composent de séries comportant au moins cinq extractions effectuées dans des conditions identiques (n=5). Un blanc est systématiquement réalisé dans chaque série, afin de contrôler et de prendre en considération les éventuels interférents générés par le matériel ou la procédure analytique.

3.3.1. Soxhlet

Le sol est pesé dans une cartouche en cellulose d'une longueur de 8 cm et de diamètre intérieur de 3,3 cm. Cette cartouche permet d'éviter l'entraînement par le solvant de particules d'échantillon lors du fonctionnement du siphon.

Quelques morceaux de pierre ponce sont ajoutés aux 220 mL de solvant afin de répartir le chauffage. L'extraction se déroule pendant 8 h.

3.3.2. UltraSons

Un tube à centrifuger de 100 mL dans lequel est placée la prise d'essai, est fermé par une feuille en aluminium après ajout de 30 mL de solvant. L'échantillon est extrait dans un bain à ultrasons de fréquence 48 kHz et de puissance 50 W. Deux extractions consécutives de 15 min. chacune sont réalisées et les extraits sont réunis.

3.3.3. Extraction sous champ Micro-Ondes Focalisées

Les extractions sont réalisées à l'aide d'une unité monoposte à micro-ondes focalisées (Soxwave 100 – Prolabo) de fréquence 2450 MHz (figure 1). Celle-ci se compose d'un matras en quartz de 250 mL où est placé l'échantillon ainsi que 40 mL de solvant. Ce tube d'extraction est

suspendu par deux pattes dans un doigt de gant en quartz surmonté d'un anneau en Téflon® où viennent se positionner les pattes. L'ensemble est introduit dans le puits balayé par les MOF, le faisceau micro-ondes se propageant perpendiculairement au doigt de gant. Un réfrigérant à serpentin de 40 cm, de type Graham, est alors positionné sur le matras à l'aide d'un raccord soudé en verre borosilicaté.

Ce système MOF fonctionne donc à pression atmosphérique (système ouvert).

Le doigt de gant permet de protéger la cavité micro-ondes contre toute projection de solvant par exemple. Durant l'extraction, l'anneau de reflux est réglé de telle sorte qu'il ne dépasse pas la première spire du serpentin.

La puissance de chauffe est fixée à 30W et la durée d'exposition de l'échantillon à 10 min., conformément aux travaux de Budzinski *et al.* [1995]. Dans ces conditions expérimentales, les HPA ne se dégradent pas sous champ MOF.

3.3.4. Extraction en Phase Supercritique

Suite à l'étude bibliographique menée initialement, des paramètres expérimentaux sont fixés afin de se placer dans des conditions optimales observées par plusieurs auteurs [Yang Y. *et al.* 1995(a), Langenfeld J.J. *et al.* 1993, Burford M.D. *et al.* 1993, Hawthorne S.B. et Miller D.J. 1994(a), Levy J.M. et Ravey R.M. 1993]. Ainsi, notre choix s'est porté sur :

- une température et une pression d'extraction élevées,
- l'emploi de méthanol en tant que modificateur polaire,
- une phase dynamique de 60 min.,
- l'addition de sulfate de sodium anhydre en sortie de cellule d'extraction.

Des études préliminaires menées sur sols dopés ont permis de déterminer des conditions opératoires permettant de limiter les pertes par volatilisation et d'améliorer ainsi les rendements d'extraction. Parmi ces principaux paramètres, nous pouvons citer :

- une longueur de restricteur suffisamment importante pour limiter le débit à la sortie du capillaire (influençant l'intensité du barbotage) sans pour autant provoquer la précipitation des analytes dans celui-ci,
- une température de restricteur de 160 °C,
- le maintien constant du volume de solvant de récupération,
- une colonne de solvant organique importante (environ 5 cm) afin d'augmenter le temps de contact bulle de CO₂-analytes / solvant de récupération,
- l'utilisation d'un bain de glace dans lequel est placé le flacon de collecte.

Les interactions entre les analytes et la matrice sont beaucoup plus marquées sur sols réellement contaminés que sur sols dopés. Par conséquent, une phase statique est réalisée en début de procédure afin d'améliorer l'action du CO₂ sur la matrice par une meilleure imprégnation et par l'établissement d'un équilibre thermodynamique ternaire.

Lors de ces travaux, les essais d'extractions consécutives ainsi que l'emploi de flacons montés en série dans le bain de glace, se sont montrés infructueux.

La cellule de 5 mL (longueur interne : 1,6 cm, diamètre interne : 2 cm) est remplie par une couche de sulfate de sodium anhydre (1,5 g) et une couche constituée par l'échantillon (sol n°1 : 1 g, sol n°2 : 5 g), le desséchant chimique se situant à la sortie de la cellule.

Dans le cas du sol n°2, 250 µL de méthanol (modificateur polaire) sont ajoutés dans l'échantillon, soit 5 % du volume de la cellule.

La température et la pression sont respectivement fixées à 200 °C et 5800 psi (40 MPa). Un capillaire en silice fondue, de 1 m de long par 50 µm de diamètre interne (i.d.), est utilisé en tant que restricteur (figure 4). Il est maintenu pendant toute la durée de l'extraction à 160 °C et est changé après chaque extraction afin d'éviter les risques de contamination lors de la possible précipitation des solutés dans le restricteur.

L'extrait est collecté par barbotage dans 15 mL de DCM. Le flacon de collecte fermé par un septum et muni d'un évent, est placé dans la glace afin d'assurer une température maximale de 5 °C. Lors de l'extraction, le volume de DCM dans le flacon de récupération est maintenu constant par injection à travers le septum, grâce à une seringue de 5 mL.

Lors de l'extraction du sol dopé (n°1), une unique phase dynamique de 60 min. est réalisée. L'extraction du sol réellement contaminé (n°2), comporte un mode statique de 15 min. suivi d'un mode dynamique de 60 min..

La qualité du fluide supercritique (CO₂) ainsi que la propreté du système d'extraction (SFE-400 - Supelco) sont contrôlées en effectuant des blancs d'extraction avec une cellule remplie de sulfate de sodium anhydre.

3.3.5. Extraction Subcritique par Solvant

L'échantillon (sol n°1 : 1 g, sol n°2 : 5 g) est introduit dans une cellule d'extraction de 11 mL en acier inoxydable comprenant à chacune de ces extrémités un fritté également en acier inoxydable (figure 5). Préalablement, un filtre en microfibrilles de verre de 8 µm, est positionné sur le fritté inférieur et 5 g de terre diatomée est placé entre le filtre et l'échantillon. Les volumes morts de la cellule sont minimisés par l'emploi de terre diatomée.

Le volume final de solvant introduit dans la cellule après l'étape statique de 5 min., correspond à 60 % du volume de la cellule.

Le temps nécessaire à l'exécution d'un cycle d'extraction est de 18 min. et de 30 min. pour 3 cycles.

Le volume total de solvant utilisé par échantillon (rinçage compris) est approximativement de 25 mL.

Quel que soit le nombre de cycles d'extraction, le rinçage du système (ASE 200 - Dionex) n'a lieu qu'entre chaque échantillon.

3.4. Concentration de l'extrait

Dans l'optique d'une comparaison des différentes méthodes d'extraction, les extraits ne subissent pas de purification afin de limiter d'une part, le nombre d'étape de traitement de l'extrait, chacune d'entre elle pouvant générer des biais lors de l'interprétation des résultats et d'autre part, d'évaluer la sélectivité et la spécificité de chaque type d'extraction.

Une étape de pré-concentration est effectuée à l'aide d'un évaporateur rotatif pour la méthode Soxhlet qui présente un volume d'extrait important.

Les extraits issus des méthodes Soxhlet, US et MOF subissent une étape de filtration sur coton de verre préalablement rincé à l'hexane.

Par la suite, la procédure de concentration des extraits demeure identique pour toutes les méthodes d'extraction étudiées.

Une étape de concentration sous courant d'azote (< 30 °C) est réalisée jusqu'à environ 1 mL. Le concentrat est acétylé (§ 3.5.) puis transvidé (seringue/filtre 0,45 µm) dans un flacon après concentration sous courant d'azote si nécessaire.

Le 2,4-DiBromoPhénol (2,4-DBP) acétylé est alors ajouté en tant qu'étalon interne (EtI) et le niveau est ajusté à 1 mL avec de l'hexane.

Durant cette procédure, toutes les opérations de rinçage du matériel sont réalisées à l'hexane.

3.5. Acétylation

Une étape de dérivation est entreprise pour abaisser le point d'ébullition de certains composés polaires et les rendre ainsi plus volatils.

La réaction d'estérification mise en jeu est la suivante :



Cette acétylation implique un comportement chromatographique de ces composés plus approprié à la technique de CPG : pic moins trainant et plus visible. Ainsi, la mesure quantitative entraîne moins d'incertitude.

La dérivation par acétylation est particulièrement adaptée à l'analyse des dérivés phénoliques.

Un volume égal à 1 mL est acétylé au vortex à environ 1600 tr.min⁻¹ pendant 5 min., avec 8 mL de K₂CO₃ 0,1 mol.L⁻¹ (pH = 11,5) et 100 µL d'anhydride acétique 10,6 mol.L⁻¹ (pH = 4,5). L'extrait est laissé reposer pendant 10 min..

La phase aqueuse est éliminée et l'extrait est lavé deux fois par de l'ED saturée en éther de pétrole pour limiter d'une part les partitions solvant organique-ED et d'autre part, l'injection en GC d'acide résiduel dans la phase organique (temps de repos de 5 min. à chaque fois).

La durée totale pour acétyler un extrait est de 40 min..

Le tableau 5 indique la répétabilité de l'acétylation obtenue pour une gamme de 11 chlorophénols à 10 mg.L⁻¹. Les résultats sont globalement satisfaisants. Il faut noter que le PCP fournit la plus grande dispersion de résultats (Relative Standard Deviation ou RSD). C'est aussi le composé comportant le plus d'atomes de chlores.

Tableau 5 : Répétabilité (%) de l'acétylation d'une gamme contenant 11 chlorophénols (n=10).

Composé	RSD (%)
2-ChloroPhénol	7,2
3-ChloroPhénol	7,9
4-ChloroPhénol	7,2
4-Chloro-3-MéthylPhénol	6,4
2,4-DiChloroPhénol	5,1
2,4,6-TriChloroPhénol	5,2
2,3,6-TriChloroPhénol	4,5
2,3,5-TriChloroPhénol	3,8
2,4,5-TriChloroPhénol	4,1
2,3,4-TriChloroPhénol	4,4
PentaChloroPhénol	11,6

3.6. Analyse

L'analyse est effectuée avec un chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse (GC/MS). Le mode d'ionisation est l'impact électronique (70 eV). La fenêtre d'acquisition d'ions est fixée entre 60 et 300 (m/z) et le nombre de balayages par seconde est de 2 (scan.s⁻¹).

L'identification des composés est réalisée à partir des temps de rétention (t_R) et des coefficients de qualité ($\geq 80\%$) issus de la comparaison du spectre de masse de l'analyte inconnu avec celui du composé référence dans la bibliothèque de spectres.

Le tableau 6 spécifie, pour chaque composé étudié, les paramètres chromatographiques ainsi que les ions utilisés lors de la quantification.

Tableau 6 : Paramètres chromatographiques des HPA et des phénols acétylés étudiés.

Composé	t_R (min.)	Ions de quantification	Ion de caractérisation
Phénol	4,660	94	136
o-Crésol	5,683	108	107
m-Crésol	6,093	108	107
p-Crésol	6,174	108	107
Naphtalène	6,484	128	127
2-Chlorophénol	6,588	128-130	
2,4-Diméthylphénol	7,149	122	107
2,6-Dichlorophénol	8,300	162	164
4-Chloro-3-Méthylphénol	8,490	142	107
2,4-Dichlorophénol	8,608	162	164
2,4,6-Trichlorophénol	9,800	196	198
Acénaphthylène	10,012	150-154	
Acénaphène	10,428	150-154	
2,4,5-Trichlorophénol	10,541	196	198
Fluorène	11,640	166	165
2,3,4,6-Tétrachlorophénol	11,995	230-234	
Phénanthrène	13,841	178	179
Anthracène	13,963	178	89
Pentachlorophénol	13,944	264-270	
Fluoranthène	16,618	200-202	
Pyrène	17,108	200-202	
Benz(a)Anthracène	19,975	228	113
Chrysène	20,050	228	113
Benzo(b)Fluoranthène	22,326	252	126
Benzo(k)Fluoranthène	22,387	252	126
Benzo(a)Pyrène	22,953	252	126
Indeno(1,2,3-c,d)Pyrène	25,112	276	138
Dibenz(a,h)Anthracène	25,225	278	139
Benzo(g,h,i)Pérylène	25,646	276	138
2,4-Dibromophénol (EtI)	10,896	252	254

L'analyse quantitative est réalisée en étalonnage interne.

Les caractéristiques de la colonne sont les suivantes : longueur 30 m, diamètre intérieur 0,32 mm, épaisseur du film 0,25 μm , phase greffée poly(5 %-diphényl-95 %-diméthylsiloxane).

Un injecteur split/splitless est utilisé en mode splitless durant 1 min.. Le volume injecté par le passeur automatique est de 2 μL .

Les conditions de l'analyse chromatographique sont les suivantes : $T_{\text{injecteur}} = 250\text{ }^{\circ}\text{C}$, $T_{\text{détecteur}} = 280\text{ }^{\circ}\text{C}$, $T_{\text{source}} = 220\text{ }^{\circ}\text{C}$, $T_{\text{quadrupole}} = 110\text{ }^{\circ}\text{C}$. La température initiale de la colonne est de $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ pendant 1 min.. Après une montée à $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ jusqu'à $290\text{ }^{\circ}\text{C}$, un palier de 5 min. est observé.

Le débit du gaz vecteur (hélium) est maintenu constant pendant toute la durée de l'analyse, soit $1,5\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

3.7. Validation de la méthode analytique utilisée pour l'évaluation des procédures d'extraction

3.7.1. Linéarité

La linéarité de la réponse du spectromètre de masse est vérifiée par injections de solutions étalon de concentrations croissantes (de $144\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ à $12\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$). Les droites d'étalonnage sont réalisées avec 5 points par concentration. Pour les 29 composés étudiés, elles sont linéaires dans ce domaine de concentration, tous les coefficients de corrélation étant compris entre 0,988 et 1,000 (tableau 7).

3.7.2. Limite de détection

Afin de s'affranchir des variations journalières de sensibilité du système chromatographique, les limites de détection ont été déterminées le même jour pour l'ensemble des analytes.

3.7.2.1. *Définition normalisée*

La limite de détection (LD) est définie comme étant la quantité injectée pour laquelle le rapport signal sur bruit est égal à 3. Selon la norme IUPAC, la relation suivante permet de la calculer :

$$LD = t \frac{\bar{S}_{\text{blanc}}}{S_i} \quad (6)$$

avec :

\bar{S}_{blanc} : écart-type calculé sur 20 mesures du blanc effectuées au t_R du composé étudié,

S_i : sensibilité (= pente de la droite d'étalonnage du composé étudié).

Le paramètre t est le coefficient de Student. $t = 3$ pour un intervalle de confiance égal à 99,86 %. $t = 2$ pour un intervalle de confiance égal à 95 %.

Si la droite d'étalonnage de l'analyte est réalisée avec non pas sa quantité en abscisse mais sa concentration, alors LD peut être remplacée dans l'équation précédente par la concentration limite (C_{lim}).

Tableau 7 : Droites d'étalonnage et coefficient de corrélation (r^2) obtenus pour les 29 composés étudiés.

Composé	Equation de la droite	r^2
Phénol	23,8 X - 0,0104	1,000
o-Crésol	29,7 X + 0,0135	0,999
m-Crésol	31,9 X - 0,0160	1,000
p-Crésol	36,1 X + 0,0020	0,999
Naphtalène	52,7 X + 0,0494	0,998
2-Chlorophénol	27,5 X + 0,0048	1,000
2,4-Diméthylphénol	28,9 X - 0,0021	1,000
2,6-Dichlorophénol	15,4 X - 0,0022	1,000
4-Chloro-3-Méthylphénol	24,1 X - 0,0209	0,999
2,4-Dichlorophénol	18 X - 0,0040	1,000
2,4,6-Trichlorophénol	8,2 X - 0,0038	0,999
Acénaphthylène	64,2 X - 0,0517	1,000
Acénaphène	50,9 X - 0,0158	1,000
2,4,5-Trichlorophénol	10,1 X - 0,0092	0,999
Fluorène	29,2 X - 0,0178	1,000
2,3,4,6-Tétrachlorophénol	13,6 X - 0,0206	0,999
Phénanthrène	38,2 X - 0,0377	0,999
Anthracène	38,4 X - 0,0476	0,999
Pentachlorophénol	8,99 X - 0,0186	0,998
Fluoranthène	12,2 X - 0,0237	0,997
Pyrène	13,6 X - 0,0234	0,997
Benz(a)Anthracène	13,5 X - 0,0331	0,988
Chrysène	27,6 X - 0,0618	0,997
Benzo(b)Fluoranthène	7,8 X - 0,0002	0,998
Benzo(k)Fluoranthène	20,9 X - 0,0285	0,997
Benzo(a)Pyrène	13,2 X - 0,0159	0,994
Indeno(1,2,3-c,d)Pyrène	4,77 X - 0,0108	0,988
Dibenz(a,h)Anthracène	7,68 X - 0,0137	0,990
Benzo(g,h,i)Pérylène	12,1 X - 0,0148	0,994

La limite de détection (ou la concentration limite) résultant de cette relation correspond à une valeur limite de détection dans la solution injectée. Pour obtenir la valeur limite de l'échantillon analysé, il est nécessaire de prendre en considération le protocole opératoire employé (masse de la prise d'essai, facteur de concentration, etc.).

3.7.2.2. Définition utilisée

La détection en spectrométrie de masse est réalisée avec une fenêtre d'acquisition des ions comprise entre 60 et 300 (m/z) en mode fullscan. Toutefois, la quantification s'effectue à partir d'un petit nombre d'ions (spécifiques au composé recherché) qui sont "extraits" du courant d'ions total (TIC ou total ion current). Ces ions ne sont généralement pas présents dans les blancs, par conséquent il n'existe pas de signaux à intégrer au temps de rétention de l'analyte étudié. Dans ces conditions, le calcul de la limite de détection selon la norme IUPAC s'avère impossible.

La limite de détection a tout de même été établie (tableau 8) en injectant des solutions étalons et en considérant qu'elle correspondait à la quantité injectée pour laquelle l'abondance de l'ion quantificateur est supérieure ou égale à 120 unités arbitraires (UA). Cette valeur de 120 UA a été choisie en observant l'abondance moyenne des ions généralement constatée dans les blancs (< 80 UA).

Tableau 8 : Concentrations limites ($C_{lim.}$), limites de quantification (LQ), répétabilité ($n=7$, 10 mg.L^{-1}) et reproductibilité ($n=5$, 12 mg.L^{-1}) des analytes étudiés.

Composé	$C_{lim.}^{ac}$ (mg.L^{-1})	LQ ^{bc} (mg.L^{-1})	Répétabilité (%)	Reproductibilité (%)
Phénol	0,14	0,48	1,4	10,9
o-Crésol	0,14	0,24	1,7	11,3
m-Crésol	0,14	0,24	1,7	10,7
p-Crésol	0,14	0,24	1,7	10,9
Naphtalène	0,14	0,14	1,9	8,8
2-Chlorophénol	0,14	0,15	2,2	10,0
2,4-Diméthylphénol	0,14	0,24	1,6	10,0
2,6-Dichlorophénol	0,14	0,48	1,6	7,7
4-Chloro-3-Méthylphénol	0,14	0,48	2,0	6,4
2,4-Dichlorophénol	0,14	0,48	2,0	6,1
2,4,6-Trichlorophénol	0,14	0,48	2,0	5,0
Acénaphthylène	0,14	0,24	1,6	7,7
Acénaphène	0,14	0,24	1,4	7,5
2,4,5-Trichlorophénol	0,14	0,48	1,2	5,4
Fluorène	0,14	0,24	1,7	5,6
2,3,4,6-Tétrachlorophénol	0,24	0,72	2,0	2,6
Phénanthrène	0,14	0,48	2,4	5,1
Anthracène	0,14	0,48	2,0	4,0
Pentachlorophénol	0,48	0,72	2,0	4,1
Fluoranthène	0,24	0,72	2,4	4,4
Pyrène	0,24	0,72	2,2	4,2
Benz(a)Anthracène	0,48	1,08	4,2	5,8
Chrysène	0,48	1,08	3,3	7,0
Benzo(b)Fluoranthène	0,48	1,08	3,0	8,2
Benzo(k)Fluoranthène	0,48	1,08	3,9	9,7
Benzo(a)Pyrène	1,08	1,08	4,1	9,6
Indeno(1,2,3-c,d)Pyrène	1,08	5,04	7,9	10,1
Dibenz(a,h)Anthracène	1,08	5,04	7,3	10,2
Benzo(g,h,i)Pérylène	1,08	5,04	6,2	9,5

^a: abondance de l'ion de quantification ≥ 120 UA.

^b: coefficient de qualité ≥ 80 % et abondance ≥ 400 UA.

^c: volume injecté de $2 \mu\text{L}$.

3.7.3. Limite de quantification

La limite de quantification (LQ) est définie comme étant la quantité de matière qui correspond à un signal 10 fois supérieur à celui de la variation de la ligne de base.

Dans les blancs, l'absence des ions spécifiques au t_R du composé recherché, entraîne aussi un problème de détermination. En considérant que le type de détection employé permet l'identification d'un analyte par son spectre de masse, l'évaluation de la limite de quantification a été basée sur deux critères : i) une abondance de l'ion de quantification supérieure ou égale à 400 UA (= $120 \text{ UA} \times 10/3$) et ii) une qualité de spectre supérieure ou égale à 80 %.

Le tableau 8 présente les limites de quantification déterminées pour une solution injectée.

3.7.4. Répétabilité et reproductibilité

La précision de la méthode analytique a été évaluée par l'estimation de sa répétabilité et de sa reproductibilité (tableau 8). Ces dernières traduisent les erreurs aléatoires introduites par l'opérateur et/ou par les caractéristiques de l'appareil de mesure (différent de la justesse d'une méthode qui traduit les erreurs systématiques, c'est à dire l'écart entre la moyenne des valeurs trouvées et la valeur réelle). La répétabilité et la reproductibilité représentent chacune l'écart type relatif (%) obtenu à partir des mesures effectuées dans les mêmes conditions.

La répétabilité de l'analyse a été évaluée avec 7 prises d'essai d'une même solution étalon à 10 mg.L⁻¹. Les valeurs obtenues varient entre 1,2 % et 7,9 % selon les composés.

La reproductibilité a été étudiée sur 5 solutions étalons différentes de même concentration : 12 mg.L⁻¹. Elle se montre satisfaisante pour une analyse qui englobe 29 composés. En effet, les variations de mesures sont comprises entre 2,6 % et 11,3 %.

3.7.5. Précautions particulières lors des analyses

Afin de surveiller les conditions d'analyses et notamment la "propreté" du système chromatographique, diverses procédures de contrôle ont été mises en œuvre :

- un "blanc d'extraction" est systématiquement réalisé en même tant que l'extraction de l'échantillon. Ceci afin de s'assurer que les composés trouvés dans l'échantillon ne proviennent pas d'interférents liés soit au système d'analyse, soit à une contamination due à la procédure d'extraction elle-même,

- tous les réactifs, les solvants et les solutions étalons sont périodiquement analysés afin de vérifier leur qualité,

- une procédure du suivi du bruit de fond du système chromatographique est réalisée hebdomadairement. Elle consiste en l'analyse d'hexane (solvant d'injection) dans des conditions toujours identiques. L'abondance moyenne du bruit de fond ainsi que l'abondance moyenne de l'ion 207 (caractéristique de l'effet de "bleeding" de la colonne chromatographique) sont relevées à 60 °C et à 250 °C,

- des mesures de blanc chromatographique (solvant d'injection) sont effectuées toutes les trois analyses afin de contrôler le système chromatographique,

- un point de gamme (solution étalon) est injecté toutes les 10 analyses, afin de vérifier l'étalonnage de l'appareil et les éventuelles fluctuations de sensibilité. Cette mesure est tout de suite suivie par la mesure d'un blanc chromatographique, afin de vérifier la non contamination du système d'analyse suite à l'injection de la solution étalon.

Par conséquent dans une séquence comprenant 10 injections : 6 échantillons, 3 blancs chromatographiques et 1 point de gamme sont analysés.

4. RESULTATS ET DISCUSSION

4.1. Sol réellement contaminé

4.1.1. Influence du solvant d'extraction et de la teneur en eau (du système) sur l'efficacité des micro-ondes focalisées

Afin d'améliorer l'efficacité des micro-ondes, divers essais sont réalisés soit avec du dichlorométhane, soit avec un mélange DCM/acétone (50/50, v/v). Dans les deux cas, diverses procédures d'addition d'eau ont été étudiées.

4.1.1.1. *Dichlorométhane*

Lors d'extractions au dichlorométhane, l'addition successive d'eau directement sur l'échantillon (20 %, m/m) puis de solvant organique (10 s après humidification du sol), provoque une chute des taux de récupération par rapport au même échantillon extrait sans eau (figure 6). Ce phénomène est d'autant plus marqué que le poids moléculaire des HPA analysés s'accroît. Ceci peut être expliqué par l'hydrophobicité du solvant. En effet, le DCM et l'eau n'étant pas miscibles, l'humidification du sol à extraire peut créer une barrière physique entre le solvant et le soluté qui se trouve alors masqué par l'eau. Par conséquent, la présence d'eau dans la matrice vient perturber l'extraction des HPA par le DCM.

Par ailleurs, la manière d'introduire l'eau lors de l'extraction est importante : une extraction dont le sol a été humidifié (20 %, m/m) donne des taux de récupération plus faibles que lorsque l'eau est ajoutée après le DCM (figure 6). Dans ce cas précis, c'est le solvant qui est partiellement "hydraté" (mais toujours par rapport à la quantité de sol extrait, soit 20 %). Ainsi, l'eau ne peut pas jouer le rôle de barrière, car elle n'est pas en contact direct et permanent avec le sol.

De plus, si l'on compare les résultats d'extractions obtenus avec le DCM pur et ceux du DCM auquel 20 % d'eau sont additionnés, il apparaît que la présence d'eau dans le solvant permet d'améliorer sensiblement l'extraction des composés les plus légers. Par contre, l'effet inverse se produit pour les HPA lourds, à partir du benzo(b)fluoranthène. La seule différence existant entre ces deux cas réside en l'augmentation de la constante diélectrique du solvant qui est liée à l'efficacité des micro-ondes (§ 2.1.).

Sur les trois cas étudiés (figure 6), les écart-types relatifs les plus importants sont obtenus lorsque l'eau est ajoutée après le solvant, c'est à dire quand deux phases sont en présence. Par conséquent, l'hétérogénéité du mélange DCM/eau engendre une dispersion plus importante des résultats par rapport à ceux obtenus avec le DCM sans eau.

Les RSD les plus faibles sont observés pour l'extraction sans ajout d'eau dans le cas des composés les plus légers et pour l'extraction avec humidification du sol dans le cas des solutés de poids moléculaires les plus élevés.

Par conséquent, le DCM employé sans eau permet de parvenir aux meilleurs résultats pour l'ensemble des composés.

Le PCP révèle, quant à lui, un comportement plus instable que celui des HPA vis-à-vis de l'addition d'eau (figure 6). Ce phénomène se traduit par des RSD élevés compris entre 25 % et 41 % contre des RSD moyens pour les HPA compris entre 15 % et 22 %.

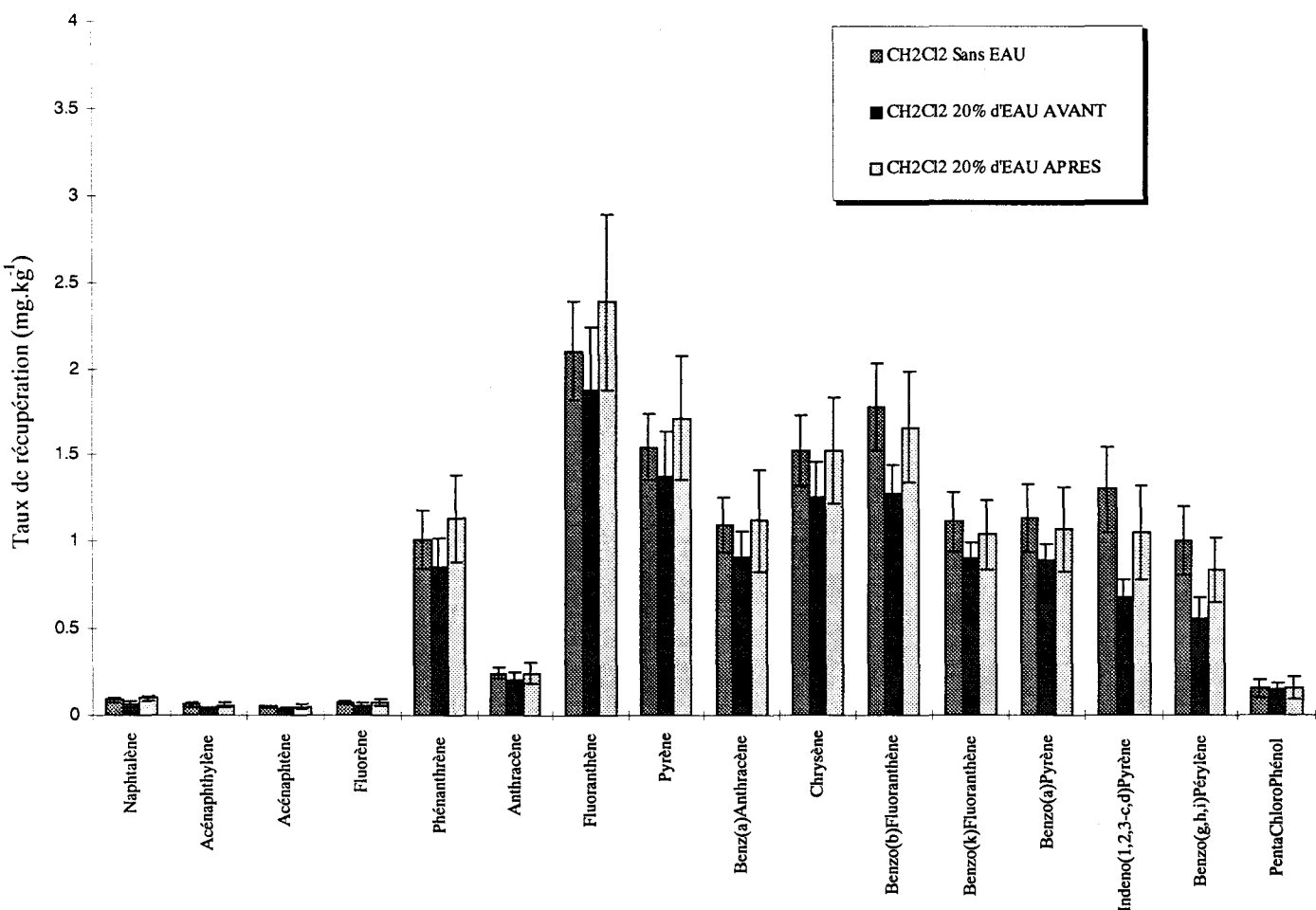


Figure 6 : Influence de l'eau sur les taux de récupération lors d'extractions au dichlorométhane (CH₂Cl₂) par la méthode MOF (n=5).

4.1.1.2. Mélange DCM/acétone

Quel que soit la manière d'ajouter l'eau, les rendements d'extraction des HPA sont améliorés vis-à-vis de ceux obtenus avec le mélange DCM/acétone sans eau (figure 7). La constante diélectrique totale augmente en présence d'eau et conduit à une meilleure efficacité des micro-ondes (DCM : $\epsilon^{20^\circ\text{C}} = 9,08$; acétone : $\epsilon^{25^\circ\text{C}} = 20,7$; eau : $\epsilon^{20^\circ\text{C}} = 78,54$). L'hydratation du solvant (miscibilité partielle) agit sur les taux de récupération de façon similaire à l'humidification de l'échantillon, contrairement à ce qui a été constaté précédemment avec le DCM. Cependant dans ce dernier cas, les RSD demeurent dans l'ensemble les plus faibles des trois essais effectués. D'autre part, la dispersion des résultats est plus marquée lorsque le mélange DCM/acétone ne comporte pas d'eau.

Par conséquent, l'addition d'eau dans le mélange DCM/acétone permet de diminuer les RSD et d'augmenter les rendements d'extraction des HPA. Nous nous trouvons alors en présence d'un système ternaire (DCM/acétone/eau) homogène. En effet, l'eau étant très peu miscible au DCM, l'acétone ajoutée à ce système permet son homogénéisation dans une certaine proportion. Ainsi,

l'effet d'écran disparaît en présence du mélange DCM/acétone à cause de l'acétone. Par exemple, si un composé organique hydrophobe est absorbé dans la matière organique dont la surface présente des interactions type hydrogène avec les molécules d'eau, ou si ce composé est adsorbé dans un pore d'une particule minérale fermé par des molécules d'eau; le DCM ne peut pas atteindre l'analyte car il n'est pas (ou peu) miscible à l'eau. Au contraire, en présence d'acétone, l'eau peut être déplacée par affinité chimique envers l'acétone et par effet de diffusion, rendant l'analyte accessible au DCM. L'acétone joue alors le rôle de "desséchant" chimique.

La manière d'ajouter l'eau ne modifie pas l'efficacité de l'extraction du PCP par le mélange DCM/acétone. La dispersion des résultats reste sensiblement similaire : RSD = 8,8 % pour l'eau ajoutée avant l'incorporation des solvants et RSD = 3,0 % pour l'eau ajoutée après.

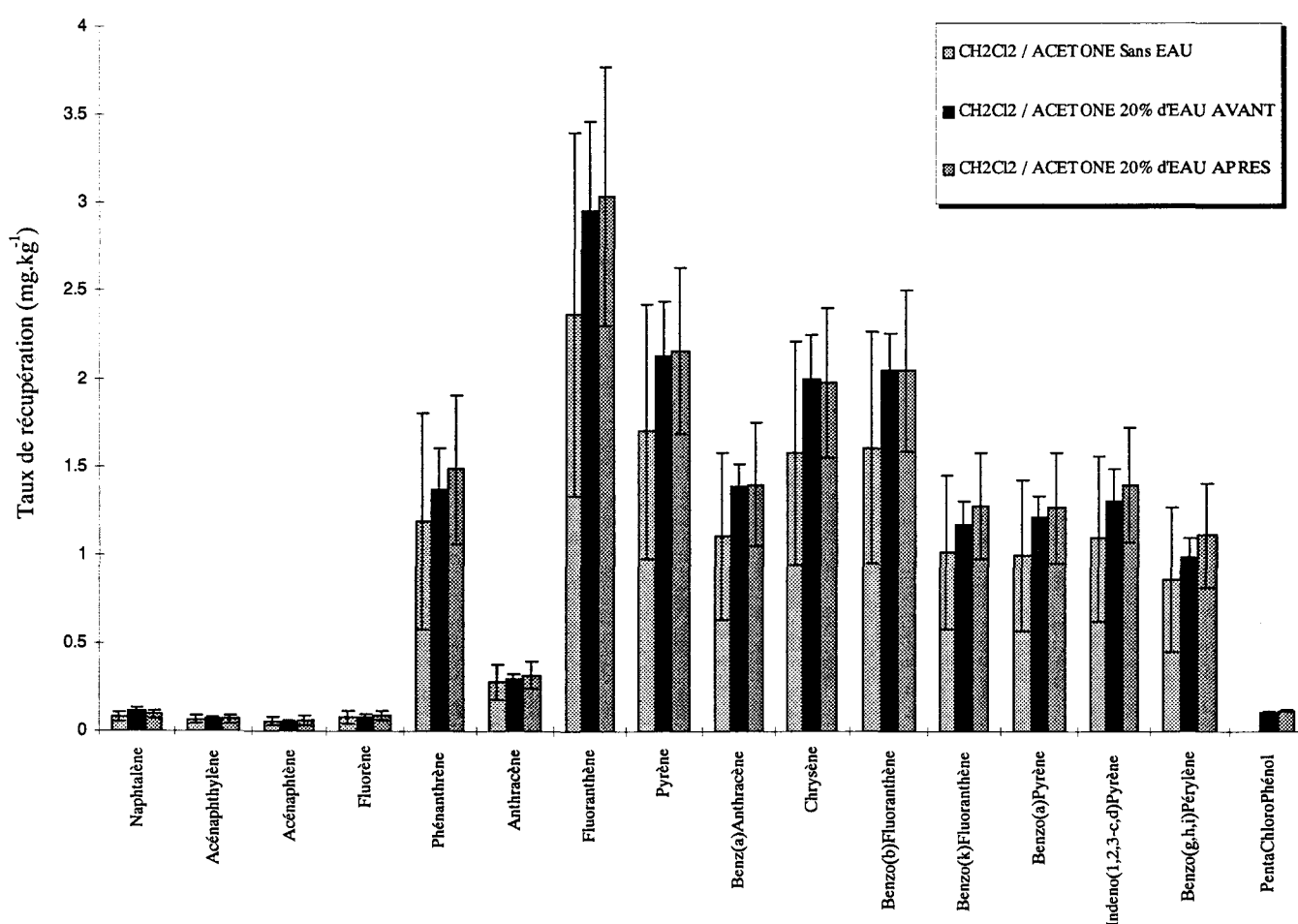


Figure 7 : Influence de l'eau sur les taux de récupération lors d'extractions effectuées avec un mélange dichlorométhane/acétone (50/50,v/v) par la méthode MOF (n=5).

4.1.1.3. Comparaison DCM et DCM/acétone

L'emploi d'un mélange DCM/acétone (50/50, v/v) avec ou sans eau ajoutée permet d'accroître les taux de récupération des composés les plus légers par rapport au DCM employé seul (tableau 9).

Tableau 9 : Extractions sous champ MOF d'hydrocarbures polycycliques aromatiques par CH₂Cl₂ ou par un mélange CH₂Cl₂/acétone (n=5).

Composé	CH ₂ Cl ₂		CH ₂ Cl ₂ / acétone					
	sans eau		sans eau		20 % d'eau avant		20 % d'eau après	
	M (mg.kg ⁻¹)	RSD (%)	M (mg.kg ⁻¹)	RSD (%)	M (mg.kg ⁻¹)	RSD (%)	M (mg.kg ⁻¹)	RSD (%)
Naphtalène	0,091	13,6	0,083	35,1	0,116	14,7	0,096	26,3
Acénaphthylène	0,061	20,2	0,067	32,3	0,072	15,7	0,069	33,7
Acénaphène	0,051	12,8	0,056	39,8	0,057	13,7	0,064	39,2
Fluorène	0,074	16,9	0,084	41,5	0,086	14,0	0,094	28,3
Phénanthrène	1,012	16,3	1,192	51,2	1,373	16,6	1,484	28,2
Anthracène	0,246	13,3	0,279	36,6	0,296	11,4	0,320	24,3
Fluoranthène	2,100	13,4	2,364	43,7	2,957	17,2	3,042	24,2
Pyrène	1,541	12,4	1,704	42,4	2,127	14,5	2,160	21,9
Benz(a)Anthracène	1,091	14,5	1,107	42,4	1,384	9,6	1,397	25,0
Chrysène	1,522	13,5	1,580	40,2	1,995	12,8	1,974	21,6
Benzo(b)Fluoranthène	1,773	14,0	1,608	41,0	2,053	10,2	2,046	22,3
Benzo(k)Fluoranthène	1,110	15,2	1,015	43,2	1,173	11,2	1,280	23,5
Benzo(a)Pyrène	1,130	17,2	0,999	42,9	1,214	9,8	1,266	24,7
Indeno(1,2,3-c,d)Pyrène	1,295	19,1	1,094	42,9	1,304	14,2	1,395	23,6
Benzo(g,h,i)Pérylène	1,004	19,3	0,862	47,2	0,988	11,2	1,115	26,5

M : concentration moyenne.

RSD : écart-type relatif (Relative Standard Deviation).

Afin de constater les changements entraînés par l'apport des micro-ondes, la comparaison des différences de quantités extraites entre le DCM sans eau et le mélange DCM/acétone sans eau est étudiée (figure 8).

Pour chaque composé, C1, C2 et C3 sont définies comme étant les concentrations trouvées respectivement avec le DCM sans eau, le mélange DCM/acétone sans eau et le mélange DCM/acétone 20 % d'eau avant. Quand les solvants utilisés ont la même efficacité d'extraction, les rapports en % (C2/C1) ou (C3/C1) sont égaux à 100 % puisque C1 = C2 ou C1 = C3. Dans le cas du rapport (C1/C2), le mélange DCM/acétone sans eau est globalement plus efficace que le DCM sans eau (rapports (C2/C1) >100 %). Il apparaît une inversion de ce rapport (C2/C1) à partir du benzo(b)fluoranthène (passage en dessous des 100 %). Or deux paramètres varient entre ces deux milieux d'extraction : le pouvoir solvant (qui diminue lorsque le mélange DCM/acétone est utilisé) et la constante diélectrique (qui augmente). L'évolution de ces deux facteurs est ici étroitement liée. Il semblerait que, dans le cas des HPA lourds, l'accroissement de la constante diélectrique (donc de l'efficacité des micro-ondes) ne permette pas de compenser les effets engendrés par la chute du pouvoir solvant occasionnée par l'emploi du mélange DCM/acétone. Ce phénomène se traduit par des rapports (C2/C1) inférieurs à 100 % relativement importants.

Le mélange DCM/acétone est mieux adapté aux composés légers, alors que le DCM permet d'extraire plus efficacement les HPA les plus lourds (interactions soluté/matrice fortes) malgré la diminution de la constante diélectrique.

L'addition d'eau sur la matrice lors de l'utilisation du mélange DCM/acétone (C3/C1) permet de retarder l'inversion constatée ci-dessus (figure 8). Or, les extractants utilisés sont identiques dans les deux comparatifs, seule la constante diélectrique du système varie. Elle est plus importante dans le deuxième cas (C3/C1) que dans le premier (C2/C1). Ce phénomène semble traduire la possibilité d'une amélioration des taux de récupération des composés lourds par l'accroissement de la constante diélectrique à pouvoir solvant identique. Toutefois, l'impact de

cette amélioration dépend du poids moléculaire des HPA. Ainsi, elle n'est pas très marquée pour les HPA légers et devient appréciable pour les HPA lourds.

Dans le cas précédent du DCM employé seul (§ 4.1.1.1.), l'augmentation de la constante diélectrique entraînait une baisse des taux de récupération pour les HPA lourds en présence d'un système binaire (DCM/eau) hétérogène. Par contre, c'est le cas contraire qui se produit en présence d'un système ternaire (DCM/acétone/eau) homogène (§ 4.1.1.2.). Il semble que l'acétone joue un rôle important au niveau des micro-ondes, non pas directement par l'accroissement de la constante diélectrique mais par sa capacité à homogénéiser le système binaire (DCM/eau).

Par ailleurs, l'addition d'eau entraîne d'une part, une augmentation des RSD lors de l'utilisation du DCM et d'autre part, une chute des RSD dans le cas du mélange DCM/acétone. En présence d'eau, l'acétone a un effet bénéfique sur la dispersion des résultats.

Par conséquent, un mélange homogène est préférable à un système hétérogène afin de valoriser l'apport des micro-ondes.

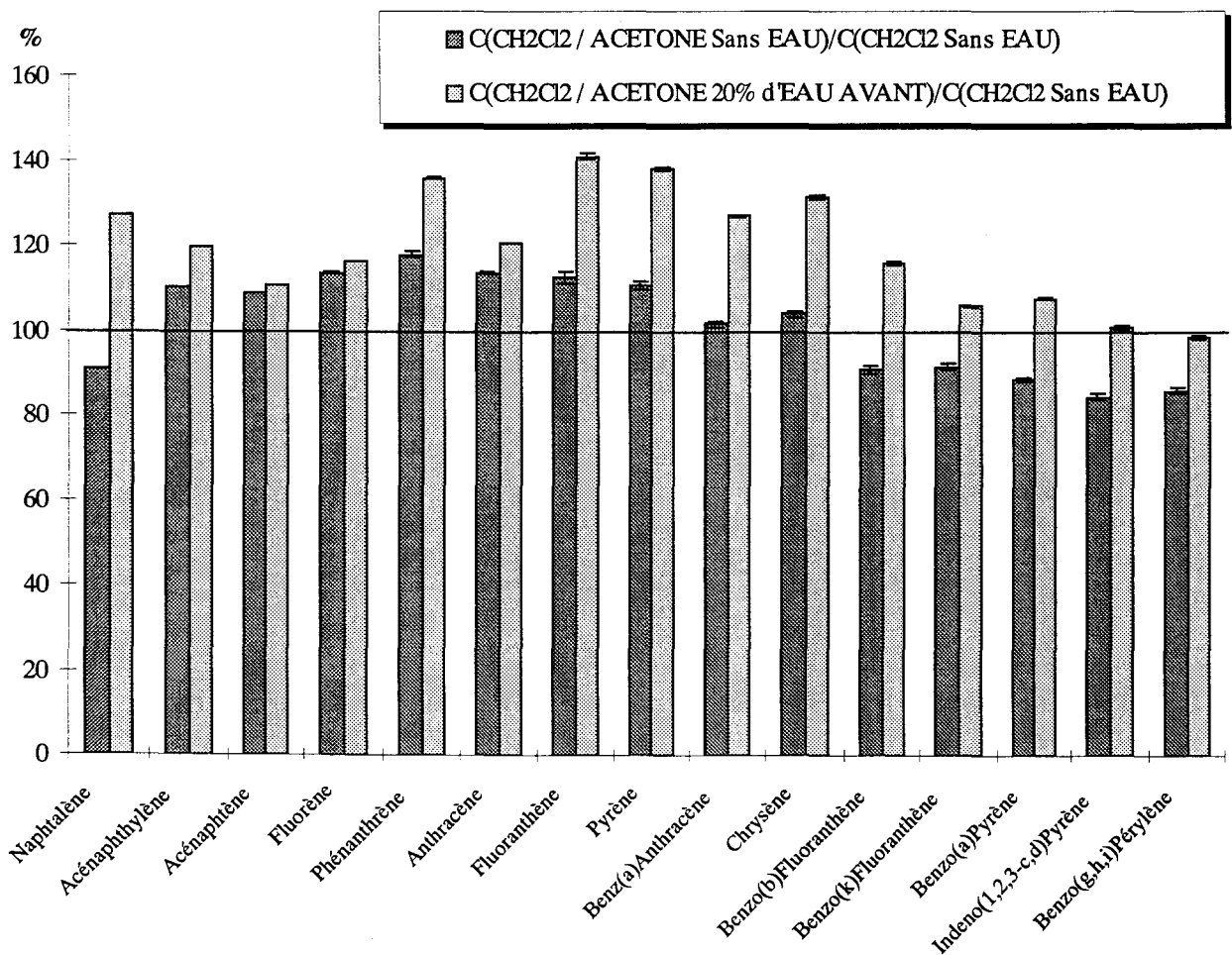


Figure 8 : Variations relatives des rapports de concentrations des 15 HPA étudiés en fonction des milieux d'extraction utilisés dans la méthode MOF (n=5).

Le PCP appartient à une classe de composés différente de celle des HPA. Les différences de rendement observées entre l'utilisation du DCM seul ou mélangé à l'acétone ne sont pas significatives. Ces remarques sont valables dans tous les cas (ajout d'eau ou non). En effet, la dispersion des résultats obtenus avec le DCM est plus importante et englobe statistiquement ceux issus des essais effectués avec le mélange. Ce dernier engendre des taux de récupération légèrement inférieurs alors que la reproductibilité des résultats est sensiblement améliorée.

4.1.1.4. Conclusion

Le choix du solvant ou du mélange permettant d'optimiser l'extraction des micropolluants étudiés par la technique MOF s'appuie principalement sur deux critères :

- le pouvoir solvant de l'extractant vis-à-vis des analytes considérés,
- la constante diélectrique du système et son influence sur l'efficacité des micro-ondes.

Il apparaît nécessaire d'établir un compromis entre ces deux paramètres.

Les conditions optimales parmi celles expérimentées sont observées pour le mélange DCM/acétone (50/50, v/v) en présence de 20 % (m/m) d'eau ajoutée sur le sol à extraire (plus fortes récupérations pour des RSD faibles). Deux exemples de chromatogrammes obtenus dans ces conditions sont présentés dans la figure 9.

Dans le cas de solutés non ou peu polaires, l'hydrophobicité du solvant d'extraction peut limiter son action au sein des matrices solides environnementales. En effet, de l'eau subsiste naturellement dans la matrice, même après une phase de séchage de l'échantillon (humidité résiduelle). Elle peut aussi être ajoutée à la matrice afin d'améliorer l'efficacité des micro-ondes. L'acétone du mélange permet alors au solvant d'extraction d'atteindre les composés susceptibles d'être emprisonnés dans les pores par l'eau.

4.1.2. Etude préliminaire sur l'ESS

Cinq séries d'extraction (de A à E) sont réalisées dans le but d'évaluer l'influence de certains facteurs tels que la prise d'essai ou le nombre de cycle d'extraction par exemple. Les conditions expérimentales des diverses séries sont regroupées dans le tableau 10. Par ailleurs, trois extractions consécutives (notées α , β et γ) sont réalisées dans la série A.

Tableau 10 : Conditions expérimentales fixées lors de l'ESS de sol réellement contaminé.

Série	Prise d'essai (g)	Solvant d'extraction	Température (°C)	Pression (psi)	Pression (MPa)	Nombre de cycle
A	10	Dichlorométhane / acétone	100	2000	13,8	1
B	5	Dichlorométhane / acétone	100	2000	13,8	1
C	5	Dichlorométhane / acétone	100	2000	13,8	3
D	5	Dichlorométhane	100	2000	13,8	3
E	5	Dichlorométhane / acétone	200	3000	20,7	1

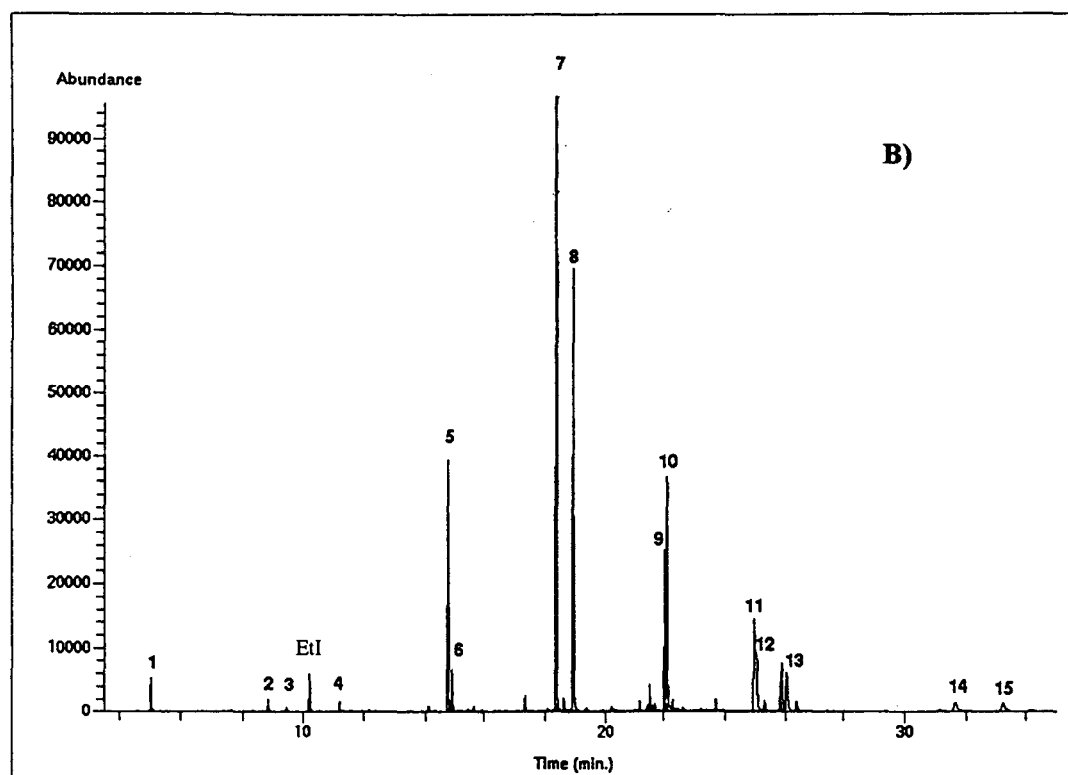
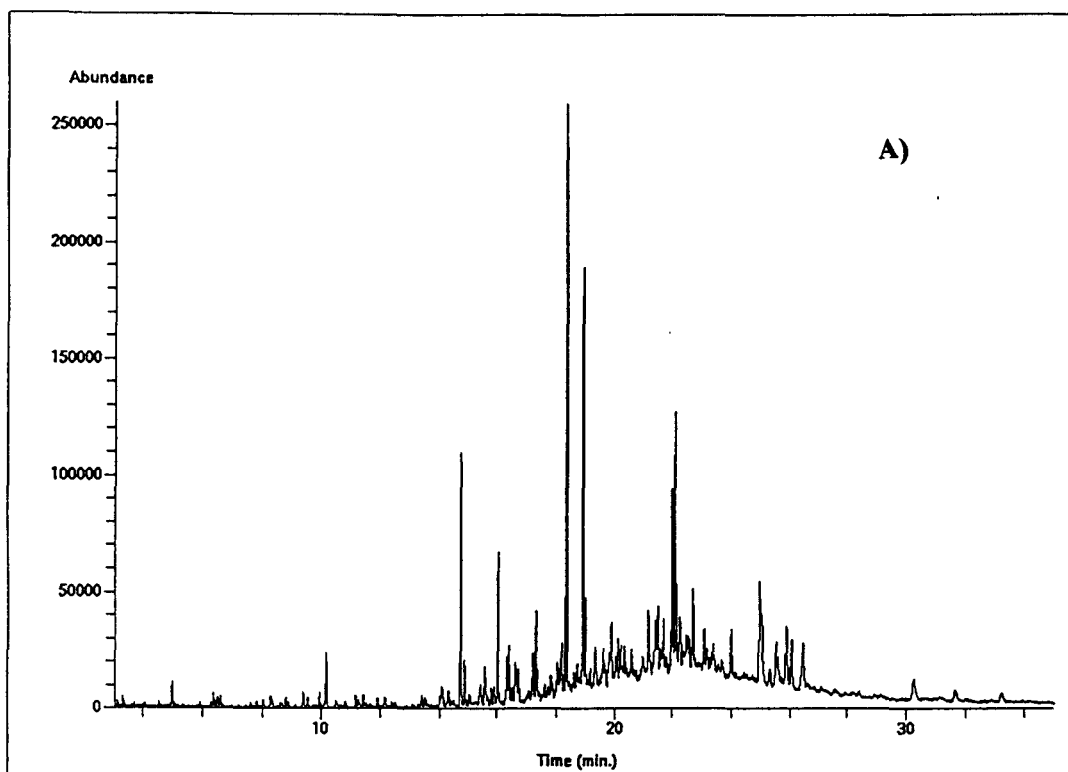


Figure 9 : Analyse de 15 HPA issus d'un sol réellement contaminé. A) chromatogramme représentant le courant d'ions total (TIC), B) chromatogramme après extraction des ions quantificateurs. Pics : 1- Naphtalène (ion 128), 2- Acénaphthylène (ion 152), 3- Acénaphthène (ion 152), 4- Fluorène (ion 166), 5- Phénanthrène (ion 178), 6- Anthracène (ion 178), 7- Fluoranthène (ion 202), 8- Pyrène (ion 202), 9- Benz(a)Anthracène (ion 228), 10- Chrysène (ion 228), 11- Benzo(b)Fluoranthène (ion 252), 12- Benzo(k)Fluoranthène (ion 252), 13- Benzo(a)Pyrène (ion 252), 14- Indeno(1,2,3-c,d)Pyrène (ion 276), 15- Benzo(g,h,i)Pérylène (ion 276).

La série A α présente les plus faibles taux de récupération pour des écart-types faisant partie des plus importants : moyenne de 16,2 % (tableau 11).

La série E est réalisée dans les conditions de température et de pression limites pour l'appareil (200 °C/3000 psi). Ainsi, les chromatogrammes obtenus sont chargés et révèlent de nombreux interférents de faible poids moléculaire qui viennent gêner l'interprétation des résultats. Ceci se répercute sur le facteur de qualité des spectres de masse des composés analysés qui diminue alors. C'est le cas de cinq composés qui sortent dans les 15 premières minutes : naphthalène, acénaphthylène, acénaphthène, fluorène et PCP dont les facteurs de qualité sont inférieurs à 65 %. Pour ces raisons, la moyenne des HPA de la série E ne tient pas compte de ces quatre HPA.

La prise d'essai est un paramètre dont il faut tenir compte car une phase importante de l'extraction se déroule en mode statique. Ainsi, la diffusion au sein de la matrice ou la saturation du solvant peuvent être des facteurs limitants. Ceci est observé, dans le cas de la série A, lorsque le volume de solvant est insuffisant par rapport à la masse d'échantillon extraite. Il apparaît une différence notable entre les quantités récupérées lorsque l'extraction est réalisée avec 10 g ou 5 g de sol (séries A et B).

L'emploi du DCM pour l'extraction des HPA (série D) donne des résultats sensiblement similaires à ceux obtenus avec un mélange DCM/acétone (50/50, v/v) dans des conditions de température et de pression identiques (série C). Toutefois, une légère amélioration des rendements est perceptible au niveau des HPA les plus lourds, lors de l'utilisation du mélange DCM/acétone.

Par ailleurs, le DCM employé seul apparaît plus efficace pour l'extraction du PCP que le mélange DCM/acétone qui est plus polaire.

L'étude de trois extractions consécutives permet de conclure que la majeure partie des HPA est récupérée lors de la première extraction (> 91 %) à l'exception du naphthalène (tableau 12).

Il est à noter que, dans le tableau 12, les valeurs égales à 100 % sont définies comme la somme des quantités extraites dans les séries A α , A β , A γ . Cette dernière ne représente aucunement la quantité réelle de micropolluants présente dans l'échantillon mais sert ici uniquement de référence. Les pourcentages établis dans ce tableau sont donc considérés comme des taux de récupération relatifs.

Pour la plupart des composés étudiés, les deuxième et troisième extractions permettent de récupérer respectivement de 2 à 6 % et de 1 à 3 % des HPA, ces mêmes extractions fournissent des valeurs environ trois fois plus élevées dans le cas du naphthalène : 15,6 % et 8,3 %.

La taille du naphthalène est la plus faible de tous les HPA. Cet analyte peut être emprisonné dans des micropores ou des agrégats de la matrice. Il peut présenter une faible vitesse de transfert ou se trouver hors de portée du solvant d'extraction [Burgos W.D. *et al.* 1996]. Il peut aussi être solubilisé avec les autres HPA demeurant adsorbés, suite aux fortes interactions mises en jeu entre ces composés. Un double piégeage liquide/solide au sein de la matrice est alors envisageable.

Deux nouvelles séries d'extraction consécutives sont réalisées afin de vérifier la différence de comportement du naphthalène. La première (série F) est effectuée dans des conditions opératoires identiques à la série B. Seule la prise d'essai varie par rapport à la série A. Le solvant est changé dans la seconde série (série G), mais les conditions opératoires sont similaires à celle de la série F. Le dichlorométhane est remplacé par le 1,1-dichloroéthane.

Ce solvant présente un moment dipolaire plus élevé ($\mu_{1,1\text{-dichloroéthane}} = 6,1 \cdot 10^{-30}$ C.m et $\mu_{\text{DCM}} = 5,2 \cdot 10^{-30}$ C.m) qui implique une séparation des charges plus importantes. Toutefois, sa polarité globale est plus faible (DCM : $E_T^N = 0,309$; 1,1-dichloroéthane : $E_T^N = 0,269$).

Tableau 11 : Rendements d'extraction (RDT) rapportés au Soxhlet, de 15 HPA et du PCP extraits en ESS (n=5).

Composé	Soxhlet ^a			A α ^b			B ^b		
	M (mg.kg ⁻¹)	RSD (%)	RDT (%)	M (mg.kg ⁻¹)	RSD (%)	RDT (%)	M (mg.kg ⁻¹)	RSD (%)	RDT (%)
Naphtalène	0,164	8,1	100,0	0,131	36,5	80,0	0,164	37,8	100,5
Acénaphthylène	0,074	18,3	100,0	0,053	20,9	71,1	0,083	14,7	111,5
Acénaphène	0,073	20,8	100,0	0,060	12,6	82,3	0,088	21,4	120,3
Fluorène	0,101	21,9	100,0	0,060	10,2	59,4	0,104	14,6	102,9
Phénanthrène	1,235	26,1	100,0	0,877	13,8	71,0	1,433	15,9	116,0
Anthracène	0,258	13,2	100,0	0,208	13,5	80,4	0,323	16,2	125,1
Fluoranthène	2,308	20,5	100,0	1,696	12,5	73,5	2,782	11,4	120,6
Pyrène	1,685	20,7	100,0	1,308	13,0	77,6	2,129	10,6	126,3
Benz(a)Anthracène	1,325	22,0	100,0	0,869	13,5	65,6	1,401	10,9	105,8
Chrysène	1,901	22,6	100,0	1,286	13,6	67,6	2,057	12,6	108,2
Benzo(b)Fluoranthène	2,256	26,9	100,0	1,717	16,8	76,1	2,324	10,8	103,0
Benzo(k)Fluoranthène	1,397	23,8	100,0	0,526	13,6	37,6	1,013	22,6	72,5
Benzo(a)Pyrène	1,431	27,4	100,0	0,849	14,1	59,4	1,219	12,0	85,2
Indeno(1,2,3-c,d)Pyrène	1,528	31,4	100,0	0,751	19,8	49,1	1,079	10,4	70,6
Benzo(g,h,i)Pérylène	1,243	36,0	100,0	0,583	17,9	46,9	0,829	9,5	66,7
Moyennes des HPA		22,7	100,0		16,2	66,5		15,4	102,4
Pentachlorophénol	0,152	9,5	100,0	0,079	34,2	52,0	0,108	27,3	71,6

Composé	C ^b			D ^b			E ^b		
	M (mg.kg ⁻¹)	RSD (%)	RDT (%)	M (mg.kg ⁻¹)	RSD (%)	RDT (%)	M (mg.kg ⁻¹)	RSD (%)	RDT (%)
Naphtalène	0,161	18,5	98,2	0,151	22,6	92,3	ICC	-	-
Acénaphthylène	0,082	14,8	110,6	0,079	7,3	106,8	ICC	-	-
Acénaphène	0,073	7,2	100,4	0,082	10,9	112,3	ICC	-	-
Fluorène	0,081	11,7	80,1	0,088	11,7	87,2	ICC	-	-
Phénanthrène	1,173	13,6	95,0	1,304	15,4	105,6	1,722	5,4	139,5
Anthracène	0,298	9,8	115,4	0,300	8,1	116,0	0,426	11,5	164,9
Fluoranthène	2,493	10,3	108,0	2,577	11,1	111,7	2,936	11,9	127,2
Pyrène	1,950	9,3	115,7	2,021	10,2	119,9	2,235	10,5	132,6
Benz(a)Anthracène	1,368	12,4	103,2	1,353	6,2	102,1	1,589	15,1	119,9
Chrysène	2,006	8,4	105,5	1,964	6,9	103,3	2,364	13,4	124,3
Benzo(b)Fluoranthène	2,783	7,6	123,4	2,668	6,3	118,3	3,040	11,8	134,8
Benzo(k)Fluoranthène	0,833	10,4	59,6	0,798	7,1	57,1	0,876	14,2	62,7
Benzo(a)Pyrène	1,366	9,0	95,5	1,368	7,1	95,6	1,433	14,7	100,2
Indeno(1,2,3-c,d)Pyrène	1,294	13,2	84,7	1,176	10,6	77,0	1,281	17,2	83,8
Benzo(g,h,i)Pérylène	0,960	9,9	77,2	0,920	8,0	74,0	0,952	11,4	76,6
Moyennes des HPA		11,1	98,2		10,0	98,6		12,5	115,1
Pentachlorophénol	0,079	21,3	52,3	0,107	14,7	70,7	ICC	-	-

^a: 5 g de sol, CH₂Cl₂, 8 heures.^b: conditions opératoires présentées dans le tableau 10.

ICC : interférents chromatographiques co-élus.

M : concentration moyenne.

RSD : écart-type relatif (Relative Standard Deviation).

Tableau 12 : Répartition (en %) des quantités récupérées après trois extractions consécutives réalisées en ESS (n=5 - série A).

HPA	A α (%)	A β (%)	A γ (%)
Naphtalène	76,1	15,6	8,3
Acénaphthylène	100,0	-	-
Acénaphène	100,0	-	-
Fluorène	100,0	-	-
Phénanthrène	91,1	6,0	2,9
Anthracène	94,5	5,5	-
Fluoranthène	96,1	2,6	1,3
Pyrène	97,8	2,2	-
Benz(a)Anthracène	95,2	2,5	2,3
Chrysène	96,1	3,9	-
Benzo(b)Fluoranthène	93,0	4,6	2,4
Benzo(k)Fluoranthène	100,0	-	-
Benzo(a)Pyrène	95,3	4,7	-
Indeno(1,2,3-c,d)Pyrène	100,0	-	-
Benzo(g,h,i)Pérylène	100,0	-	-
Pentachlorophénol	100,0	-	-

Le paramètre E_T^N (énergie de transition $\pi \rightarrow \pi^*$ normalisée de la bétaine) traduit la capacité globale de solvater. Il est déterminé à partir de données spectroscopiques et prend en compte les différents types de forces intermoléculaires mis en jeu entre le soluté et le solvant [Loupy A. et Haudrechy A. 1996].

Les résultats des deux séries d'extraction sont regroupés dans le tableau 13. L'extraction des HPA n'est pas sensible à ce changement de solvant. Les différences de rendement obtenues sont incluses dans les domaines de dispersions de résultats. De plus, quel que soit le solvant utilisé, la répartition entre les trois fractions est similaire et recoupe celle observée avec la série A. Nous observons la même différence de comportement pour la naphtalène que ce qui a été précédemment constaté. Cela semble confirmer que le solvant d'extraction n'est pas à l'origine de cette différence mais que c'est plus un problème de limitation de transfert du naphtalène dans les micropores par rapport aux autres composés adsorbés dans des pores plus gros.

Le fait d'effectuer des extractions consécutives permettrait alors de renforcer l'action de l'extractant pour certains composés. De même, un temps de contact plus long est susceptible d'améliorer les taux de récupération de ces analytes. Toutefois, le gain de rendement observé n'est pas considérable.

La comparaison de la série B et C (tableau 11) permet d'évaluer l'influence du nombre de cycles d'extraction sur les rendements. La série B ayant des écart-types pour la plupart des HPA supérieurs à ceux de la série C, il n'apparaît pas de différences significatives de rendements entre une extraction comprenant 1 ou 3 cycles. Ceci vient renforcer les observations faites lors des extractions consécutives. Seule la durée de l'opération varie sensiblement : 18 min. contre 30 min. respectivement. Toutefois, les extractions à 1 cycle semblent engendrer une dispersion de résultats plus importante que celle obtenue avec 3 cycles. Le fait de privilégier 3 cycles d'extraction par rapport à 1 seul permettrait donc de limiter les variations de rendements.

Tableau 13 : Répartition (en %) des quantités récupérées après trois extractions consécutives réalisées en ESS avec deux solvants différents (n=5 - séries F et G).

Composé	Dichlorométhane/acétone			1,1-Dichloroéthane/acétone		
	F α (%)	F β (%)	F γ (%)	G α (%)	G β (%)	G γ (%)
Naphtalène	82,3	11,3	6,5	83,1	11,5	5,3
Acénaphthylène	100,0	-	-	100,0	-	-
Acénaphène	100,0	-	-	100,0	-	-
Fluorène	100,0	-	-	100,0	-	-
Phénanthrène	94,7	3,5	1,8	95,7	2,8	1,5
Anthracène	100,0	-	-	100,0	-	-
Fluoranthène	98,8	1,2	-	98,8	1,2	-
Pyrène	99,2	0,8	-	99,1	0,9	-
Benz(a)Anthracène	97,7	1,1	1,2	97,7	1,0	1,3
Chrysène	98,3	1,7	-	98,4	1,6	-
Benzo(b)Fluoranthène	99,0	1,0	-	98,9	1,1	-
Benzo(k)Fluoranthène	98,6	1,4	-	98,4	1,6	-
Benzo(a)Pyrène	98,9	1,1	-	98,7	1,3	-
Indeno(1,2,3-c,d)Pyrène	100,0	-	-	100,0	-	-
Benzo(g,h,i)Pérylène	100,0	-	-	100,0	-	-
Pentachlorophénol	100,0	-	-	100,0	-	-

Par conséquent, en considérant l'ensemble des taux de récupération des HPA et du PCP, il s'avère que la série D regroupe les conditions opératoires pour extraire efficacement les composés étudiés, c'est à dire 5 g de sol, DCM, 100 °C, 2000 psi et 3 cycles d'extraction.

Toutefois, Richter *et al.* [1996] ont observé une amélioration des rendements lors de l'augmentation de la pression et de la température d'extraction en ESS. Les résultats de la série E (200 °C, 3000 psi) viennent corroborer ce phénomène (tableau 11). Ainsi, une purification permettrait la réduction des interférents rencontrés pour cette série. L'exploitation de l'ESS dans de telles conditions opératoires serait alors envisageable.

4.1.3. Apport des techniques MOF, EPS, ESS vis-à-vis des techniques conventionnelles (Soxhlet, ultrasons)

Nous allons aborder le comparatif des cinq méthodes d'extraction selon la procédure présentée dans la figure 10.

Les méthodes conventionnelles (Soxhlet et ultrasons) sont réalisées dans des conditions opératoires standards communément pratiquées pour des extractions de routine.

Lors des comparatifs à venir, le Soxhlet est choisi comme référence relative pour le calcul des rendements d'extraction (rendement égal à 100 %).

Les HPA appartiennent à une famille de composés dont la grande diversité est liée à l'étendue des poids moléculaires (de 128,16 à 278,33 en ce qui concerne les HPA étudiés) et des structures (de 2 à 6 cycles aromatiques pour les HPA considérés) rencontrés. Il est difficile de les classer en catégories bien précises car ils se comportent de manière particulière selon les conditions auxquelles ils sont soumis. Cependant, sans pour autant fixer des limites, nous pouvons assurément distinguer au moins deux catégories :

- les HPA de faibles poids moléculaires ou appelés semi-volatils; bien que cela ne soit pas réellement le cas sauf pour la naphthalène qui est le plus léger d'entre tous,
- les HPA à hauts poids moléculaires tel que le benzo(g,h,i)pérylène.

Les ultrasons permettent d'extraire en plus grande quantité les composés de poids moléculaire élevé par rapport au Soxhlet, tout en offrant une plus faible dispersion de résultats (tableau 14). Les taux de récupération du Soxhlet ne sont donc pas les plus importants. Les RSD du Soxhlet sont assez élevés, notamment pour le phénanthrène et le benzo(b)fluoranthène. La phase de pré-concentration incluse uniquement dans la procédure d'extraction Soxhlet, peut être à l'origine de ces observations. Il est à noter que ces résultats sont obtenus à des concentrations proches des limites de quantification, particulièrement pour les trois composés suivants : benzo(a)pyrène, indeno(1,2,3-c,d)pyrène et benzo(g,h,i)pérylène. Or il semble exister un lien entre les quantités d'analytes présents dans l'échantillon et la dispersion des résultats. Lorsque ces quantités deviennent faibles, les RSD ont tendance à augmenter car les variations engendrées d'une part, par l'extraction/concentration et d'autre part, par l'analyse (détection, intégration) sont plus conséquentes. Ce phénomène peut expliquer les RSD très élevés rencontrés pour trois d'entre eux avec le Soxhlet.

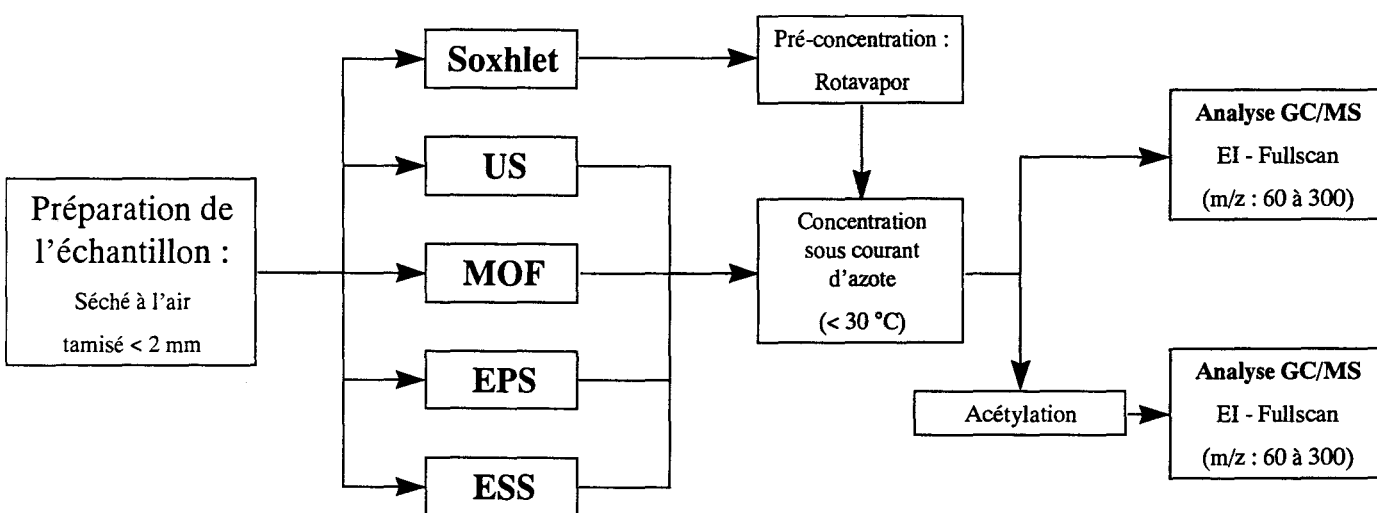


Figure 10 : Procédure analytique adoptée pour la comparaison des cinq méthodes d'extraction: Soxhlet, ultrasons (US), extraction sous champ micro-ondes focalisées (MOF), extraction en phase supercritique (EPS) et extraction subcritique par solvant (ESS).

4.1.3.1. Comparaison entre l'extraction MOF et les techniques Soxhlet et Ultrasons

Lorsque le DCM est utilisé, les micro-ondes focalisées se comportent de façon similaire aux US pour les composés volatils mais sont beaucoup moins efficaces pour les HPA les plus lourds (tableau 14). Ces deux techniques sont des méthodes d'extraction statiques, contrairement au Soxhlet qui fonctionne en reflux. Or, deux extractions consécutives ont été entreprises avec les US (2 x 15 min.), contrairement aux MOF dont la durée d'extraction est fixée à 1 x 10 min. (la plus rencontrée pour cette technique). Dans le premier cas, le solvant est renouvelé alors que dans le second cas, toute l'extraction est réalisée avec le même solvant. L'équilibre thermodynamique a peut être été atteint lors de la première extraction pour les deux techniques, mais le changement du DCM dans le cas des US a permis de palier cet effet. Ceci peut donc être

à l'origine des différences de rendements d'extraction observées entre ces deux techniques. Par conséquent, les US n'ont pas forcément plus d'impact que les MOF sur l'extraction des HPA.

La comparaison des trois techniques utilisant le même solvant (DCM) montre que l'extraction MOF est moins efficace que le Soxhlet et les US dans les conditions fixées.

Si l'on considère les taux d'extraction obtenus dans les meilleures conditions opératoires pour l'extraction MOF (DCM/acétone, 20 % d'eau avant ajout des solvants) avec ceux des méthodes usuelles, les récupérations des composés volatils sont améliorées par rapport aux US mais restent cependant moins élevées que celles du Soxhlet d'une manière générale.

Les rendements d'extraction (rapportés au Soxhlet) sont compris entre 70,8 % et 128,1 %. La plus faible valeur est observée pour le naphthalène. Or, nous travaillons avec un système d'extraction ouvert et ce composé présente un caractère volatil. La méthode MOF fournit cependant des résultats globalement convenables (rendement moyen de 96,4 %).

Les dispersions de résultats sont moins importantes avec la technique MOF qu'avec le Soxhlet : écart-type relatif moyen de 13,1 % pour les MOF contre 22,7 % pour le Soxhlet. L'écart de RSD existant entre les deux méthodes est plus marqué au niveau des HPA de haut poids moléculaire.

Par contre, les RSD des HPA de poids moléculaire élevé sont similaires dans les cas des MOF et des US.

Le naphthalène (volatil) présente, lorsqu'il est extrait par les US, les plus faibles rendements d'extraction et RSD d'une part, de tous les HPA légers et d'autre part, des deux autres techniques testées. De plus, l'écart entre les rendements d'extraction du Soxhlet et ceux des US ou des MOF est important pour les analytes légers.

La combinaison siphon/réfrigérant du Soxhlet permet de récupérer les composés volatils grâce au réfrigérant (c'est aussi le cas des MOF mais pas des US) et de les réintroduire dans un système non saturé grâce au siphon (ce qui n'est pas le cas, ni des MOF, ni des US). Ainsi lors de l'emploi de US, les pertes par volatilisation des HPA les plus légers entraînent une dispersion de résultats assez importante, mis à part le naphthalène. Par contre, la présence du réfrigérant pour l'extraction MOF limite ce phénomène de volatilisation. Ceci peut expliquer les différences de RSD observées entre ces deux techniques et rencontrées pour les HPA relativement volatils (globalement jusqu'à l'anthracène).

Les US possèdent des caractéristiques opératoires similaires aux MOF pour un investissement moindre (notamment pour effectuer des extractions en parallèle). Cependant, l'extraction par micro-ondes focalisées améliore le confort de travail au niveau sonore vis-à-vis des US. De plus, elle procure une faible dispersion de résultats vis-à-vis des techniques Soxhlet et US, avec des rendements d'extraction convenables pour l'ensemble des HPA (96,4 %). Cette technique est enfin très intéressante de part les faibles quantités de solvants utilisées et les temps d'extraction réduits.

4.1.3.2. Comparaison entre l'EPS et les techniques Soxhlet et Ultrasons

Le domaine de variabilité des résultats issus de l'EPS est compris dans le domaine de variabilité de ceux obtenus par la méthode Soxhlet, à l'exception des HPA les plus légers (tableau 14). Ainsi, les fortes dispersions de résultats obtenues à partir du Soxhlet ne permettent pas de conclure que les HPA de haut poids moléculaire sont plus facilement extractibles par cette méthode que par la méthode EPS.

Tableau 14 : Extractions au Soxhlet, aux ultrasons (US), sous champ micro-ondes focalisées (MOF), extractions en phase supercritique (EPS) et extractions subcritique par solvant (ESS) de 15 HPA et du PCP issus d'un sol réellement contaminé (n=5).

Composé	Soxhlet ^a			US ^b			MOF ^c		
	M (mg.kg ⁻¹)	RSD (%)	RDT (%)	M (mg.kg ⁻¹)	RSD (%)	RDT (%)	M (mg.kg ⁻¹)	RSD (%)	RDT (%)
Naphtalène	0,164	8,1	100,0	0,084	7,4	51,4	0,091	13,6	55,7
Acénaphthylène	0,074	18,3	100,0	0,065	29,0	87,6	0,061	20,2	82,0
Acénaphène	0,073	20,8	100,0	0,057	24,4	77,5	0,051	12,8	70,2
Fluorène	0,101	21,9	100,0	0,080	29,7	79,5	0,074	16,9	73,5
Phénanthrène	1,235	26,1	100,0	1,242	20,0	100,5	1,012	16,3	82,0
Anthracène	0,258	13,2	100,0	0,271	20,2	105,0	0,246	13,3	95,2
Fluoranthène	2,308	20,5	100,0	2,713	18,1	117,6	2,100	13,4	91,0
Pyrène	1,685	20,7	100,0	1,973	15,0	117,1	1,541	12,4	91,5
Benz(a)Anthracène	1,325	22,0	100,0	1,534	19,3	115,8	1,091	14,5	82,4
Chrysène	1,901	22,6	100,0	2,005	15,0	105,5	1,522	13,5	80,0
Benzo(b)Fluoranthène	2,256	26,9	100,0	2,399	12,1	106,4	1,773	14,0	78,6
Benzo(k)Fluoranthène	1,397	23,8	100,0	1,531	14,9	109,5	1,110	15,2	79,4
Benzo(a)Pyrène	1,431	27,4	100,0	1,663	11,9	116,2	1,130	17,2	79,0
Indeno(1,2,3-c,d)Pyrène	1,528	31,4	100,0	1,834	12,8	120,1	1,295	19,1	84,8
Benzo(g,h,i)Pérylène	1,243	36,0	100,0	1,476	15,1	118,7	1,004	19,3	80,7
Moyennes des HPA	1,132	22,7	100,0	1,262	17,7	101,9	0,940	15,4	80,4
Pentachlorophénol	0,152	9,5	100,0	0,087	0,8	57,4	0,154	34,9	101,5

Composé	MOF ^d			EPS ^e			ESS ^f		
	M (mg.kg ⁻¹)	RSD (%)	RDT (%)	M (mg.kg ⁻¹)	RSD (%)	RDT (%)	M (mg.kg ⁻¹)	RSD (%)	RDT (%)
Naphtalène	0,116	14,7	70,8	0,235	21,4	144,0	0,151	22,6	92,3
Acénaphthylène	0,072	15,7	97,8	0,079	21,2	106,1	0,079	7,3	106,8
Acénaphène	0,057	13,7	77,6	0,074	16,4	101,7	0,082	10,9	112,3
Fluorène	0,086	14,0	85,5	0,095	13,3	94,2	0,088	11,7	87,2
Phénanthrène	1,373	16,6	111,2	1,256	13,9	101,7	1,304	15,4	105,6
Anthracène	0,296	11,4	114,8	0,274	9,2	106,1	0,300	8,1	116,0
Fluoranthène	2,957	17,2	128,1	2,279	11,2	98,8	2,577	11,1	111,7
Pyrène	2,127	14,5	126,2	1,737	13,9	103,1	2,021	10,2	119,9
Benz(a)Anthracène	1,384	9,6	104,5	1,237	11,8	93,3	1,353	6,2	102,1
Chrysène	1,995	12,8	105,0	1,859	12,0	97,8	1,964	6,9	103,3
Benzo(b)Fluoranthène	2,053	10,2	91,0	2,377	11,9	105,4	2,668	6,3	118,3
Benzo(k)Fluoranthène	1,173	11,2	84,0	1,142	10,0	81,7	0,798	7,1	57,1
Benzo(a)Pyrène	1,214	9,8	84,8	1,259	12,8	88,0	1,368	7,1	95,6
Indeno(1,2,3-c,d)Pyrène	1,304	14,2	85,4	1,130	11,8	73,9	1,176	10,6	77,0
Benzo(g,h,i)Pérylène	0,988	11,2	79,4	1,024	16,1	82,4	0,920	8,0	74,0
Moyennes des HPA	1,146	13,1	96,4	1,071	13,8	98,5	1,123	10,0	98,6
Pentachlorophénol	0,112	8,8	73,9	ICC	-	-	0,107	14,7	70,7

^a: 5g de sol, CH₂Cl₂, 8 heures.

^b: 5g de sol, CH₂Cl₂, 2x15 min.

^c: 5g de sol, CH₂Cl₂, sans eau, 10 min.

^d: 5g de sol, CH₂Cl₂/acétone, 20 % d'eau avant ajout des solvants, 10 min.

^e: 5g de sol, CO₂/5 % Méthanol, CH₂Cl₂, 200 °C/5800 psi, 75 min.

^f: 5g de sol, CH₂Cl₂, 100 °C/2000 psi, 3 cycles d'extraction, 30 min.

ICC : interférents chromatographiques co-élués.

M : concentration moyenne.

RSD : écart-type relatif (Relative Standard Deviation).

RDT : rendement moyen rapporté au Soxhlet.

Les écarts-type relatifs en EPS sont assez importants pour les composés les plus légers (environ 20 %) ce qui peut être lié à un problème au niveau de la collecte off-line. La technique par barbotage semble par conséquent mal adaptée à l'extraction d'analytes volatils.

Les taux de récupération issus des US sont plus faibles que ceux issus de l'EPS pour les composés les plus légers, mais plus élevés pour les HPA les plus lourds. Ainsi, l'utilisation des US n'est pas souhaitable pour l'extraction des HPA légers mais s'avère efficace pour ce qui concerne les HPA de haut poids moléculaire.

Si nous considérons uniquement les taux de récupération, l'EPS se montre dans l'ensemble aussi intéressant que le Soxhlet ou les US (moyenne pour l'ensemble des HPA : 98,5 % avec la méthode EPS et 101,9 % avec les US). Cependant pour la plus grande partie des HPA, les RSD issus de l'EPS sont notablement moins importants que ceux issus des méthodes classiques.

Des interférences co-extraites et co-éluées avec le PCP ont entraîné l'impossibilité d'en interpréter les résultats. En effet, les conditions opératoires employées en EPS induisent une valeur très faible de la constante diélectrique du CO₂ supercritique [Hawthorne S.B. *et al.* 1994(b), Yang Y. *et al.* 1995(b)] qui devient alors un extractant peu spécifique.

4.1.3.3. Comparaison entre l'ESS et les techniques Soxhlet et Ultrasons

L'ESS permet d'obtenir des rendements d'extraction satisfaisants pour les HPA par rapport à la méthode Soxhlet (tableau 11). Dans le meilleur des cas, les rendements varient pour les HPA entre 74 et 118 % avec une moyenne de 98,6 % pour un écart-type moyen de 10 % (série D). Il est à noter que la co-élution partielle du benzo(b)fluoranthène et du benzo(k)fluoranthène provoque la surestimation des rendements d'extraction du premier composé au détriment du second.

L'ESS est moins efficace que les US pour extraire les HPA lourds (tableau 14). Cependant, elle est plus appropriée pour les HPA légers, notamment le naphthalène. Les écarts-type relatifs issus de l'ESS sont notablement inférieurs à ceux des US (également inférieurs à ceux du Soxhlet).

Par conséquent, l'ESS possède des taux de récupération légèrement inférieurs à ceux du Soxhlet ou des US, mais présente des résultats environ deux fois moins dispersés que ceux obtenus à partir des méthodes classiques.

4.1.3.4. Choix de la méthode d'extraction

Après avoir effectué le bilan individuel de l'apport de chacune des trois nouvelles techniques (MOF, EPS, ESS) vis-à-vis du Soxhlet et des US, il s'avère que toutes ces techniques se comportent globalement de la même manière d'un point de vue efficacité : rendements moyens des HPA variant de 96,4 % à 101,9 % par rapport à celui du Soxhlet (tableau 14). Toutefois, il faut nuancer cela d'une part, i) en regardant la variation des rendements d'extraction en fonction des composés analysés, notamment des poids moléculaires et d'autre part, ii) en tenant compte de la dispersion des résultats pour l'ensemble des HPA.

i) Les méthodes réagissent toutes différemment selon l'analyte considéré au niveau de l'efficacité de l'extraction (figure 11 a), b), c), d)).

Les US ont un comportement très différent de celui du Soxhlet (a). Leurs rendements augmentent vis-à-vis de ceux du Soxhlet de manière proportionnelle au poids moléculaire (profil ascendant). Ils sont très influencés par la nature des analytes à extraire.

Les MOF (b) montrent des difficultés à extraire les HPA de poids moléculaire se situant aux extrêmes (les plus légers et les plus lourds).

L'EPS et l'ESS ont des profils assez semblables (c et d), à l'exception du naphthalène, avec cependant des rendements plus proches de ceux du Soxhlet en ce qui concerne l'EPS.

Les trois nouvelles méthodes d'extraction présentent une chute des rendements pour les HPA de haut poids moléculaire par rapport au Soxhlet.

ii) D'autre part, il existe un écart très marqué entre les RSD issus des méthodes classiques et ceux, plus faible, provenant des nouvelles techniques.

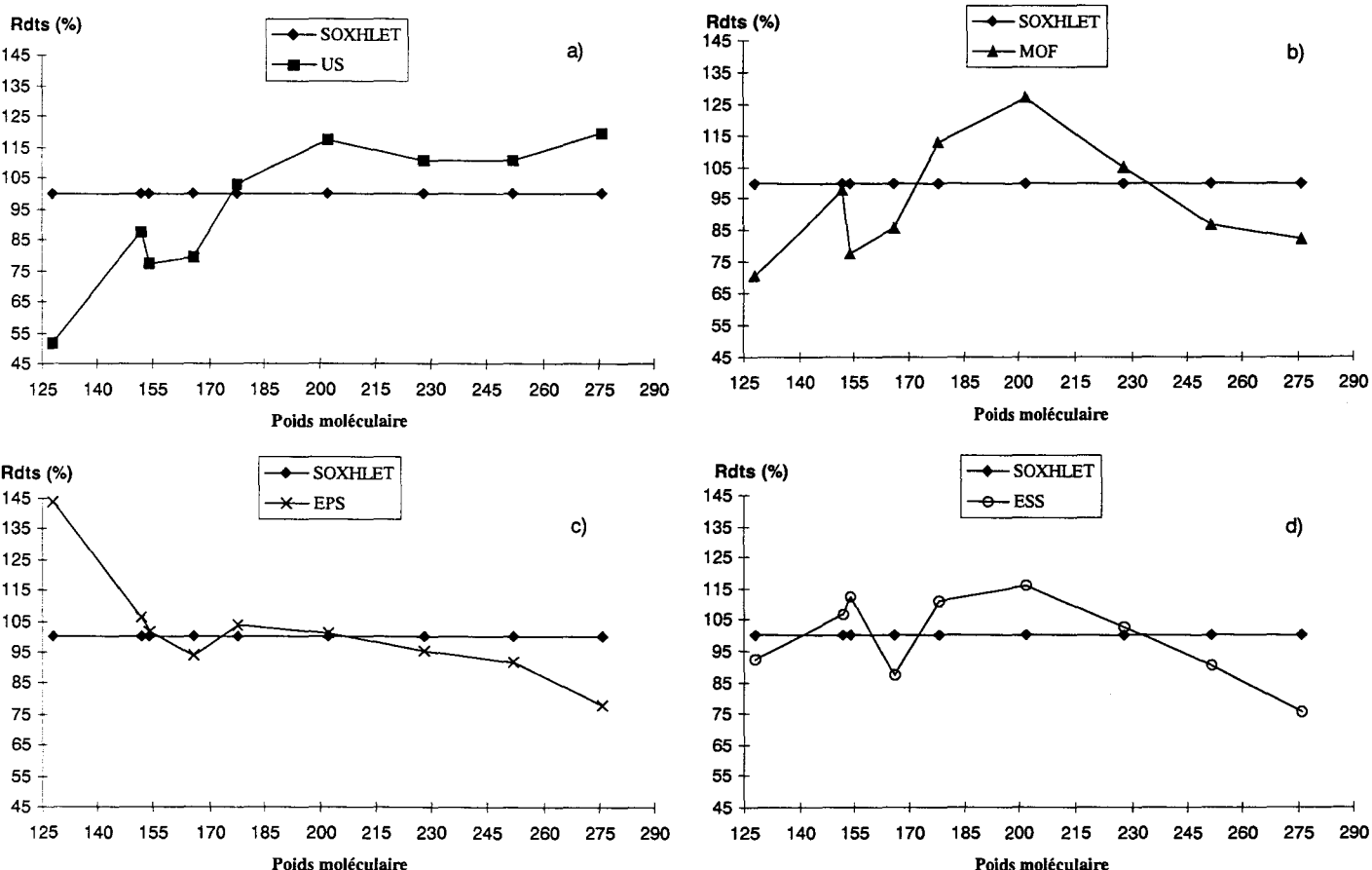


Figure 11 : Variation des rendements d'extraction (Rdts) en fonction du poids moléculaire des HPA.

Le choix de la méthode d'extraction est basée sur le fait que nous pensons qu'il soit préférable d'obtenir des rendements d'extraction légèrement inférieurs à ceux du Soxhlet mais mieux ciblés (faibles RSD) que des rendements élevés pour une dispersion de résultats conséquente.

L'emploi des méthodes MOF, EPS ou ESS se montre plus approprié que celui des méthodes conventionnelles pour l'extraction des HPA.

Parmi ces trois méthodes, l'ESS se démarque puisqu'elle possède les rendements les plus importants pour les RSD les plus faibles en HPA.

Par ailleurs, divers facteurs liés aux caractéristiques techniques de chaque méthode d'extraction doivent être considérés. Le tableau 15 regroupe les principaux paramètres, en dehors

des critères d'efficacité de récupération explicités précédemment, permettant de se baser afin d'établir un choix.

Des extractions consécutives sont souhaitables lors de l'utilisation de méthodes mettant en jeu des systèmes statiques. En effet, l'équilibre thermodynamique réalisé au sein de ces systèmes peut être déplacé au profit du solvant organique. De plus, la durée d'extraction doit être la plus courte possible pour des raisons pratiques. L'ESS permet d'effectuer trois cycles d'extraction en 30 min., ce qui revient à réaliser trois extractions successives avec les MOF. Par conséquent, ces deux techniques qui présentent les plus faibles durées d'extraction se valent sur ce plan.

L'ESS nécessite l'utilisation de 25 mL de solvant organique contre 220 mL pour le Soxhlet, 60 mL pour les ultrasons, 40 mL pour les micro-ondes focalisées et 25 mL pour l'EPS, sans tenir compte du volume de CO₂ nécessaire pour cette dernière technique estimé à environ 60 mL de CO₂ liquide. Compte tenu d'une part, des recommandations faites par les pouvoirs publics concernant l'utilisation des solvants organiques chlorés et d'autre part, de leur coût d'utilisation (prix des solvants, coûts liés à la concentration des extraits, coût du traitement des déchets de laboratoire), les quantités de solvant organiques doivent être prises en ligne de compte. Ce facteur favorise les techniques récemment mises sur le marché. Il est à noter que les quantités de solvant nécessaires en ESS sont inférieures à celles rencontrées pour les autres techniques.

La rapidité et l'automatisation de l'ESS rendent possible le traitement d'un grand nombre d'échantillons (jusqu'à 24) dans un minimum de temps, ce que n'offre pas les autres méthodes même automatisées comme l'EPS ou le Soxhlet.

De même, l'ESS ainsi que l'EPS automatisée permettent de réduire d'une part, le temps opérateur (montage / démontage du système, chargement / déchargement des échantillons, filtration / concentration des extraits, etc.) et d'autre part, l'encombrement spatial dans le laboratoire qui peut devenir rapidement conséquent avec l'accroissement du nombre d'échantillon à traiter, comme c'est le cas lors de l'utilisation du Soxhlet ou des MOF.

Certaines techniques nécessitent une phase de mise au point assez poussée afin d'obtenir des résultats convenables. Celle de l'EPS se révèle pointue avec des conditions opératoires rigoureuses, bien définies et bien contrôlées. L'opérateur doit posséder des connaissances particulièrement approfondies. D'autre part, il lui incombe de respecter scrupuleusement les règles fondamentales et les consignes de sécurité propres à chaque technique. Au delà des dommages engendrés à l'appareil, l'opérateur doit être conscient des éventuels dangers intrinsèques à certaines techniques tels que la possible exposition à l'énergie micro-ondes à un niveau excessif en MOF, ou le risque de projection de CO₂ liquide en EPS (pouvant occasionner des brûlures de la peau). Tous ces facteurs contribuent à une compétence de l'utilisateur plus ou moins accrue selon les méthodes.

Enfin, le coût de fonctionnement est un facteur déterminant et la méthode US est de loin l'une des moins chères actuellement sur le marché.

Les US demeurent intéressants par rapport au Soxhlet, tout en réduisant considérablement les durées d'extraction (respectivement 30 min. contre 8 h d'extraction), les volumes de solvant organique et surtout l'investissement. Cependant, malgré ses attraits, le comparatif des performances analytiques ne permet pas de considérer les US comme la technique de référence.

4.1.3.5. Conclusion

Il ressort des différentes remarques énoncées précédemment que l'ESS présente de nombreux avantages (tableau 15). Elle semble être la technique la mieux adaptée à l'attente des laboratoires de contrôle. Ceci est en premier lieu lié à ses résultats quantitatifs satisfaisants, mais aussi à son automatisation et à sa souplesse d'utilisation.

Tableau 15 : Critères complémentaires pour l'évaluation des différentes techniques d'extraction.

Paramètres	Soxhlet	US	MOF	EPS	ESS
Durée de l'extraction (dont montée en Température, Pression, etc.)	8 h	30 min.	10 min.	1 h 50 min. (35 min.)	30 min.
Nombre d'extractions consécutives	1 (reflux)	2	1	1	3
Volume de solvant d'extraction	220 mL	60 mL	40 mL	25 mL (+ CO ₂)	25 mL
Nombre d'échantillons pouvant être extraits	6 (rampe)	6	1	4	24
Degré d'automatisation :					
expérimenté	néant	néant	semi-auto	néant	auto
existant	semi-auto	néant	semi-auto	auto	auto
Volume de solvant pour le nettoyage	important	moyen	important	faible	faible
Encombrement rapporté à un échantillon	important	faible	important	moyen	faible
Temps opérateur	important	faible	moyen	moyen	faible
Compétence de l'opérateur	faible	faible	moyenne	élevée	faible
Coût de l'équipement expérimenté (FHT)	Rampe 10 000 Soxhlet 1 000 ⇒ 16 000	Cuve à US 1 500 Tube Corex 150 ⇒ 2 400	⇒ 43 500	avec 4 cellules ⇒ 109 600	avec 24 cellules ⇒ 324 000
Coût d'utilisation /échantillon ^a (FHT)	67,92	31,38	47,06	162,85	43,71
Classement du coût d'utilisation (ordre croissant)	4	1	3	5	2

^a. cf. annexe 1 pour les calculs détaillés.

4.2. Sol dopé

Il est intéressant d'évaluer dans quelle mesure la technique d'extraction choisie (ESS) permet de récupérer dans leur totalité l'ensemble des composés à analyser, avec les conditions opératoires fixées. L'EPS est aussi intégrée à cette étude car elle a été écartée uniquement pour des raisons pragmatiques mais elle présente des résultats proches de l'ESS. Ainsi, les capacités de récupération de ces deux techniques sont examinées pour une matrice identique.

L'évaluation sur matrice naturelle de l'élution et de la récupération des analytes cibles a été préférentiellement choisie à l'évaluation sur matrices inertes telles que le sulfate de sodium anhydre ou la terre diatomée. En effet, un sol naturel non contaminé engendre des interactions avec les solutés introduits plus importantes que lors de l'utilisation de matrices inertes. Toutefois, les interactions mises en jeu avec des sols naturellement contaminés restent les plus fortes.

4.2.1. Procédure de dopage

Le dopage de matrice solide doit être réalisé de manière à reproduire les phénomènes d'adsorption mis en jeu dans les matrices réellement contaminées. Les deux techniques généralement rencontrées sont le dopage en suspension (où l'échantillon est agité dans le solvant dopant qui sera par la suite éliminé par évaporation) et le dopage par injection (où une petite quantité de solvant dopant est introduite à l'aide d'une seringue dans l'échantillon). Ces deux pratiques possèdent des avantages et des inconvénients [Burford M.D. *et al.* 1993].

D'autre part en EPS, il faut tenir compte de la présence du solvant avec lequel est réalisé le dopage. Lorsqu'il n'est pas éliminé avant l'extraction (pour minimiser les pertes en composés volatils), il peut affecter le comportement physico-chimique de l'échantillon en jouant le rôle de modificateur polaire.

Le type de dopage a été choisi en fonction des priorités requises par cette étude, à savoir les limitations de l'altération de la matrice et de l'évaporation des analytes. Le dopage par injection apparaît par conséquent le mieux adapté.

4.2.2. Evaluation de l'étape de concentration

Après récupération des analytes dans le dichlorométhane, les extraits sont concentrés sous courant d'azote puis acétylés. Les pertes en composés cibles engendrées durant ces étapes de traitement de l'extrait sont évaluées en dopant 15 mL de DCM par 250 μ L d'une gamme contenant 13 phénols et 16 HPA à 48 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ dans le méthanol. L'extrait ainsi formé subit la procédure analytique décrite précédemment (§ 3. et figure 10). Une quantification relative est réalisée à partir de la même gamme directement acétylée et injectée.

Les taux de récupération sont satisfaisants pour l'ensemble des composés étudiés (tableau 16). Cependant, trois HPA (naphtalène, acénaphthylène, acénaphène) subissent des pertes importantes pendant ces étapes (< 85 % de récupération). Ces analytes présentent les plus faibles poids moléculaires et sont les plus volatils des HPA étudiés.

4.2.3. Evaluation de l'EPS et de l'ESS

Le sol n°1 est dopé avec 250 μ L de la gamme utilisée précédemment. Le solvant (méthanol) sert aussi de modificateur polaire (5 % du volume de la cellule) en EPS.

Les taux de récupération (rapportés au Soxhlet) sont globalement favorables à l'ESS par opposition à l'EPS, cette dernière présentant une plus importante dispersion des résultats dans son ensemble (tableau 17).

Le phénol qui est l'analyte ayant le plus faible poids moléculaire parmi les 29 composés étudiés, donne en EPS des rendements d'extraction peu élevés pour des écarts-type relatifs importants en comparaison de ceux obtenus en ESS. Ceci peut être en partie lié aux problèmes de collecte déjà constatés dans la littérature pour l'EPS off-line (§ 2.2.3.). Des pertes par volatilisation (le phénol étant le plus sensible à ce phénomène) peuvent avoir lieu lors de la récupération par barbotage dans le DCM.

Pour les deux méthodes d'extraction, quatre composés possèdent des taux de récupération inférieurs à 80 % : le 2,4-diméthylphénol, le naphtalène, l'acénaphthylène et l'acénaphène. Cependant, l'étape de concentration est à l'origine de ces résultats pour trois d'entre eux (tableau 16). Seul, le 2,4-diméthylphénol semble poser des problèmes de récupération.

L'EPS ou l'ESS permettent donc de récupérer simultanément deux classes de composés possédant des caractéristiques physico-chimiques très différentes.

La comparaison des taux de récupération et des RSD obtenus après dopage, conduit à penser que dans les conditions opératoires fixées, l'ESS permet une récupération des composés cibles quantitativement plus satisfaisante, compte tenu du mode de collecte mis en jeu en EPS (bullage).

Tableau 16 : Taux de récupération (% par rapport à une gamme à 12 mg.L⁻¹) de 16 HPA et de 13 phénols après concentration sous courant d'azote (n=5).

Composé	Moyenne	RSD (%)
Phénol	99,3	9,5
o-Crésol	98,4	6,6
m-Crésol	98,2	7,9
p-Crésol	94,3	7,8
Naphtalène	80,5	11,7
2-Chlorophénol	95,6	5,6
2,4-Diméthylphénol	90,3	9,5
2,6-DiChlorophénol	101,8	3,6
4-Chloro-3-Méthylphénol	99,0	4,0
2,4-Dichlorophénol	101,1	4,2
2,4,6-Trichlorophénol	99,7	2,7
Acénaphthylène	78,0	10,3
Acénaphène	82,7	9,0
2,4,5-Trichlorophénol	99,1	4,0
Fluorène	85,1	6,9
2,3,4,6-Tétrachlorophénol	99,5	4,4
Phénanthrène	89,5	4,3
Anthracène	94,1	3,5
Pentachlorophénol	103,8	8,2
Fluoranthène	97,6	3,4
Pyrène	100,9	3,7
Benz(a)Anthracène	98,7	3,7
Chrysène	103,7	4,3
Benzo(b)Fluoranthène	100,6	3,3
Benzo(k)Fluoranthène	95,2	4,1
Benzo(a)Pyrène	101,1	6,5
Indéno(1,2,3-c,d)Pyrène	102,4	4,7
Dibenz(a,h)Anthracène	102,4	10,9
Benzo(g,h,i)Pérylène	101,5	1,9

RSD : écart-type relatif (Relative Standard Deviation).

Tableau 17 : Rendements de récupération (RDT) d'un sol dopé avec 13 phénols et 16 HPA (n=5 - 12 mg.kg⁻¹).

Composé	EPS		ESS	
	RDT (%)	RSD (%)	RDT (%)	RSD (%)
Phénol	88,3	15,0	104,4	11,5
o-Crésol	85,4	9,3	101,8	5,7
m-Crésol	88,2	11,1	98,9	5,9
p-Crésol	85,0	9,9	96,8	6,4
Naphtalène	74,1	7,8	64,4	17,9
2-Chlorophénol	83,7	8,9	95,5	3,8
2,4-Diméthylphénol	74,6	9,6	76,1	5,1
2,6-Dichlorophénol	87,3	5,6	92,3	6,3
4-Chloro-3-Méthylphénol	84,4	5,0	88,6	5,7
2,4-Dichlorophénol	88,3	4,2	91,6	4,8
2,4,6-Trichlorophénol	91,5	3,1	92,8	6,8
Acénaphthylène	77,7	11,2	75,5	9,6
Acénaphène	79,0	9,6	78,8	9,3
2,4,5-Trichlorophénol	91,0	3,5	93,6	4,7
Fluorène	84,6	6,0	80,2	8,7
2,3,4,6-Tétrachlorophénol	89,8	2,7	89,6	5,7
Phénanthrène	90,1	6,1	93,3	6,0
Anthracène	90,7	5,3	90,7	3,4
Pentachlorophénol	91,7	7,0	79,9	7,3
Fluoranthène	97,2	4,1	99,9	3,1
Pyrène	95,0	4,0	97,0	3,0
Benz(a)Anthracène	96,7	3,1	101,0	1,6
Chrysène	97,1	3,6	100,0	1,3
Benzo(b)Fluoranthène	93,4	6,4	102,3	2,5
Benzo(k)Fluoranthène	90,9	4,8	98,7	2,4
Benzo(a)Pyrène	89,3	4,1	99,9	2,8
Indeno(1,2,3-c,d)Pyrène	84,0	12,1	98,9	6,0
Dibenz(a,h)Anthracène	90,8	6,5	102,9	6,8
Benzo(g,h,i)Pérylène	84,6	6,4	89,3	4,7

5. CONCLUSION

Ce chapitre avait pour but d'une part, l'évaluation de diverses techniques permettant l'extraction d'HPA et de phénols issus de sols réellement contaminés et d'autre part, l'élaboration d'un comparatif confrontant chacune de ces méthodes.

En effet, les procédures analytiques comportant des techniques d'extraction conventionnelles (Soxhlet, Kumagawa ou ultrasons) et communément employées pour le contrôle des pollutions sédimentaires ou pédologiques, semblent ne plus correspondre aux attentes actuelles, notamment au niveau de la rapidité et de la productivité dans le traitement des échantillons. De plus, un équilibre doit être trouvé entre le coût des analyses (souvent limitant lors d'études) et la qualité des résultats rendus.

Parmi les technologies susceptibles de permettre l'évolution des méthodes d'extraction, trois tendances paraissent émerger : l'extraction par Micro-Ondes Focalisées (MOF), l'Extraction en Phase Supercritique (EPS) et l'Extraction Subcritique par Solvant (ESS).

L'étude bibliographique menée sur ces trois techniques d'extraction récemment utilisées dans le domaine de l'analyse chimique environnementale, permet d'apporter le degré de connaissances nécessaire pour pouvoir les exploiter.

Les essais préliminaires menés avec les MOF et l'ESS ont permis de définir un certain nombre de paramètres expérimentaux. Ainsi, l'influence de l'acétone pour les extractions sous champ MOF est plus particulièrement étudiée. Sa présence dans le système à extraire semble jouer un rôle bénéfique lorsque des solvants peu polaires tels que le dichlorométhane sont employés. D'autre part, la manière d'introduire l'eau dans le système influe sur la dispersion des résultats. Ainsi, l'humidification de la matrice se montre plus appropriée que l'hydratation du solvant. L'amélioration des taux de récupération relève d'un compromis entre deux facteurs : le pouvoir solvant du fluide extractant vis-à-vis des analytes considérés et la constante diélectrique du système extrait.

La comparaison des trois techniques citées précédemment est envisagée en y incluant aussi les méthodes conventionnelles (Soxhlet et ultrasons).

Les nouvelles techniques mises en avant ces dernières années ne semblent pas se départager sur un plan quantitatif, mais sur un plan plus pragmatique dont l'argument décisif reste l'automatisation des systèmes d'extraction.

Les techniques classiques présentent des résultats quantitatifs moins satisfaisants que les nouvelles techniques, avec notamment une plus forte dispersion des résultats.

Parmi ces trois nouvelles techniques proposées sur le marché et expérimentées, seule l'ESS regroupe la majeure partie des critères exigibles par les laboratoires de contrôle. En effet, elle permet de traiter un nombre conséquent d'échantillons et d'améliorer la reproductibilité des résultats vis-à-vis des méthodes classiques; tout en réduisant de manière remarquable les durées d'extraction et les volumes de solvant organique. De plus, cette technique requiert une spécialisation et une mobilisation de l'opérateur peu élevées.

Des progrès dans le domaine de l'automatisation restent toujours possibles pour les autres techniques mais ils ne doivent pas se réaliser au détriment de l'aspect quantitatif.

Par ailleurs, nous avons examiné les capacités de récupération de l'EPS et de l'ESS pour deux classes de composés présentant des comportements physico-chimiques variables selon les analytes : les HPA et les phénols. Ces deux techniques se montrent efficaces envers ces deux classes d'analytes. Cependant, l'ESS présente des résultats globalement plus satisfaisants que l'EPS.

**DESCRIPTION DU BALAYAGE PAR
SPECTROMETRIE DE MASSE**

CHAPITRE III

ANALYSE MULTI-RESIDUS - METHODE DE BALAYAGE PAR SPECTROMETRIE DE MASSE

Les analyses les plus souvent demandées en chromatographie consistent à s'assurer de la présence ou de l'absence d'un certain nombre de composés organiques dans un mélange inconnu. Ce dernier peut être plus ou moins complexe selon son origine comme par exemple : produit d'une synthèse organique, d'un procédé industriel, ou dans le cas qui nous intéresse, extrait d'un échantillon d'une matrice de l'environnement (eau, sol, sédiment, etc.).

La difficulté soulevée par la méthode de balayage est d'un tout autre ordre puisque le nombre et l'identité des composés à chercher sont inconnus.

La complexité des matrices environnementales, notamment des sols, rend souvent délicat la double approche d'identification et de quantification. L'apport de la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse a permis de répondre dans une certaine mesure à la première attente. La quantification nécessite, quant à elle, de disposer d'un nombre important et varié de composés étalons. De plus, il est parfois difficile, voire impossible, de se procurer les produits purs de certains micropolluants organiques car ils ne sont pas couramment demandés auprès des fournisseurs. Ces contraintes rendent la quantification alors rapidement onéreuse. Le coût élevé se répercute sur le prix global des analyses proposé aux clients, ce qui devient très limitatif pour une étude ou une campagne de mesures par exemple.

Une démarche alternative aux approches classiques consiste à faire appel à une méthode analytique moins spécifique dont l'objectif premier est de pouvoir apporter des éléments de réponse quant à la nature de la pollution d'un sol, sans pour autant avoir besoin d'employer de nombreuses méthodes dédiées.

La méthode étudiée permet d'établir une approche qualitative grâce à l'identification des analytes par la comparaison de leur spectre de masse avec ceux issus des bibliothèques de spectres, ainsi qu'une détermination semi-quantitative par l'utilisation d'étalons choisis.

1. PRINCIPE DU BALAYAGE PAR SPECTROMETRIE DE MASSE (Evaluation d'un outil analytique en vue d'un balayage chromatographique)

Le balayage par spectrométrie de masse est une méthode d'analyse multiparamétrique. Celle-ci permet d'une part, d'identifier des composés d'un mélange inconnu et d'autre part, d'apporter une approche quantitative. Elle est fondée sur la définition d'une procédure poussée du retraitement du signal chromatographique. L'organigramme représenté sur la figure 1, résume cette procédure.

Dans cette démarche, les analytes donnant un pic chromatographique (avec ou sans coélution partielle) sont classés en deux types de composés :

- les composés plus particulièrement recherchés appelés aussi les connus,
- les composés inconnus.

Tous les composés liés à un pic chromatographique en TIC sont traités dans cette démarche : en connus et/ou en inconnus.

Selon le type de composé, les manières d'identifier et de quantifier sont différentes.

1.1. Analyte connu

Si le composé est un analyte spécifiquement recherché (c'est-à-dire connu par avance) :

- l'identification est basée sur la présence de l'ion de quantification et des ions de caractérisation d'une part, de leur présence au sein de la fenêtre d'identification et du respect des rapports isotopiques d'autre part. Une comparaison de spectres de masse peut venir confirmer l'identification.

- la quantification est réalisée sur l'ion de quantification vis-à-vis de sa droite d'étalonnage.

Tous ces critères sont fixés à partir de solutions étalons contenant les composés connus. Ces paramètres sont par exemple : le t_R servant à positionner la fenêtre d'identification, les rapports des masses ou les différents niveaux constituant la droite d'étalonnage. Cette démarche est celle mise en œuvre lors d'une analyse chromatographique courante en spectrométrie de masse.

1.2. Analyte inconnu

Lorsque l'analyte ne répond pas aux critères relatifs aux composés connus, il faut alors le considérer comme un inconnu. Les différents cas sont représentés par des flèches en pointillé dans la figure 1.

- Le spectre de masse correspondant à un pic chromatographique TIC est comparé à ceux répertoriés dans les bibliothèques de spectres. Cette recherche est réalisée dans deux bases de données : l'une comportant 138 000 entrées, la seconde spécialisée dans les pesticides et répertoriant 372 entrées. Le résultat de la recherche est constitué d'une liste de composés issus des deux bibliothèques, accompagnée de leur spectre de masse respectif et d'un critère de qualité (exprimé en %). Ce dernier caractérise le taux de recouvrement du spectre proposé vis-à-vis du spectre à analyser (comparaison du spectre de l'inconnu avec ceux issus de la recherche). L'identification est alors entreprise en considérant les spectres de masse ainsi que leur coefficient de qualité respectif.

- L'approche semi-quantitative est basée sur l'hypothèse suivante : lorsque la détection est effectuée à l'aide d'un spectromètre de masse, les facteurs de réponse de deux composés proches chromatographiquement évoluent de la même manière. Un facteur de corrélation peut être appliqué afin de déterminer une valeur estimée de la quantité du composé inconnu à partir du composé connu le plus proche. Dans un premier temps, il faut choisir, parmi les composés connus, les références qui serviront à quantifier les inconnus (§ 3.1.). Ces composés connus doivent être présents dans l'échantillon afin de prendre en compte les variations liées au système chromatographique. Ils doivent aussi posséder une droite d'étalonnage. Nous avons choisi d'utiliser les étalons internes en tant que composés connus afin d'interférer le moins possible avec l'échantillon, tout en ayant la certitude de les trouver dans tous les échantillons analysés. De plus, cela permet de figer la méthode de détermination semi-quantitative, dans le sens où les composés sur lesquels sont basés les calculs de concentration demeurent inchangés d'un échantillon à l'autre.

Avant d'aborder plus en détail la méthode de balayage par spectrométrie de masse, nous allons définir ses paramètres d'acquisition.

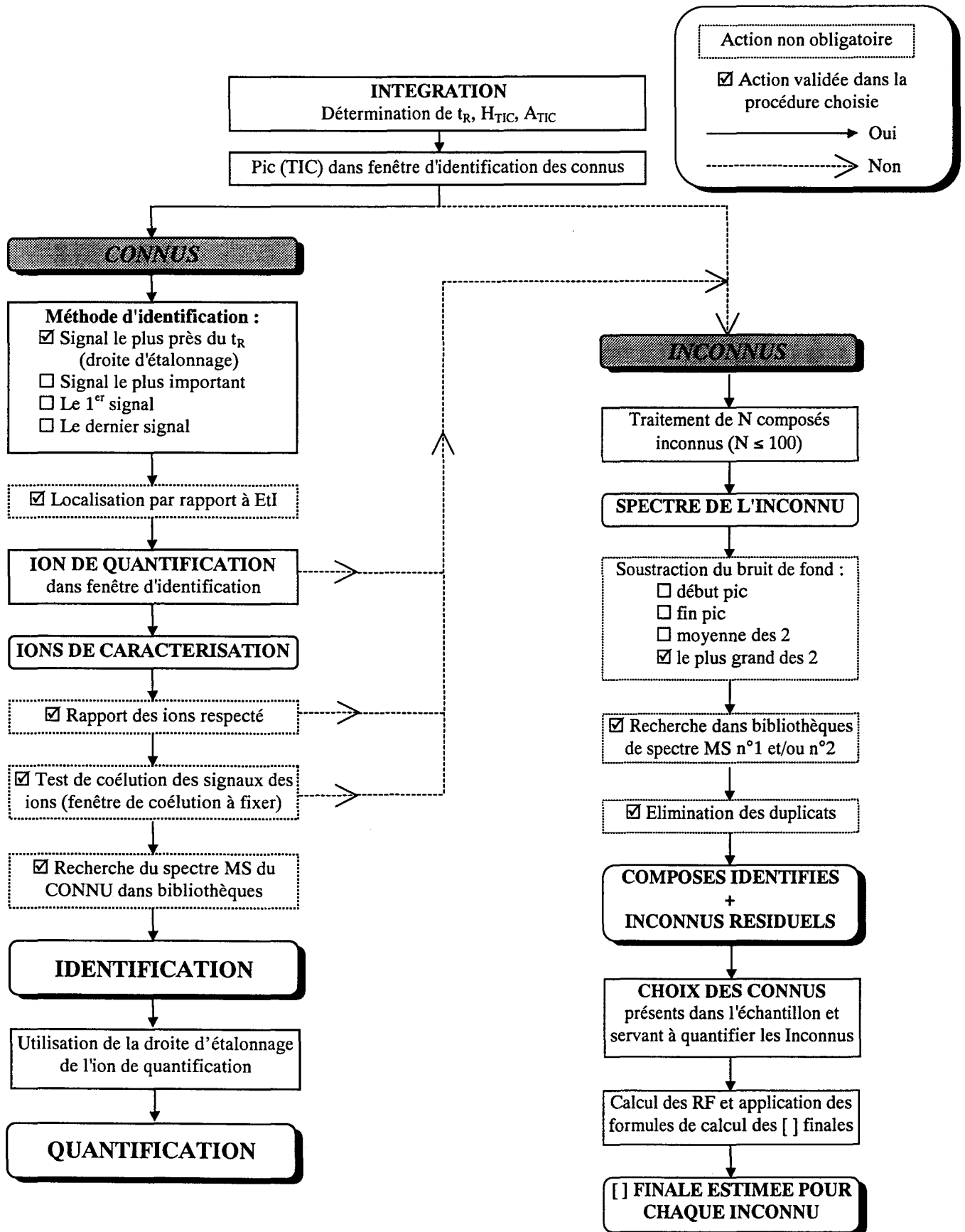


Figure 1 : Procédure de retraitement des signaux chromatographiques mise en œuvre dans l'analyse de balayage par spectrométrie de masse (RF : Facteur de réponse, [] : Concentration).

2. ETUDE DES PARAMETRES D'ACQUISITION

2.1. Influence du paramètre nombre de scan par seconde lors de l'acquisition en GC/MS ionisation par impact électronique en mode fullscan

La spectrométrie de masse est une méthode de détection qui repose sur la détermination des fragments ioniques issus de molécules ayant subi un bombardement d'électrons (ionisation par impact électronique ou EI). Le faible courant généré à la sortie du détecteur doit être amplifié et converti afin d'être exploitable. Le traitement du signal est généralement réalisé par informatique. Aussi, l'apport de l'électronique et de l'informatique est important fondamental dans la production et la gestion des données fournies par ce détecteur. Or la combinaison de ces deux technologies peut entraîner des limitations lors du traitement des données. Le paramétrage de l'acquisition ne doit pas être sous-estimé afin d'obtenir des pics chromatographiques et des spectres de masse de qualité, fidèles au signal réel délivré par l'instrument.

2.1.1. Problématique

Le trajet des ions à travers le quadripôle est conditionné par les champs électriques oscillatoires créés entre les barres du filtre de masse. A une valeur donnée de la différence de potentiel appliquée correspond un rapport masse sur charge (m/z) caractérisant la trajectoire d'un ion pouvant seul atteindre le multiplicateur d'électrons et donc être détecté. La variation de cette différence de potentiel (ou rampe de potentiels) permet de produire un spectre de masse [Evershed R.P., 1993].

Il existe deux modes d'acquisition en spectrométrie de masse EI :

- le mode fullscan (balayage complet) qui correspond à la détection de tous les ions inclus dans une plage de masses définie par l'analyste. L'avantage de ce procédé est de pouvoir obtenir un spectre de masse complet des molécules analysées et ainsi de réaliser une identification des composés et des comparaisons dans des bibliothèques de spectres.

- le mode SIM (selected ion monitoring) qui correspond à la détection d'ions de masses particulières et caractéristiques des molécules recherchées. Ce mode est sélectif car il faut connaître avant l'analyse, les molécules qui vont être déterminées. Toutefois, il offre l'avantage d'être plus sensible puisque seuls quelques ions spécifiques sont détectés. Cette manière d'opérer permet de diminuer d'une part, le bruit de fond par l'acquisition sélective de signaux spécifiques à l'analyte recherché et d'autre part, le nombre de potentiels appliqués en une rampe de potentiel permettant de renforcer le signal acquis. La variation du potentiel est en effet discontinue et plus rapide. De plus pour une durée donnée, le potentiel caractéristique d'un rapport m/z étant appliqué en nombre supérieur à celui du mode fullscan, le signal en est proportionnellement enrichi. Le nombre de scans. s^{-1} qui correspond au nombre de rampes de potentiels effectuées en une seconde, est plus élevé [Bruner F., 1993].

La méthode d'analyse par balayage ne permettant pas de définir par avance les composés à rechercher, le type d'acquisition qui s'impose est donc le mode fullscan.

Deux paramètres sont étudiés plus particulièrement avec ce mode d'acquisition :

- le domaine spectral des spectres de masse,
- le nombre de scans. s^{-1} .

2.1.2. Domaine spectral

En mode fullscan, le nombre de scan.s⁻¹ d'acquisition est lié à l'étendu du domaine spectral. En effet, une extension de ce domaine induit une longue rampe de potentiels et, par conséquent, une diminution du nombre de rampes applicables dans une durée donnée, autrement dit une réduction du nombre de scan.s⁻¹.

En spectrométrie de masse, les fragments de faible masse peuvent provenir d'un grand nombre de molécules, ils sont généralement peu sélectifs. Au contraire, le nombre de molécules produisant des fragments ioniques de masses élevées est plus restreint, ce qui réduit les erreurs d'identification dues à la présence d'interférents et améliore la sélectivité de l'analyse de reconnaissance.

De plus dans un couplage GC/MS, des ions de masses faibles sont continuellement produits générant ainsi un perpétuel bruit de fond (impuretés contenues dans gaz vecteur, système chromatographique, micro-fuites). La méthode analytique de balayage par spectrométrie de masse propose une approche semi-quantitative basée sur l'exploitation du courant d'ions total (TIC). Ce bruit de fond devient gênant lorsque les ions caractéristiques des composés, possèdent aussi des masses peu élevées. L'injection d'un solvant d'analyse couramment employé en chromatographie en phase gazeuse tel que le DCM, permet de mettre en évidence ce phénomène. La figure 2 présente le bruit de fond généré par trois masses relativement faibles : les ions de masse 44 amu produisent un bruit de fond à peu près égal à 2000 UA d'abondance (figure 2a); les ions 45 font chuter l'abondance aux alentours de 500 UA avec cependant quelques valeurs pouvant atteindre les 1000 UA (figure 2b), tandis que les ions 50 fournissent un bruit de fond encore plus bas que les ions 45 (figure 2c). Lorsque l'analyse est basée sur le TIC, la contribution des ions 44 dans le bruit de fond global est par conséquent considérable relativement aux deux autres ions.

Afin de limiter le bruit de fond, il est nécessaire de bien cibler le domaine spectral à appliquer à la méthodologie de balayage. En effet, toute la difficulté réside dans la définition de ces bornes inférieures et supérieures pour qu'elles soient suffisamment écartées pour englober la majorité des ions susceptibles de caractériser les micropolluants organiques rencontrés dans l'environnement.

Lors de l'analyse d'échantillons environnementaux, notamment les sols, les interférents de faibles masses sont présents en grand nombre, ce qui amplifie la gêne posées par le bruit de fond. Les bornes inférieures sont les plus problématiques en matière de bruit de fond puisque ce sont elles qui vont conditionner l'importance de ce dernier. Les figures 3 et 4 montrent les répercussions engendrées sur la qualité des chromatogrammes obtenus et soulignent l'intérêt de définir correctement les bornes inférieures.

De plus, la figure 4 présente des profils chromatographiques difficilement exploitables, ce qui traduit le manque de sélectivité des faibles masses pour la caractérisation des molécules analysées.

Dans un domaine spectral de masses comprises entre 30 et 250 amu, plus de 65 % du bruit de fond et généré par les fragments de masses comprises entre 30 et 44,99 amu (figure 5) et peut être éliminé en fixant la borne inférieure du domaine spectral à 45 amu.

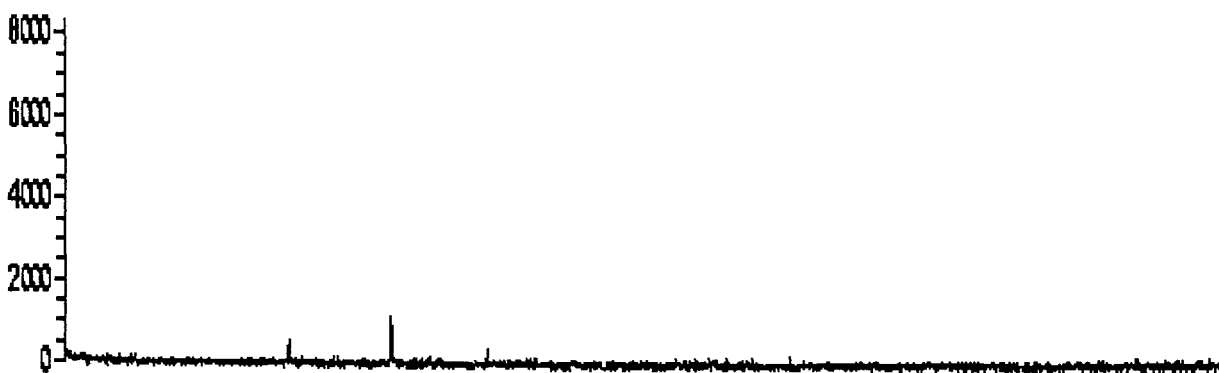
a) Ion 44.00 amu

Abundance



b) Ion 45.00 amu

Abundance



c) Ion 50.00 amu

Abundance

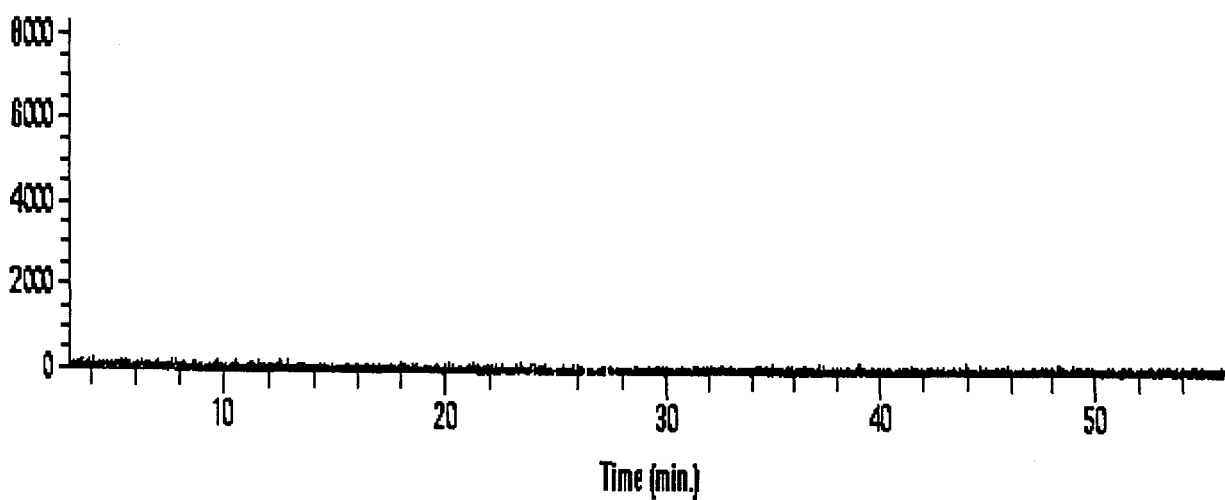


Figure 2 : Chromatogrammes obtenus après extraction des ions a) 44 amu; b) 45 amu et c) 50 amu d'un blanc d'injection (dichlorométhane).

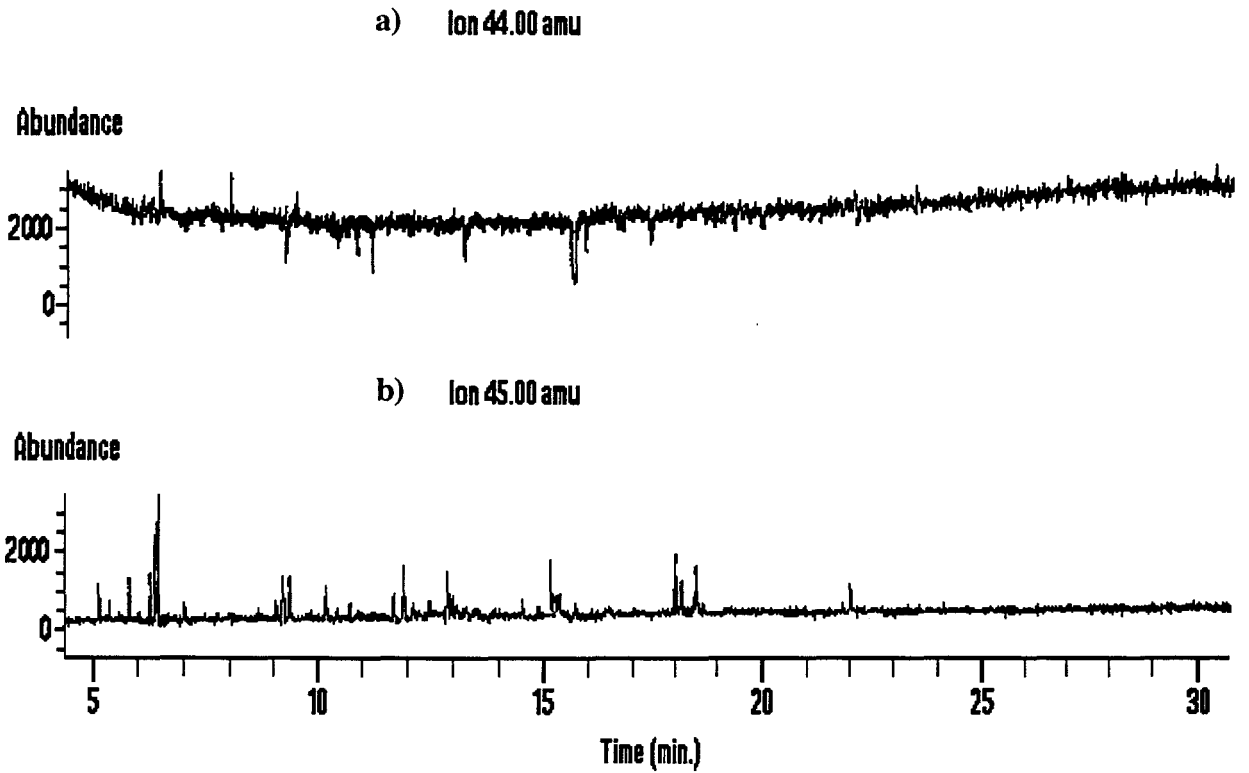


Figure 3 : Chromatogrammes obtenus après extraction des ions a) 44 amu et b) 45 amu pour un extrait d'un échantillon de sol réellement contaminé.

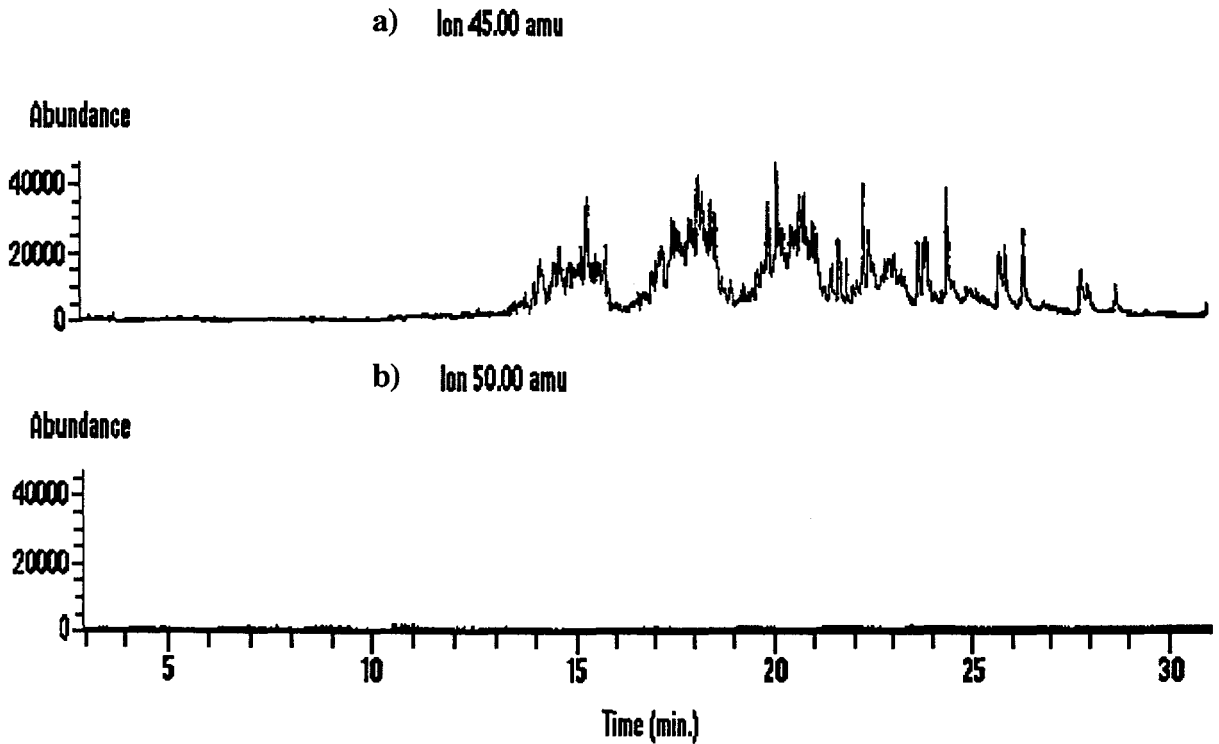


Figure 4 : Chromatogrammes obtenus après extraction des ions a) 45 amu et b) 50 amu pour un extrait d'un échantillon de sol réellement contaminé.

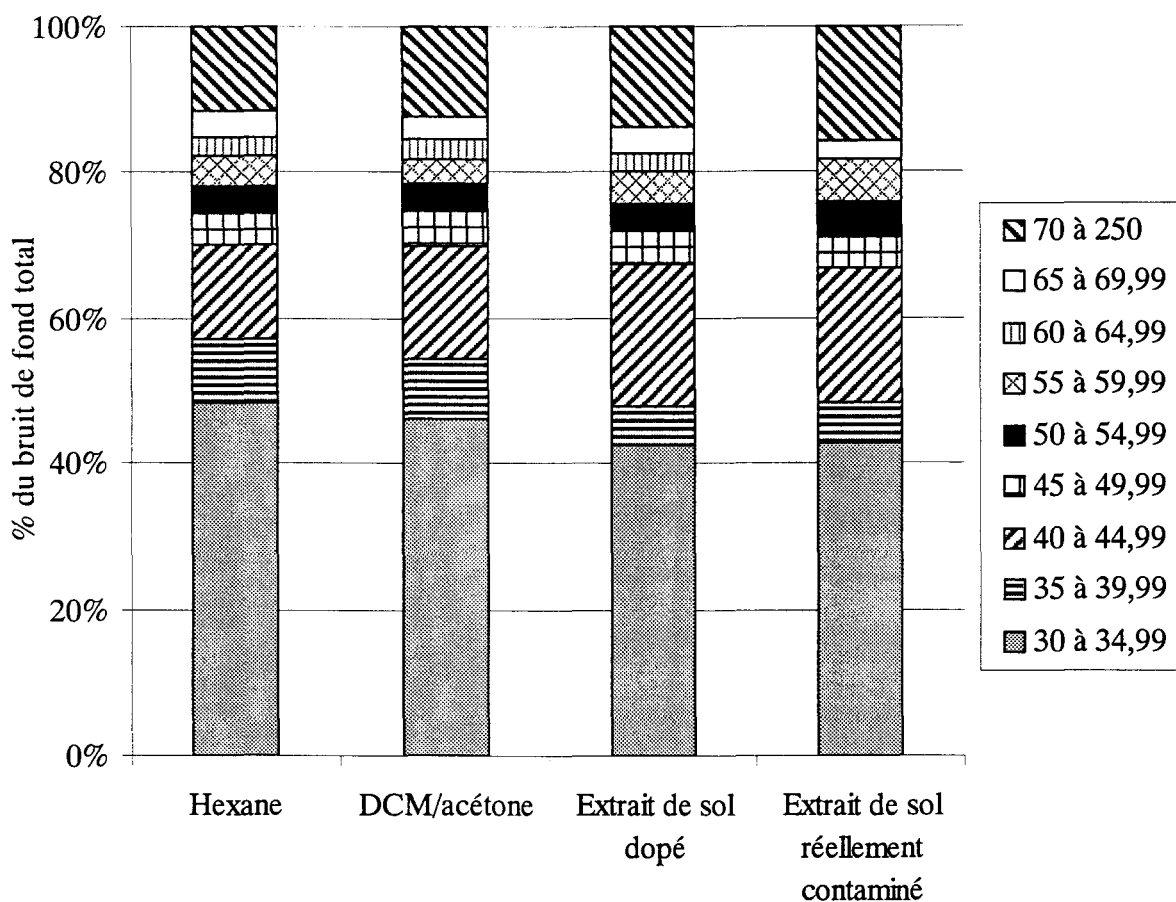


Figure 5 : Contribution au bruit de fond - répartition des masses (amu) dans le bruit de fond suite à l'injection de solvants ou d'extraits de sol.

2.1.3. Nombre de scan.s⁻¹

L'étude du paramètre nombre de scan.s⁻¹ est réalisée à partir de deux classes de composés possédant des propriétés physico-chimiques très différentes : les hydrocarbures aliphatiques et les chlorophénols. Ainsi, le paramétrage est éprouvé avec une large plage de polarité. L'étalonnage interne est utilisé afin de s'affranchir des variations liées à l'injection et à la détection (évolution du système chromatographique).

2.1.3.1. Hydrocarbures aliphatiques

Les hydrocarbures paraffiniques (HC) sont utilisés afin de limiter l'influence de la chimie des analytes vis à vis de la colonne chromatographique. Ces composés font partis d'une classe homogène. Ils ont été choisis au nombre de 5 de manière à ce qu'ils soient ni trop volatils, ni trop lourds et chimiquement proches : le dodécane (C12), le tridécane (C13), le tétradécane (C14), le pentadécane (C15) et l'hexadécane (C16).

Parmi ces 5 hydrocarbures aliphatiques, le C14 est choisi comme étalon interne car il est le composé central de la série. La répartition chromatographique est équilibrée autour de ce produit et la zone de correction des calculs par l'EtI se trouve limitée.

L'étude repose sur 7 répétitions par taux d'acquisition et 5 valeurs de taux d'acquisition : 1 scan.s⁻¹, 2 scan.s⁻¹, 3 scan.s⁻¹, 5 scan.s⁻¹ et 12 scan.s⁻¹. Les taux d'acquisition sont fixés en jouant d'une part, sur le domaine spectral qui doit contenir les ions nécessaires à l'analyse des composés cibles et d'autre part, sur le paramètre a/d. Ce paramètre exprime le nombre de mesures d'abondance de chaque masse présente dans le segment de masse choisi (facteur a/d). Il est calculé à partir d'une base log de 2 ($a/d = 2^n$ avec $n = 0, 1, 2, 3, \text{etc.}$). Lorsqu'il croît, le nombre de scan.s⁻¹ diminue pour un même domaine de masse. La moyenne des abondances issues des différentes mesures est ensuite calculée et fournit une unique valeur d'abondance.

Le tableau 1 regroupe les réponses relatives calculées en aire par rapport à l'étalon interne (RRA). Quel que soit le taux d'acquisition, les RSD associées aux RRA sont faibles. Elles varient de 0,8 % à 3,7 %. L'augmentation du nombre de scan.s⁻¹ entraîne globalement une réduction des dispersions de résultats. Un taux d'acquisition de 12 scan.s⁻¹ paraît être le meilleur choix.

Tableau 1 : Réponses relatives calculées en aire par rapport à l'étalon interne (RRA) pour les hydrocarbures aliphatiques (n=7).

Composé		C12	C13	C14 (EtI)	C15	C16
1 scan.s ⁻¹	RRA	1,01	0,93	1,00	0,88	0,83
	SD	0,04	0,01	-	0,03	0,02
	RSD (%)	3,7	1,5	-	3,4	2,8
2 scan.s ⁻¹	RRA	0,97	0,94	1,00	0,86	0,82
	SD	0,02	0,02	-	0,01	0,01
	RSD (%)	1,8	2,1	-	1,4	1,8
3 scan.s ⁻¹	RRA	0,98	0,94	1,00	0,87	0,83
	SD	0,02	0,02	-	0,02	0,01
	RSD (%)	2,3	2,1	-	2,3	1,6
5 scan.s ⁻¹	RRA	0,97	0,93	1,00	0,85	0,81
	SD	0,01	0,01	-	0,01	0,01
	RSD (%)	1,1	0,9	-	1,3	1,7
12 scan.s ⁻¹	RRA	0,97	0,93	1,00	0,86	0,83
	SD	0,01	0,01	-	0,01	0,01
	RSD (%)	1,4	0,8	-	0,8	1,1
Variation des RRA (%)		1,7	0,4	-	1,3	1,0

SD : écart-type (Standard Deviation).

Toutefois, il faut prendre en considération deux autres facteurs, en dehors de l'unique réponse chromatographique. Un nombre élevé de scan.s⁻¹ implique :

- des variations rapides de potentiel au moment de la détection. Or, ces dernières peuvent dégrader la fidélité de la mesure de l'abondance qui est essentielle pour la prise en compte des rapports massiques et isotopiques lors du processus d'identification [Chapman J.R., 1993].

- un domaine spectral réduit (§ 2.1.2.). Or, la méthode par balayage doit couvrir un domaine spectral important en fullscan afin d'obtenir des spectres de masse les plus complets possibles, en limitant le risque d'oublier une masse qui pourrait être caractéristique d'une molécule.

Considérant la nécessité d'acquérir des signaux décrivant au mieux la répartition massique des composés à identifier, nous choisirons un taux d'acquisition relativement faible.

D'autre part, la variation des RRA selon les taux d'acquisition est faible (comprise entre 0,4 % et 1,7 %). Ceci implique que le nombre de scan.s^{-1} a peu d'influence sur les réponses obtenues avec cette classe de composés.

2.1.3.2. Chlorophénols

La classe des chlorophénols a l'avantage de présenter une quantité suffisante de molécules dont le comportement chromatographique dépend fortement du nombre d'atomes de chlores substitués. Les facteurs de réponse et la formes des pics chromatographiques sont en relation directe avec la nature chimique de ces composés et peuvent influencer sur les résultats.

L'utilisation d'un nombre plus important de composés permet de prendre en compte la zone d'influence de l'étalon interne qui peut légèrement modifier les résultats obtenus.

Ainsi, l'évaluation du paramètre nombre de scan.s^{-1} est abordée en considérant un cas de figure délicat.

Une gamme comprenant 10 chlorophénols à une concentration de 10 mg.L^{-1} est acétylée (chapitre II § 3.5.). Le 2,4-dibromophénol est utilisé comme étalon interne.

Le nombre de répétitions réalisées est fixé à 7 et 4 valeurs de balayages sont choisies : 1 scan.s^{-1} , 2 scan.s^{-1} , 3 scan.s^{-1} et 5 scan.s^{-1} . Le taux d'acquisition de 12 scan.s^{-1} est abandonné suite aux remarques précédemment énoncées concernant la compatibilité avec le domaine spectral.

Les tableaux 2 et 3 indiquent les réponses relatives calculées par rapport à l'étalon interne à partir des aires (RRA) et des hauteurs (RRH), en fonction du nombre de scan.s^{-1} .

La variation des RRA en fonction des taux d'acquisition est plus importante avec les chlorophénols qu'avec les hydrocarbures aliphatiques. De plus, celle des RRH est plus élevée que celle des RRA.

Quel que soit le nombre de scan.s^{-1} , les calculs basés sur la hauteur du pic chromatographique engendrent une variation de résultats plus importante que ceux basés sur l'aire. De plus, il apparaît que les réponses relatives calculées à partir des hauteurs sont moins homogènes dans leur ensemble. Toutefois, mis à part le premier taux d'acquisition de 1 scan.s^{-1} , les hauteurs peuvent être utilisées de manière satisfaisantes pour les calculs car elles procurent de faibles RSD. La différence observée entre les calculs basés sur les aires et ceux basés sur les hauteurs, peut être en partie attribuée à l'acquisition et au traitement informatique des données.

Lors du traitement du signal, la forme du pic chromatographique est primordiale pour l'analyse quantitative. Elle est directement liée au nombre de points d'acquisition qui définissent le pic. Or ce nombre dépend du paramètre nombre de scan.s^{-1} puisque un scan fournit généralement un point d'acquisition. Ainsi, la forme des pics peut se trouver modifiée en fonction du nombre de scan.s^{-1} . Lorsque ce dernier paramètre augmente, le nombre de points d'acquisition évolue également dans le même sens et par conséquent, la définition du pic est améliorée.

Par ailleurs, le pic peut être tronqué si le nombre de points d'acquisition n'est pas suffisant. Cette troncature est le plus souvent observée au niveau des sommets des pics. Ces derniers nécessitent une définition plus précise et donc un nombre de points et un taux d'acquisition plus conséquents. De plus, un sommet de pic représente peu d'unités d'aire par rapport à la base du pic. Par conséquent, lors d'une troncature, le calcul de l'aire du pic sera moins altéré que celui de la hauteur. Ce phénomène peut être à l'origine des dispersions de résultats moins élevées observées pour les calculs en aire par rapport à celles obtenues pour les calculs basés sur la hauteur.

Ainsi, les effets des troncatures ont plus de probabilité de s'observer avec un nombre de scans.⁻¹ faible et des pics étroits.

La troncature de pic est un phénomène non prévisible. De plus, la forme du pic est caractéristique de chaque composé malgré une analyse à débit constant. Elle varie en fonction de l'analyte. Par conséquent, l'influence du nombre de scans.⁻¹ n'a pas les mêmes conséquences sur tous les signaux chromatographiques. Ceci explique la modification du ratio signal-composé sur signal-EtI, impliquant les variations des RRA.

Tableau 2 : Réponses relatives calculées en aire par rapport à l'étalon interne (RRA) pour les chlorophénols (n=7).

Composé		2-CP	3-CP	4-CP	4-Cl 3-MP	2,4- DCP	2,4,6- TCP	2,3,6- TCP	2,3,5- TCP	2,4- DBP (EtI)	2,3,4- TCP	PCP
1 scan.s ⁻¹	RRA	3,32	2,49	2,92	2,36	1,70	1,03	0,72	0,67	1,00	0,81	0,54
	SD	0,09	0,04	0,07	0,06	0,03	0,03	0,02	0,01	-	0,02	0,02
	RSD (%)	2,7	1,4	2,2	2,5	2,0	3,0	3,4	1,8	-	2,3	3,8
2 scan.s ⁻¹	RRA	3,32	2,51	2,98	2,49	1,72	1,03	0,76	0,71	1,00	0,87	0,55
	SD	0,10	0,05	0,04	0,06	0,03	0,02	0,01	0,01	-	0,01	0,02
	RSD (%)	2,9	2,1	1,4	2,6	1,6	1,9	1,4	2,1	-	1,5	4,4
3 scan.s ⁻¹	RRA	3,22	2,43	2,89	2,41	1,72	1,03	0,76	0,71	1,00	0,87	0,60
	SD	0,12	0,06	0,08	0,05	0,04	0,01	0,02	0,01	-	0,01	0,03
	RSD (%)	3,8	2,3	2,7	1,9	2,3	1,4	3,2	1,8	-	1,3	4,5
5 scan.s ⁻¹	RRA	3,02	2,29	2,70	2,27	1,65	0,99	0,73	0,68	1,00	0,84	0,56
	SD	0,11	0,07	0,09	0,08	0,03	0,02	0,01	0,01	-	0,01	0,04
	RSD (%)	3,5	3,2	3,4	3,5	1,7	1,8	1,4	1,8	-	1,6	7,1
Variation des RRA (%)		4,4	4,0	4,2	3,9	2,0	1,7	2,7	2,9	-	3,6	5,0

SD : écart-type (Standard Deviation), CP : Chlorophénol, MP : Méthylphénol, DCP : Dichlorophénol, TCP : Trichlorophénol, DBP : Dibromophénol, PCP : Pentachlorophénol.

Tableau 3 : Réponses relatives calculées en hauteur par rapport à l'étalon interne (RRH) pour les chlorophénols (n=7).

Composé		2-CP	3-CP	4-CP	4-Cl 3-MP	2,4- DCP	2,4,6- TCP	2,3,6- TCP	2,3,5- TCP	2,4- DBP (EtI)	2,3,4- TCP	PCP
1 scan.s ⁻¹	RRH	2,61	1,85	2,32	2,09	1,75	0,95	0,50	0,63	1,00	0,66	0,56
	SD	0,10	0,10	0,18	0,10	0,05	0,06	0,06	0,03	-	0,06	0,05
	RSD (%)	3,9	5,2	7,9	4,9	3,1	6,5	11,0	5,5	-	9,7	9,6
2 scan.s ⁻¹	RRH	2,66	2,37	2,61	2,45	1,70	1,07	0,80	0,71	1,00	0,90	0,61
	SD	0,12	0,12	0,11	0,15	0,07	0,04	0,03	0,03	-	0,06	0,03
	RSD (%)	4,3	5,0	4,1	6,3	3,9	3,8	4,1	4,5	-	6,8	4,8
3 scan.s ⁻¹	RRH	2,52	2,12	2,62	2,40	1,73	1,05	0,77	0,72	1,00	0,86	0,63
	SD	0,09	0,05	0,07	0,08	0,05	0,02	0,03	0,02	-	0,01	0,06
	RSD (%)	3,7	2,1	2,7	3,3	2,9	1,8	3,9	2,8	-	1,2	9,4
5 scan.s ⁻¹	RRH	2,35	1,99	2,33	2,23	1,61	0,99	0,74	0,68	1,00	0,82	0,57
	SD	0,10	0,08	0,05	0,10	0,05	0,03	0,02	0,03	-	0,02	0,04
	RSD (%)	4,4	4,1	2,3	4,7	3,2	2,6	2,8	4,0	-	2,5	7,4
Variation des RRH (%)		5,3	10,7	6,7	7,2	3,7	5,4	19,1	5,8	-	13,1	6,0

SD : écart-type (Standard Deviation), CP : Chlorophénol, MP : Méthylphénol, DCP : Dichlorophénol, TCP : Trichlorophénol, DBP : Dibromophénol, PCP : Pentachlorophénol.

L'évolution des dispersions de résultats en RRH en fonction du nombre croissant de points d'acquisition peut souligner ce phénomène de troncature. Ainsi, le 2,3,6-TCP, le 4-CP et le 2,3,4-TCP voient leur RSD chuter en même temps que le nombre de scan.s^{-1} s'élève.

Les RRA les plus élevées sont globalement obtenues pour un nombre de scan.s^{-1} égal à 2. De plus, avec ce réglage, la dispersion moyenne des résultats est la plus faible constatée.

Quel que soit le chlorophénol considéré, le nombre de scan.s^{-1} doit être fixé entre 2 et 3 pour que les RRH soient les plus élevées. Ce qui semble être un compromis satisfaisant entre une réponse maximale et une RSD réduite.

2.1.4. Conclusion

Les paramètres d'acquisition chromatographiques conditionnent la qualité des spectres de masse obtenus. Cette dernière influence directement le processus d'identification des composés inconnus. La méthode de balayage par spectrométrie de masse nécessite un réglage strict à ce niveau.

De fortes dispersions de résultats peuvent être dues à la contribution de plusieurs facteurs tels que la troncature de pic, la variation de la forme du pic liée aux interactions entre le soluté, les phases stationnaire et mobile (chimie de la colonne).

Pour être efficace, l'acquisition doit tenir compte du domaine spectral et du taux d'acquisition ainsi que de leur interaction. Afin de limiter le bruit de fond et la dispersion des réponses chromatographiques obtenues, l'acquisition se déroule en deux étapes :

- de 4 minutes à 15 minutes : le domaine spectral est limité de 45 à 250 (m/z), ce qui permet d'obtenir un nombre de scan.s^{-1} égal à 2,37 avec $a/d = 4$.

- de 15 minutes à 60 minutes : le domaine spectral est limité de 50 à 400 (m/z), ce qui fixe le nombre de scan.s^{-1} à 2,71 pour $a/d = 2$.

Un compromis a donc été choisi afin d'obtenir des taux d'acquisition compris entre 2 et 3, tout en ayant un domaine spectral suffisamment large pour englober le maximum de masses.

L'acquisition des données ne commence qu'après 4 minutes afin de prolonger la durée de vie du détecteur (notamment du multiplicateur d'électrons), en laissant passer le pic solvant.

2.2. Conditions chromatographiques

Une programmation de température linéaire est préférentiellement choisie à une programmation multilinéaire pour des raisons liées à l'approche semi-quantitative. En effet, le composé servant à quantifier un inconnu doit être soumis à la même inclinaison de rampe de température que l'inconnu lui-même, pour que tous les composés subissent les mêmes variations chromatographiques (régissant leur comportement).

Par ailleurs, la vitesse de montée en température doit être suffisamment faible pour limiter le nombre de coélution mais assez rapide pour réduire la durée d'analyse. Un compromis a donc été fait en optant pour une rampe de température de $5\text{ }^{\circ}\text{C.min}^{-1}$.

Les conditions chromatographiques complètes sont décrites dans le tableau 21 (§ 5.).

3. EVALUATION DE L'ANALYSE QUALITATIVE ET SEMI-QUANTITATIVE

3.1. Choix des étalons internes

Le choix des étalons internes est capital car une partie de l'approche qualitative et toute l'approche semi-quantitative de la méthode de balayage par spectrométrie de masse repose sur leur utilisation. Ils doivent répondre aux critères suivants :

- ne pas se trouver dans les matrices environnementales (comme tout étalon interne). L'emploi de composés deutérés constitue par définition la meilleure réponse au respect de ce critère.

- être en nombre suffisant pour une répartition homogène tout au long de l'analyse chromatographique. Ceci afin de limiter leur zone d'influence. De plus, ils doivent être représentatifs, en termes de comportement pré-analytique (notamment lors de la concentration de l'extrait) et chromatographique, des molécules présentant des temps de rétention proches des leur. En effet, ils doivent servir à quantifier les composés inconnus qui les entourent. La correction des résultats par un étalon interne est plus satisfaisante autour de celui-ci. Toutefois, il ne faut pas exagérer leur nombre pour limiter le risque de masquer des analytes inconnus.

- posséder des ions caractéristiques.

- être d'un prix raisonnable afin de contrôler les coûts analytiques.

Les hydrocarbures aliphatiques deutérés ont été choisis pour leurs caractéristiques physico-chimiques peu différenciées vis à vis de la colonne chromatographique (phase et solutés apolaires) et leur appartenance à une classe homogène de composés. De plus, ces analytes possèdent un spectre de masse facilement reconnaissable : ion 66 amu avec un profil de spectre caractéristique (annexe 2).

Tableau 4 : Critères pour le choix des étalons internes deutérés.

Composé	t_R approximatif (min.) [*]	Prix (F.g ⁻¹)	Conditionnement
Décane deutéré (D22)	9	1 100	1 g
Dodécane deutéré (D26)	14	1 200	1 g
Tétradécane deutéré (D30)	20	1 600	1 g
Eicosane deutéré (D42)	33	3 000	0,5 g
Tétracosane deutéré (D50)	40	3 200	0,5 g
Tricontane deutéré (D62)	48	6 400	0,5 g
Pérylène-d12	47	8 000	0,1 g

^{*} obtenus dans les conditions chromatographiques cités dans le tableau 21.

Les hydrocarbures aliphatiques deutérés, cités dans le tableau 4, présentent une répartition chromatographique relativement régulière. Toutefois, le pérylène-d12 est préférentiellement utilisé au tricontane deutéré essentiellement pour trois raisons :

- il présente un temps de rétention proche de celui du tricontane deutéré.

- dans la zone de température couverte par ces deux composés (environ de 255 °C à 290 °C) et à ces temps de rétention, les composés susceptibles d'être rencontrés sont des analytes lourds, comprenant des cycles aromatiques (HPA, PCB, etc.). Par conséquent, le pérylène-d12 se rapproche davantage de cette description. Il est donc le mieux adapté.

- même si le prix au gramme est plus élevé pour le pérylène-d12, l'investissement initial est moins élevé. Il est préférable d'acheter de faibles quantités compte tenu des dates limites d'utilisation des produits. D'autant plus que les quantités des étalons internes nécessaires pour réaliser une solution mère sont très faibles. Le pérylène-d12 est donc préférable d'un point de vue économique.

3.2. Limites d'identification

L'identification d'un composé étant basée sur son spectre de masse, il est intéressant de définir une limite d'identification. Cette valeur correspond à la quantité minimale injectée fournissant une qualité de spectre supérieure ou égale à 85 %. La diminution de la qualité d'un spectre a plusieurs origines qui peuvent se combiner :

- certaines masses caractéristiques du composé peuvent ne pas être présentes dans le spectre,
- d'autres sont mélangées avec celles issues du bruit de fond,
- les rapports massiques et isotopiques peuvent ne plus être respectés.

Tous ces facteurs dépendent des quantités de composé . La dégradation notable de la qualité du spectre qui en découle, entraîne un risque de dérive lors de l'identification. Ces phénomènes sont liés au système chromatographique et plus particulièrement au détecteur car sa sensibilité régit et conditionne ces limites d'identification.

L'évaluation des limites d'identification est réalisée sur 64 composés répartis en 4 familles : HC, HPA, PCB, et Phénols. Elles incluent les analytes les plus souvent rencontrés lors d'analyses de sols pollués. La méthode de balayage est appliquée sur différents points de gamme injectés (tableau 5).

L'emploi des temps de rétention (comparaison par rapport à une gamme), couplé à l'exploitation des ions spécifiques (rapports massiques et isotopiques) suffit à apporter un élément de confirmation lors des démarches d'identification généralement adoptées en spectrométrie de masse. Or ici, seule la qualité du spectre de masse a été prise en compte, en dehors de toute autre considération. Ceci afin de se placer dans les conditions réelles d'utilisation de la méthode de balayage.

Tableau 5 : Limites d'identification (LI) de 64 composés répartis en 4 familles et obtenues dans les conditions précédemment décrites (§ 5. tableau 21).

	23 HC	LI (ng)*	Qualité (%)
C10		0,5	94
C11		0,5	90
C12		0,5	94
C13		0,5	93
C14		0,5	93
C15		1,0	86
C16		0,5	87
C17		1,0	94
Pristane		0,5	91
C18		1,0	94
Phytane		0,5	87
C19		1,0	97
C20		1,0	98
C21		1,0	91
C22		2,5	98
C23		2,5	96
C24		2,5	98

C25	2,5	91
C26	2,5	87
C27	2,5	85
C28	5,0	93
C29	5,0	91
C30	5,0	85
<hr/>		
16 HPA	LI (ng)*	Qualité (%)
Naphtalène	0,1	87
Acénaphthylène	0,5	90
Acénaphène	0,5	94
Fluorène	0,5	91
Phénanthrène	0,1	87
Anthracène	0,5	94
Fluoranthène	1,0	93
Pyrène	0,5	90
Benz(a)Anthracène	2,4	96
Chrysène	1,0	91
Benzo(b)Fluoranthène	2,4	94
Benzo(k)Fluoranthène	2,4	97
Benzo(a)Pyrène	2,4	94
Indeno(1,2,3-c,d)Pyrène	2,4	87
Dibenz(a,h)Anthracène	2,4	93
Benzo(ghi)Pérylène	2,4	90
<hr/>		
12 PCB	LI (ng)*	Qualité (%)
PCB 28/31 (2,4,4'/2,4,5')	0,5	90
PCB 52 (2,2',5,5')	0,5	95
PCB 101 (2,2',4,5,5')	0,5	95
PCB 77 (3,3',4,4')	0,5	85
PCB 118 (2,3',4,4',5)	0,3	87
PCB 153 (2,2',4,4',5,5')	1,0	99
PCB 105 (2,3,3',4,4')	0,5	96
PCB 138 (2,2',3,4,4',5')	1,5	91
PCB 126 (3,3',4,4',5)	1,0	94
PCB 156 (2,3,3',4,4',5)	1,5	95
PCB 180 (2,2',3,4,4',5,5')	4,0	93
PCB 169 (3,3',4,4',5,5')	1,0	93
<hr/>		
13 Phénols acétylés	LI (ng)*	Qualité (%)
Phénol	0,6	87
o-Crésol	3,0	90
m-Crésol	1,5	91
p-Crésol	1,5	87
2-Chlorophénol	0,6	87
2,4-Diméthylphénol	3,0	85
2,6-Dichlorophénol	1,5	96
4-Chloro-3-Méthylphénol	3,0	87
2,4-Dichlorophénol	1,5	90
2-Nitrophénol	4,8	85
2,4,5-Trichlorophénol	0,6	87
2,3,4,6-Tétrachlorophénol	1,5	93
Pentachlorophénol	3,0	90

* quantité déterminée pour 1 μ L injecté.

Les LI varient de 0,1 à 7,5 ng injectés. Elles sont toutes supérieures aux limites de détection en TIC. Elles constituent les seuils de la méthode étudiée. Les composés de poids moléculaire élevé présentent des LI plus importantes que les composés légers.

Actuellement, aucune liste française de seuils fixe les concentrations maximales (en mg.kg⁻¹ de terre) pour les micropolluants organiques. De plus, il est souvent délicat de déterminer les valeurs de référence à ne pas dépasser. Celles-ci sont établies en considérant deux fois le bruit de fond géochimique local. Aussi, les listes de seuils établies au niveau néerlandais, sont généralement prises comme valeurs références d'intervention pour la dépollution des sols [Detannenber, 1996]. Nous constatons que les LI déterminées sont en dessous de ces seuils (tableau 6). Elles sont suffisamment faibles pour permettre d'identifier les composés à l'origine de la contamination d'un sol.

Tableau 6 : Seuils néerlandais et de la méthode de balayage par spectrométrie de masse (exprimés en mg.kg⁻¹ de matière sèche).

Composé	Seuil de la méthode*	Seuil Néerlandais ⁺
Benzène	-	1
Toluène	-	130
Xylène	-	25
Chlorobenzènes	-	30
HPA	4,3 (16)	40
Huile minérale	8,5 (23)	5 000
Organochlorés	-	9
PCB	≤ 0,8	1
Phénol	0,12	40
Crésols	1,2 (3)	5
Chlorophénols	2,3 (7)	10
PCP	0,6	5
Pesticides	-	4
Phtalates	-	60

* prise d'essai de 5 g, le nombre de composés pris en compte pour le calcul est indiqué entre parenthèses.

⁺ d'après [Detannenber, 1996].

3.3. Evolution des temps de rétention relatifs (éléments complémentaires d'aide à l'identification)

L'apport de la spectrométrie de masse en chromatographie est indéniable. L'identification en a plus particulièrement bénéficié. Cependant, l'assurance de l'identité d'un composé n'est pas certainement acquise. C'est pourquoi l'utilisation d'un élément complémentaire permet d'appuyer le bien fondé de l'identification basée sur les spectres de masse.

Il existe des grandeurs de rétention relatives pour l'identification des pics chromatographiques tels que les indices de rétention de Kováts (I_p). Ces derniers peuvent être utilisés dans le cas de la programmation de température :

$$I_p = 100 \frac{T_{R(i)} - T_{R(Pz)}}{T_{R(Pz+1)} - T_{R(Pz)}} + 100 z \quad (1)$$

avec $T_{R(i)}$: température de sortie du soluté i,

Pz : hydrocarbure paraffinique (n-alcane) à z atomes de carbone dont le pic sort immédiatement avant celui du soluté,

Pz+1 : hydrocarbure paraffinique (n-alcane) dont le pic sort immédiatement après celui du soluté et constitué de z+1 atomes de carbone.

Il faut toutefois remarquer que la précision des résultats issus de l'équation 1 est moins bonne que celle obtenue lors d'une analyse isotherme et isobare [Tranchant J., 1982].

Pour le calcul de I_p , l'injection d'une gamme de référence constituée d'hydrocarbures paraffiniques est nécessaire. Ce procédé est mal adapté à la méthodologie de balayage. En effet :

- l'analyse de la gamme de référence doit précéder l'analyse de l'extrait ce qui n'est pas concevable lorsque la séquence d'injection contient un nombre élevé d'extraits.

- chaque injection de la gamme de référence rallonge de plus d'une heure la séquence d'analyse qui est généralement déjà longue du fait de la présence de blancs d'injection, de blancs d'extraction et de points de gamme.

- il est souhaitable de mélanger la gamme à l'extrait, ce qui n'est pas conseillé dans notre cas car cela surchargerait le chromatogramme qui contient déjà les étalons internes.

- les calculs des températures de sortie et de I_p pour chaque composé identifié dans un extrait, entraînent une lourdeur dans l'analyse qui est d'autant plus superflue que ces grandeurs sont uniquement recherchées pour corroborer les résultats issus de l'analyse des spectres de masse.

Par conséquent, le calcul de ces grandeurs doit être relativement rapide et aisé, tout en offrant un complément d'information suffisamment précis.

Nous avons choisi d'employer les temps de rétention relatifs (t_{RR}). Ces derniers sont calculés en prenant les étalons internes comme référence et pour des conditions chromatographiques fixées. Une comparaison est alors envisageable entre les t_{RR} des composés identifiés par les spectres de masse et ceux répertoriés dans des tables de composés. Ainsi, un recoupement est fait afin de vérifier si l'identification est plausible (t_{RR} trouvé dans la zone du t_{RR} issu des tables).

La démarche adoptée est la suivante :

- les t_R des étalons internes et des composés sont consignés,
- pour chaque EtI, la différence entre son t_R et celui de chaque composé est calculée,
- la plus faible différence en valeur absolue permet de déterminer quel EtI va servir à quantifier chaque composé inconnu. Ainsi, l'EtI le plus proche du composé inconnu sera utilisé.

Ces deux premières étapes sont aussi nécessaires pour l'approche semi-quantitative. Par conséquent, elles ne rallongent en rien la procédure globale.

Par la suite, pour chaque composé :

- le temps de rétention relatif de l'EtI choisi précédemment (t_{REI}) est défalqué à celui répertorié dans les tables. Ainsi, la dérive des t_R liée à l'évolution du système chromatographique est prise en compte :

$$\Delta t_R = t_{RTable} - t_{REI} \quad (2)$$

- cet écart de temps est ajouté au t_R du composé (t_{Rx}), ce qui fournit un t_R estimé ($t_{REstim.}$) :

$$t_{REstim.} = t_{Rx} + \Delta t_R \quad (3)$$

- le t_{RR} est alors calculé par la formule :

$$t_{RR} = \frac{t_{REstim.}}{t_{REtI}} \quad (4)$$

- le t_{RR} ainsi calculé peut alors être comparé à celui des tables.

Afin d'évaluer la capacité des t_{RR} à caractériser un composé, des colonnes possédant les mêmes caractéristiques physico-chimiques (longueur, épaisseur du film, nature de la phase greffée, etc.) ont été testées :

- deux marques différentes de colonne (DB™ 5 - J&W Scientific / Econo-Cap™ EC-5 - Alltech),
- deux colonnes de même marque : l'une neuve et l'autre présentant de nombreuses injections (plusieurs mois d'utilisation en routine).

Les variations des t_{RR} observées entre les deux colonnes de marques différentes (tableaux 7 et 8) sont calculées en appliquant la démarche définie précédemment (équations 2 à 4). Pour chaque EtI, le $t_{REstim.}$ et le t_{RR} de l'analyte considéré sont calculés, puis les t_{RR} sont comparés avec ceux issus des tables (tableaux 11 et 13). Ainsi, il apparaît que le choix de l'EtI le plus proche (en grisé) correspond généralement aux plus faibles variations de t_{RR} (dans une même ligne). Dans ce cas précis, les variations sont inférieures ou égales à 0,6 % quel que soit le composé étudié. De plus, l'utilisation de composés appartenant à deux familles et présentant des caractéristiques différentes (polarité, volatilité, t_R , etc.) met en évidence des écarts de résultats peu significatifs.

Nous opérons de manière identique pour les deux colonnes de même marque. Les variations des t_{RR} sont inférieures à 0,5 % en choisissant l'EtI le plus près et elles demeurent inférieures à 1 % quel que soit l'étalon interne considéré (tableau 9).

Tableau 7 : Variation des t_{RR} (%) entre deux colonnes de marques différentes et calculés pour 13 phénols et les 6 étalons internes.

Composé	D22	D26	D30	D42	D50	Pérylène-d12
Phénol	0,3	1,5	1,9	2,9	3,6	3,1
o-Crésol	1,1	0,4	0,7	1,5	2,1	1,7
m-Crésol	1,2	0,3	0,5	1,3	1,9	1,5
p-Crésol	1,2	0,3	0,5	1,3	1,8	1,5
2-Chlorophénol	1,0	0,4	0,6	1,3	1,8	1,5
2,4-Diméthylphénol	1,0	0,2	0,5	1,1	1,6	1,3
2,6-Dichlorophénol	0,9	0,3	0,4	1,0	1,4	1,2
4-Chloro-3-Méthylphénol	1,0	0,2	0,3	0,9	1,3	1,0
2,4-Dichlorophénol	1,0	0,2	0,3	0,9	1,3	1,0
4-Nitrophénol	0,9	0,2	0,3	0,9	1,2	1,0
2,4,5-Trichlorophénol	1,1	0,1	0,0	0,5	0,8	0,6
2,3,4,6-Tétrachlorophénol	1,0	0,1	0,0	0,4	0,7	0,5
Pentachlorophénol	1,0	0,2	0,1	0,2	0,5	0,3

Tableau 8 : Variation des t_{RR} (%) entre deux colonnes de marques différentes et calculés pour 16 HAP et les 6 étalons internes.

Composé	D22	D26	D30	D42	D50	Pérylène-d12
Naphtalène	0,6	0,6	1,0	1,9	2,5	2,1
Acénaphthylène	0,8	0,0	0,3	0,9	1,3	1,0
Acénaphène	0,8	0,1	0,2	0,8	1,1	0,9
Fluorène	0,9	0,2	0,0	0,6	0,9	0,6
Phénanthrène	0,8	0,3	0,1	0,4	0,6	0,4
Anthracène	0,9	0,3	0,1	0,3	0,6	0,4
Fluoranthène	0,8	0,4	0,2	0,2	0,4	0,2
Pyrène	0,8	0,4	0,2	0,2	0,4	0,2
Benz(a)Anthracène	0,8	0,4	0,3	0,0	0,2	0,1
Chrysène	0,8	0,4	0,2	0,1	0,3	0,1
Benzo(b)Fluoranthène	0,8	0,5	0,3	0,1	0,1	0,0
Benzo(k)Fluoranthène	0,8	0,4	0,3	0,1	0,1	0,0
Benzo(a)Pyrène	0,8	0,5	0,3	0,1	0,1	0,0
Indeno(1,2,3-c,d)Pyrène	0,8	0,5	0,4	0,1	0,0	0,1
Dibenz(a,h)Anthracène	0,8	0,5	0,4	0,1	0,0	0,1
Benzo(ghi)Pérylène	0,8	0,5	0,4	0,1	0,0	0,1

Tableau 9 : Variation des t_{RR} (%) entre deux colonnes de même marques mais présentant un vieillissement différent.

Composé	D22	D26	D30	D42	D50	Pérylène-d12
Naphtalène	0,7	0,2	0,1	0,2	0,4	0,6
Acénaphthylène	0,7	0,4	0,2	0,1	0,0	0,1
Acénaphène	0,8	0,5	0,3	0,2	0,1	0,0
Fluorène	0,8	0,5	0,3	0,2	0,1	0,0
Phénanthrène	0,8	0,5	0,3	0,3	0,2	0,1
Anthracène	0,8	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1
Fluoranthène	0,7	0,5	0,4	0,3	0,3	0,2
Pyrène	0,7	0,5	0,4	0,3	0,3	0,2
Benz(a)Anthracène	0,6	0,5	0,4	0,3	0,3	0,2
Chrysène	0,7	0,5	0,4	0,3	0,3	0,2
Benzo(b)Fluoranthène	0,6	0,5	0,4	0,4	0,3	0,2
Benzo(k)Fluoranthène	0,6	0,5	0,4	0,4	0,3	0,2
Benzo(a)Pyrène	0,7	0,5	0,4	0,4	0,3	0,3
Indeno(1,2,3-c,d)Pyrène	0,6	0,5	0,4	0,4	0,3	0,3
Dibenz(a,h)Anthracène	0,6	0,4	0,4	0,3	0,3	0,2
Benzo(ghi)Pérylène	0,7	0,5	0,4	0,4	0,4	0,3

Il apparaît que des domaines de t_{RR} peuvent être définis autour du t_{RR} trouvé pour chaque composé avec un risque d'erreur minime. Une variation maximale de 1 % peut être considérée.

Le calcul des t_{RR} des composés identifiés permet donc de conforter les résultats issus de la comparaisons des spectres de masse en les comparant avec ceux établis lors de l'injection de

points de gammes. Ces valeurs sont répertoriés dans les tableaux 10 à 13 et concernent 64 composés groupés en 4 classes de composés : les hydrocarbures aliphatiques saturés (décane (C10), undécane (C11), dodécane (C12), etc.), les HPA, les PCB et les phénols acétylés.

Tableau 10 : Temps de rétention relatifs (t_{RR}) de 23 hydrocarbures aliphatiques saturés (n-alcanes) obtenus dans les conditions chromatographiques décrites dans le tableau 21.

	t_R (min.)	t_{RR}	Étalon interne	Ion de quantification	Ions de caractérisation
C10	9,161	1,044	D22	57	71/142
C11	11,982	0,836	D26	57	71/156
C12	14,823	1,034	D26	57	71/170
C13	17,548	0,895	D30	57	71/184
C14	20,141	1,027	D30	57	71/198
C15	22,608	1,153	D30	57	71/212
C16	24,928	1,272	D30	57	71/226
C17	27,141	0,833	D42	57	71/240
Pristane	27,306	0,838	D42	57	71/183
C18	29,246	0,898	D42	57	71/254
Phytane	29,470	0,905	D42	57	71/183
C19	31,264	0,960	D42	57	71/268
C20	33,175	1,018	D42	57	71/282
C21	35,027	1,075	D42	57	71/296
C22	36,781	0,932	D50	57	71//310
C23	38,477	0,975	D50	57	71/324
C24	40,106	1,016	D50	57	71/338
C25	41,665	1,056	D50	57	71/352
C26	43,176	0,921	Pérylène-d12	57	71/366
C27	44,629	0,952	Pérylène-d12	57	71/380
C28	46,032	0,982	Pérylène-d12	57	71/394
C29	47,387	1,011	Pérylène-d12	57	71/408
C30	48,703	1,039	Pérylène-d12	57	71/422
D22	8,772	-	-	66	50/98/164
D26	14,329	-	-	66	50/98/196
D30	19,605	-	-	66	82/98/228
D42	32,580	-	-	66	82/98/324
D50	39,472	-	-	66	82/98/388
Pérylène-d12	46,861	-	-	264	132/232/260

Tableau 11 : Temps de rétention relatifs (t_{RR}) de 16 HAP obtenus dans les conditions chromatographiques décrites dans le tableau 21.

	t_R (min.)	t_{RR}	Etalon interne	Ion de quantification	Ions de caractérisation
Naphtalène	14,179	0,990	D26	128	127
Acénaphthylène	21,149	1,078	D30	152	151
Acénaphthène	22,045	1,124	D30	154	153
Fluorène	24,376	1,243	D30	166	165
Phénanthrène	28,656	0,879	D42	178	179
Anthracène	28,870	0,885	D42	178	89
Fluoranthène	34,125	1,047	D42	202	101/88
Pyrène	35,061	1,075	D42	202	101/88
Benz(a)anthracène	40,736	1,031	D50	228	113
Chrysène	40,901	1,035	D50	228	113
Benzo(b)fluoranthène	45,425	0,969	Pérylène-d12	252	126
Benzo(k)fluoranthène	45,525	0,971	Pérylène-d12	252	126
Benzo(a)pyrène	46,634	0,995	Pérylène-d12	252	126
Indeno(1,2,3-c,d)pyrène	50,729	1,082	Pérylène-d12	276	138
Dibenz(a,h)anthracène	50,905	1,086	Pérylène-d12	278	139
Benzo(ghi)pérylène	51,539	1,099	Pérylène-d12	276	138
D22	8,773	-	-	66	50/98/164
D26	14,322	-	-	66	50/98/196
D30	19,618	-	-	66	82/98/228
D42	32,604	-	-	66	82/98/324
D50	39,507	-	-	66	82/98/388
Pérylène-d12	46,878	-	-	264	132/232/260

Tableau 12 : Temps de rétention relatifs (t_{RR}) de 12 PCB obtenus dans les conditions chromatographiques décrites dans le tableau 21.

	t_R (min.)	t_{RR}	Etalon interne	Ion de quantification	Ions de caractérisation
PCB 28/31 (2,4,4'/2,4,5')	29,715	0,937	D42	256	258/186
PCB 52 (2,2',5,5')	31,090	0,981	D42	292	290/220
PCB 101 (2,2',4,5,5')	34,366	1,084	D42	326	328/254
PCB 77 (3,3',4,4')	35,653	0,924	D50	292	290/220
PCB 118 (2,3',4,4',5)	36,618	0,949	D50	326	328/254
PCB 153 (2,2',4,4',5,5')	37,447	0,970	D50	360	362/290
PCB 105 (2,3,3',4,4')	37,534	0,973	D50	326	328/254
PCB 138 (2,2',3,4,4',5')	38,402	0,995	D50	360	362/290
PCB 126 (3,3',4,4',5)	38,705	1,003	D50	326	328/254
PCB 156 (2,3,3',4,4',5)	40,177	1,041	D50	360	362/290
PCB 180 (2,2',3,4,4',5,5')	40,791	1,057	D50	394	396/324
PCB 169 (3,3',4,4',5,5')	41,483	1,075	D50	360	362/290
D22	8,023	-	-	66	50/98/164
D26	13,485	-	-	66	50/98/196
D30	18,748	-	-	66	82/98/228
D42	31,704	-	-	66	82/98/324
D50	38,587	-	-	66	82/98/388
Pérylène-d12	47,818	-	-	264	132/232/260

Tableau 13 : Temps de rétention relatifs (t_{RR}) de 13 phénols acétylés obtenus dans les conditions chromatographiques décrites dans le tableau 21.

	t_R (min.)	t_{RR}	Étalon interne	Ion de quantification	Ions de caractérisation
Phénol	10,797	1,231	D22	94	136
o-Crésol	12,944	0,904	D26	108	107
m-Crésol	13,713	0,957	D26	108	107
p-Crésol	13,856	0,967	D26	108	107
2-Chlorophénol	14,759	1,031	D26	128	128-130
2,4-Diméthylphénol	15,913	1,111	D26	122	107
2,6-Dichlorophénol	18,117	0,923	D30	162	164
4-Chloro-3-Méthylphénol	18,448	0,940	D30	142	107
2,4-Dichlorophénol	18,692	0,953	D30	162	164
2-Nitrophénol	19,803	1,009	D30	139	62-66
2,4,5-Trichlorophénol	22,611	1,153	D30	196	198
2,3,4,6-Tétrachlorophénol	25,575	1,304	D30	230	230-234
Pentachlorophénol	29,504	0,905	D42	264	264-270
D22	8,773	-	-	66	50/98/164
D26	14,322	-	-	66	50/98/196
D30	19,618	-	-	66	82/98/228
D42	32,604	-	-	66	82/98/324
D50	39,497	-	-	66	82/98/388
Pérylène-d12	46,888	-	-	264	132/232/260

3.4. Approche semi-quantitative

3.4.1. Etalonnage interne - zone d'influence des étalons internes

L'étalonnage interne, que ce soit dans notre approche ou dans une quantification conventionnelle, implique une déviation des résultats liée à la différence des propriétés physico-chimiques existant entre le composé à quantifier et l'EtI. L'emploi systématique d'un homologue deutéré comme EtI permet de palier ce problème. Toutefois, cette pratique n'est envisageable que pour des analyses très ciblées, ne comportant que peu de composés à déterminer et inévitablement coûteuses.

L'augmentation du nombre des EtI et leur répartition chromatographique homogène limitent le biais lié à la régionalisation de la correction de l'EtI. La figure 6 permet de mettre en évidence ce phénomène de régionalisation. Les EtI sont classés par ordre croissant de temps de rétention. Nous pouvons constater que plus le composé est éloigné de l'EtI, plus le biais est significativement important. Par exemple, si nous considérons le D26 comme étalon interne : la déviation jusqu'au composé D50 est minime en considérant les RSD. Par contre, le Pérylène-d12 est surestimé. La correction du D26 est trop importante pour être efficace et il apparaît nécessaire d'utiliser un autre étalon interne.

Par conséquent, une zone de correction est définie pour chaque étalon interne et la quantification est basée sur ce fractionnement en 6 zones (tableau 14).

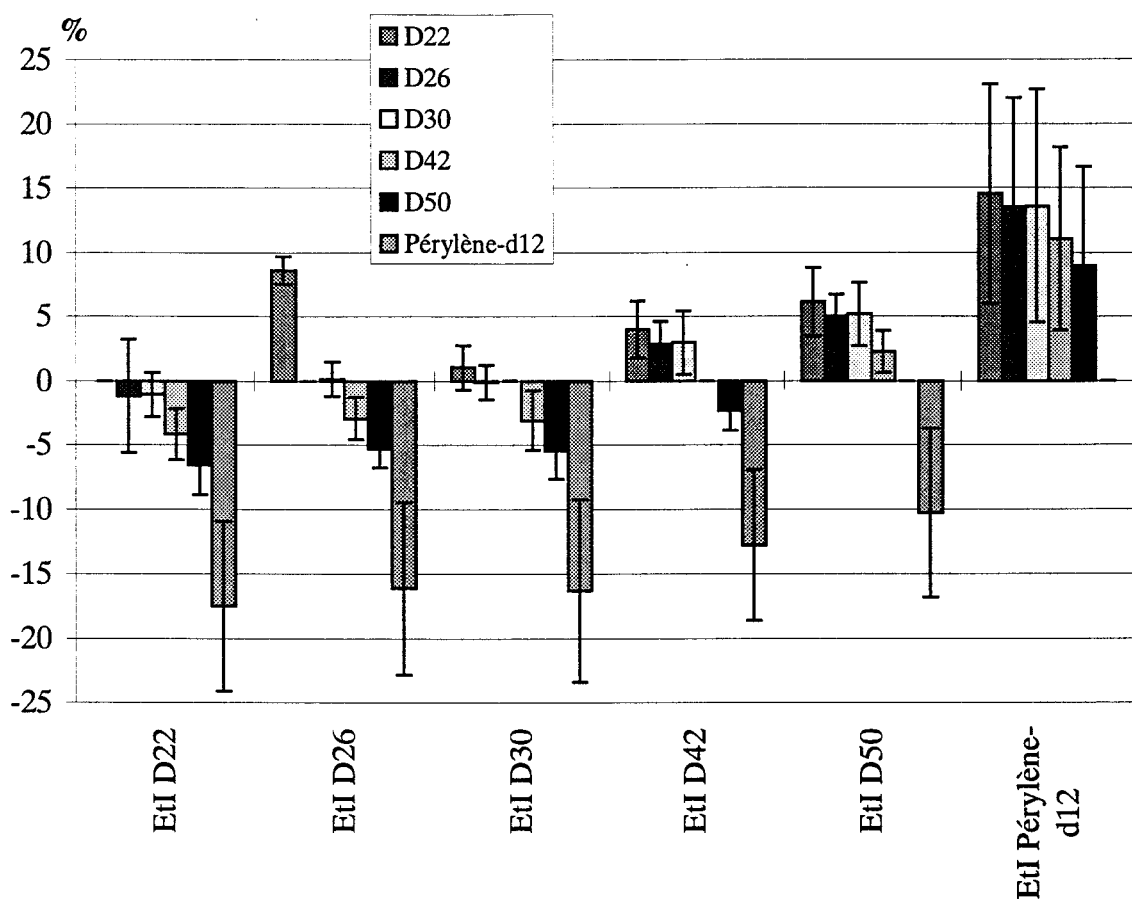


Figure 6 : Déviations (%) des résultats calculés en étalonnage interne à partir des étalons internes (EtI).

Tableau 14 : Domaine d'action des 6 étalons internes utilisés.

EtI	domaine (min.)
D22	4
	à $\frac{t_R^{D22} + t_R^{D26}}{2}$
D26	2
	à $\frac{t_R^{D26} + t_R^{D30}}{2}$
D30	2
	à $\frac{t_R^{D30} + t_R^{D42}}{2}$
D42	2
	à $\frac{t_R^{D42} + t_R^{D50}}{2}$
D50	2
	à $\frac{t_R^{D50} + t_R^{\text{Pérylène-d12}}}{2}$
Pérylène-d12	2
	à 60

3.4.2. Facteur de réponse

L'analyse quantitative est basée sur la relation de proportionnalité existant entre le signal issu du détecteur et la quantité d'analyte :

$$m_i = K_i \times A_i \quad \text{ou} \quad m_i = k_i \times H_i \quad (5)$$

avec : m_i : quantité du composé i ,
 A_i : aire du pic du composé i ,
 H_i : hauteur du pic du composé i ,
 K_i, k_i : Facteur de réponse (RF) du composé i .

L'approche semi-quantitative que nous décrivons ci-dessous, exploite l'équation (5), relative aux hauteurs de pics. En effet, les matrices environnementales étant des matrices complexes et chargées, notamment dans le cas des sols, des coélutions de pics chromatographiques en TIC sont possibles. Le choix de quantifier les composés à partir des hauteurs de pics paraît le mieux adapté et le plus raisonnable afin de limiter les erreurs d'intégration. En effet dans le cas de coélutions partielles (deux sommets de pics distincts), la hauteur du pic d'un composé est peu affectée par la présence d'un autre analyte, ce qui est suffisant pour une détermination semi-quantitative [Gardais J.F., 1982]. Par contre avec une coélution totale, une quantification correcte est impossible à réaliser en TIC. La comparaison des spectres de masse effectuée lors de l'identification, pourra cependant nous donner des indications sur le cas de figure rencontré.

Le facteur de réponse dépend du système chromatographique employé (colonne, détecteur, débit de gaz vecteur, quantité injectée, etc.). Pour des conditions chromatographiques données et pour un même système, le RF dépend encore de la nature de l'échantillon injecté (interactions soluté/solvant). Par conséquent, le choix de travailler dans des conditions analytiques fixées et à partir de l'extrait d'échantillon à analyser, s'impose afin de limiter les variations liées aux paramètres précédemment cités.

L'estimation des quantités de composé inconnu présent dans l'échantillon est réalisée à partir de son pic TIC, du pic TIC du composé connu le plus proche et de la quantité de ce dernier dans l'échantillon. Cette dernière quantité est calculée à partir de l'ion de quantification et de sa droite d'étalonnage.

Dans un premier temps, la quantité du composé connu dans l'échantillon est déterminée en étalonnage interne à partir de son ion de quantification :

$$m^{\text{CONNU}} = \frac{m^{\text{EtI}}}{k_{\text{ION}}^{\text{EtI}} \times H_{\text{ION}}^{\text{EtI}}} \times k_{\text{ION}}^{\text{CONNU}} \times H_{\text{ION}}^{\text{CONNU}} \quad (6)$$

m^{CONNU} est la quantité du composé connu dans l'extrait d'échantillon,
 m^{EtI} est la quantité d'étalon interne dans l'extrait d'échantillon,
 $k_{\text{ION}}^{\text{CONNU}}$ est le RF lié à l'ion de quantification du composé connu et déterminé à partir de sa droite d'étalonnage,
 $k_{\text{ION}}^{\text{EtI}}$ est le RF lié à l'ion de quantification de l'étalon interne,
 $H_{\text{ION}}^{\text{CONNU}}$ est la hauteur du pic de l'ion de quantification du connu dans l'extrait d'échantillon,

H_{ION}^{EI} est la hauteur du pic de l'ion de quantification de l'étalon interne dans l'extrait d'échantillon.

L'utilisation des étalons internes en tant que composés connus permet d'éviter le calcul précédent car les quantités de composés présentes dans l'extrait sont constantes et connues. L'équation 6 est donc à utiliser lorsque le composé connu n'est pas un EtI.

Pour chaque connu choisi pour la quantification des inconnus, le RF lié au TIC du connu (RF_{TIC}^{CONNU}) est déterminé :

$$RF_{TIC}^{CONNU} = \frac{m^{CONNU}}{H_{TIC}^{CONNU}} \quad (7)$$

L'estimation de la quantité injectée du composé inconnu ($m_{ESTIMEE}^{INCONNU}$) est ensuite réalisée de la manière suivante :

$$m_{ESTIMEE}^{INCONNU} = RF_{TIC}^{CONNU} \times H_{TIC}^{INCONNU} \quad (8)$$

Un facteur correctif que nous appelons facteur d'estimation (EF), est défini pour chaque composé. Ce facteur permet d'affiner l'approche semi-quantitative en tenant compte des différences de réponses chromatographiques existant entre les inconnus et les connus. Il est appliqué à la valeur $m_{ESTIMEE}^{INCONNU}$ pour le calcul de la quantité finale estimée du composé inconnu ($m_{FINALE}^{INCONNU}$) :

$$m_{FINALE}^{INCONNU} = \frac{m_{ESTIMEE}^{INCONNU}}{EF} \quad (9)$$

Enfin, les formules pour le calcul des concentrations finales dans l'échantillon sont appliquées (facteur de concentration / dilution, etc.).

Les valeurs estimées ainsi calculées permettent de fournir un ordre de grandeur du niveau de pollution d'un sol.

3.4.3. Facteur d'estimation

La détermination du facteur d'estimation est réalisée à l'aide de points de gamme dont les concentrations sont comprises entre 1 et 12 mg.L⁻¹. Il est calculé de la façon suivante :

$$EF = \frac{m_{ESTIMEE}^{INCONNU}}{m_{ION}^{INCONNU}} \quad (10)$$

$m_{ESTIMEE}^{INCONNU}$ est issue des équations 7 et 8. $m_{ION}^{INCONNU}$ est obtenue après application d'une procédure de quantification conventionnelle.

Nous déduisons des équations 5, 7, 8 et 10 que :



$$EF = \frac{H_{TIC}^{INCONNU}}{H_{TIC}^{CONNU}} \times \frac{m_{CONNU}}{m_{ION}^{INCONNU}} \quad (11)$$

Par conséquent, le facteur d'estimation est une valeur relative issue d'un unique chromatogramme, limitant ainsi l'importance des erreurs systématiques.

Les tableaux 15 à 18 regroupent les EF des 4 classes de composés précédemment rencontrés. Les RSD correspondent aux dispersions du facteur d'estimation déterminées à partir des concentrations utilisées.

3.4.4. Conclusion

Cette démarche semi-quantitative apporte, aux laboratoires d'analyse qui ne possèdent pas les composés étalons (lorsqu'ils existent), la possibilité d'évaluer le niveau de contamination d'un sol par tel ou tel composé. Le domaine d'application de cette approche quantitative rentre dans le cadre d'une étude amont, relative à l'identification, à la caractérisation et au classement d'un site potentiellement pollué.

Par ailleurs, si une étude quantitative précise doit être menée, l'injection de solutions étalons contenant les composés à rechercher est toujours possible. Une quantification conventionnelle par ions spécifiques est alors envisageable à partir des analyses effectuées dans le cadre de la méthode de balayage par spectrométrie de masse. En effet, d'après les conclusions tirées du chapitre II et relatives à la méthode d'extraction subcritique par solvant, le protocole expérimental pré-analytique demeure valable pour une exploitation classique en GC/MS.

4. ETUDE DE L'ETAPE DE CONCENTRATION

4.1. Choix du mode de concentration

Afin de déterminer et d'évaluer la méthode de concentration qui sera incluse dans le protocole de balayage par spectrométrie de masse, deux techniques sont considérées : l'évaporateur rotatif ou la concentration dans un bain thermostaté sous courant d'azote.

4.1.1. Mode opératoire

Une solution à 20 mg.L⁻¹ dans le DCM comprenant 27 composés, listés dans le tableau 19, est utilisée pour le dopage (250 µL) de 30 mL de DCM/acétone (50/50, v/v). Ce mélange est concentré à un volume inférieur à 1 mL selon une des deux méthodes. Avec l'évaporateur rotatif, le mélange est concentré jusqu'à environ 5 mL puis la concentration est poursuivie sous courant d'azote. Les étalons internes, 10 µL d'une solution à 1 g.L⁻¹ dans le DCM, sont ajoutés. Enfin, le concentrât est complété à 1 mL. Toutes ces opérations sont effectuées en rinçant plusieurs fois le matériel avec le mélange DCM/acétone (50/50, v/v).

De manière identique, des quantités de solutions dopante et d'EtI (respectivement 250 µL et 10 µL) sont introduites dans un flacon complété à 1 mL et utilisées comme référence pour le calcul des taux de récupération. Des blancs de manipulation sont systématiquement réalisés.

Tableau 15 : Facteur d'estimation (EF) calculé pour 23 hydrocarbures aliphatiques (n=5).

23 HC	EF	RSD (%)	EtI
C10	1,1	2,5	D22
C11	0,8	4,0	D26
C12	0,7	5,6	D26
C13	1,3	4,3	D30
C14	1,1	3,1	D30
C15	1,3	5,0	D30
C16	1,3	2,5	D30
C17	1,5	3,5	D42
Pristane	1,9	4,2	D42
C18	1,5	9,2	D42
Phytane	1,6	7,9	D42
C19	1,3	5,4	D42
C20	1,5	4,4	D42
C21	1,3	4,7	D42
C22	2,3	7,1	D50
C23	1,9	5,9	D50
C24	1,7	4,8	D50
C25	1,1	12,2	D50
C26	2,1	4,8	Pérylène-d12
C27	1,4	7,6	Pérylène-d12
C28	1,0	3,5	Pérylène-d12
C29	0,7	5,1	Pérylène-d12
C30	0,4	10,8	Pérylène-d12

Tableau 16 : Facteur d'estimation (EF) calculé pour 16 HPA (n=5).

16 HPA	EF	RSD (%)	EtI
Naphtalène	1,0	1,3	D26
Acénaphthylène	1,3	2,9	D30
Acénaphthène	1,5	1,6	D30
Fluorène	1,3	7,2	D30
Phénanthrène	1,3	3,8	D42
Anthracène	1,3	5,9	D42
Fluoranthène	1,3	4,5	D42
Pyrène	1,3	3,6	D42
Benz(a)anthracène	1,3	7,3	D50
Chrysène	1,5	4,8	D50
Benzo(b)fluoranthène	1,6	8,3	Pérylène-d12
Benzo(k)fluoranthène	2,1	7,8	Pérylène-d12
Benzo(a)pyrène	1,2	7,8	Pérylène-d12
Indeno(1,2,3-c,d)pyrène	0,5	0,7	Pérylène-d12
Dibenz(a,h)anthracène	0,6	4,5	Pérylène-d12
Benzo(ghi)pérylène	0,7	5,0	Pérylène-d12

Tableau 17 : Facteur d'estimation (EF) calculé pour 12 PCB (n=5).

12 PCB	EF	RSD (%)	EtI
PCB 28/31 (2,4,4'/2,4,5')	0,8	7,0	D42
PCB 52 (2,2',5,5')	0,8	6,5	D42
PCB 101 (2,2',4,5,5')	0,7	10,6	D42
PCB 77 (3,3',4,4')	1,0	6,4	D50
PCB 118 (2,3',4,4',5)	0,9	4,3	D50
PCB 153 (2,2',4,4',5,5')	1,1	5,9	D50
PCB 105 (2,3,3',4,4')	0,9	9,2	D50
PCB 138 (2,2',3,4,4',5')	0,9	3,3	D50
PCB 126 (3,3',4,4',5)*	1,0	-	D50
PCB 156 (2,3,3',4,4',5)	0,8	8,0	D50
PCB 180 (2,2',3,4,4',5,5')	1,3	6,5	Pérylène-d12
PCB 169 (3,3',4,4',5,5')	0,9	12,4	Pérylène-d12

* 3 évaluations

Tableau 18 : Facteur d'estimation (EF) calculé pour 13 phénols acétylés (n=5).

13 PHENOLS acétylés	EF	RSD (%)	EtI
Phénol	0,7	1,3	D22
o-Crésol	0,5	1,0	D26
m-Crésol	0,6	1,3	D26
p-Crésol	0,6	1,9	D26
2-Chlorophénol	0,5	2,7	D26
2,4-Diméthylphénol	0,2	8,5	D26
2,6-Dichlorophénol	0,9	2,8	D30
4-Chloro-3-Méthylphénol	0,3	4,4	D30
2,4-Dichlorophénol	0,8	1,3	D30
2-Nitrophénol*	0,2	-	D30
2,4,5-Trichlorophénol	0,6	5,9	D30
2,3,4,6-Tétrachlorophénol	0,5	1,6	D30
Pentachlorophénol	0,4	6,1	D50

* 3 évaluations

4.1.2. Résultats et discussion

La figure 7 représente les taux de récupération issus des concentrations sous courant d'azote (RDT1) et à l'évaporateur rotatif (RDT2). Les pertes, notamment des composés légers, sont plus significatives à l'évaporateur rotatif que sous courant d'azote : taux moyen respectifs de $(68,2 \pm 7,2) \%$ et $(85,6 \pm 7,7) \%$. Globalement, les plus fortes dispersions sont observées pour les composés légers.

Par conséquent, le mode de concentration sous courant d'azote permet de réduire les dispersions de résultats des composés légers par rapport à l'évaporateur rotatif, tout en améliorant leurs taux de récupération. La différence de taux de récupération entre ces deux modes de

concentration tend à disparaître avec l'augmentation du poids moléculaire des composés. Toutefois, ce dernier n'est pas le seul facteur qui influence les quantités d'analytes perdues lors de l'étape de concentration, la nature chimique des analytes et leur affinité avec le solvant sont aussi des paramètres importants.

Aussi, le mode de concentration sous courant d'azote est préférentiellement choisi à l'évaporateur rotatif.

4.2. Ajout des étalons internes

Après avoir déterminé le mode de concentration, il est nécessaire de se demander à quel niveau les étalons internes doivent être introduits dans le protocole analytique. Deux possibilités sont envisagées :

- après les étapes d'extraction et de concentration. Ainsi, les EtI sont employés en tant que correcteurs d'injection, en dehors de leur utilisation particulière dans la méthode de balayage.

- entre l'extraction et l'étape de concentration. Leur rôle est plus étendu car il englobe le premier cas et prend aussi en considération une étape délicate du protocole qui engendre des pertes d'analytes plus ou moins significatives.

Nous avons opéré de manière identique (§ 4.1.1.), en faisant varier uniquement la position de l'introduction des étalons internes dans le protocole. La figure 8 présente les taux de récupération obtenus lors de l'ajout des étalons internes avant (RDT3) ou après (RDT1) l'étape de concentration.

Les étalons internes ajoutés avant la concentration subissent des pertes contrairement à l'autre cas. Ainsi, le D26 aura subi des pertes différentes du pérylène-d12 qui est beaucoup plus lourd. Il en est de même pour les divers analytes. Nous constatons donc une meilleure correction apportée lorsque les EtI sont introduits avant l'étape de concentration puisqu'ils vont refléter, le plus fidèlement possible, le comportement des composés au cours de la procédure analytique.

Par conséquent, cette dernière manière de procéder est retenue pour le protocole expérimental de la méthode étudiée.

5. DETERMINATION DU PROTOCOLE GLOBAL DE LA METHODE D'ANALYSE DE BALAYAGE PAR SPECTROMETRIE DE MASSE

De par ses caractéristiques et ses résultats quantitatifs étudiés dans le chapitre II, l'ESS est choisie comme technique d'extraction pour la méthode de balayage par spectrométrie de masse.

En effet, nous avons vu précédemment que la polarité des solvants diminue lors de l'augmentation de la température et de la pression. Aussi, l'utilisation d'un mélange binaire relativement polaire tel que DCM/acétone (50/50, v/v) permet lors de l'étape statique de solubiliser :

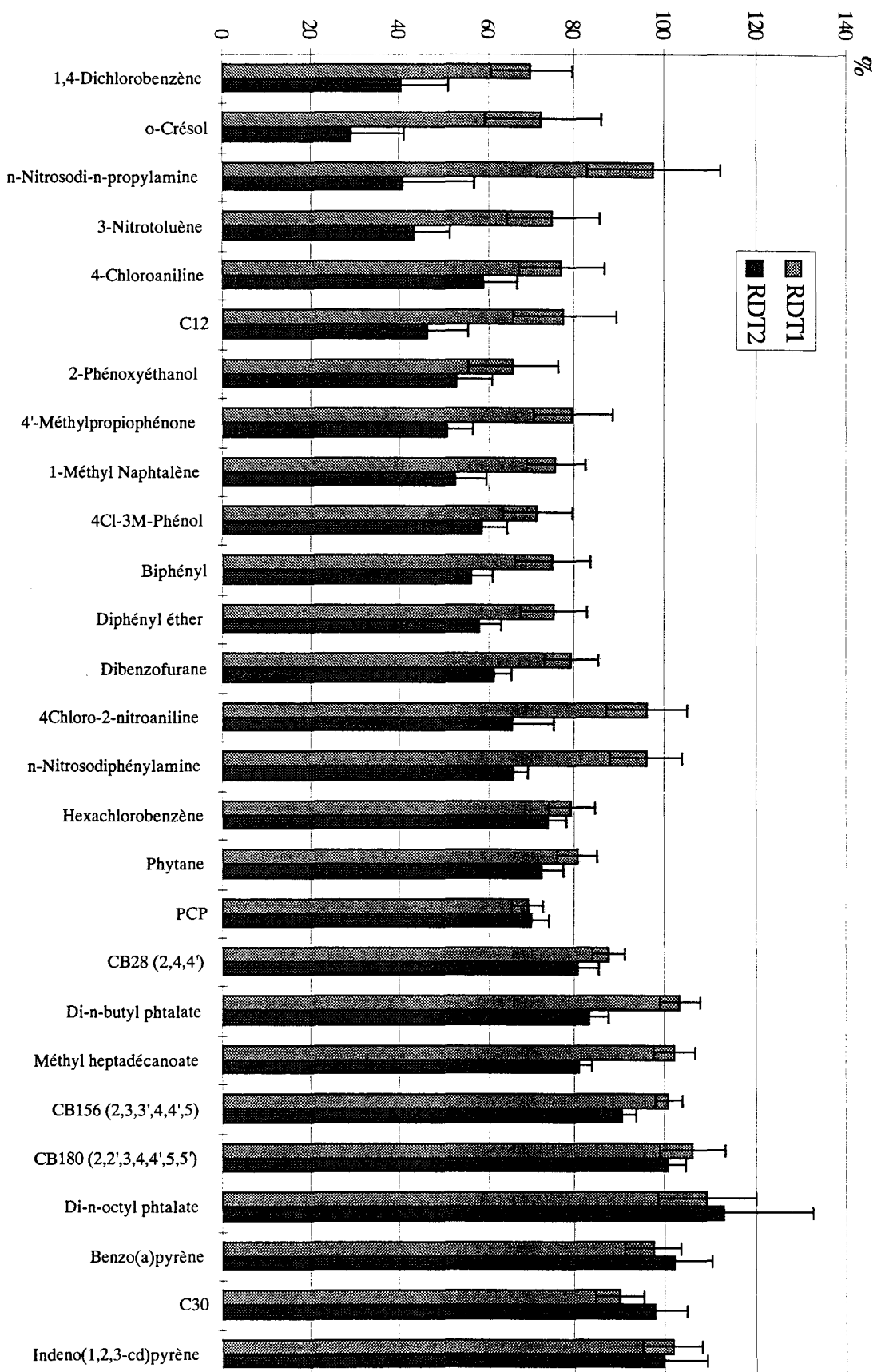
- les composés polaires en début d'étape (le temps que toute la matrice atteigne la température programmée. Ce temps est lié à la conductivité thermique de la matrice extraite),
- les composés apolaires en fin de l'étape statique lorsque la température est atteinte.

Tableau 19 : Descriptions et caractéristiques physico-chimiques des 27 composés utilisés pour les dopages.

Classe	Composé	Formule	pm	Ions de quantification	Ions de caractérisation	Utilisation*	Remarque	CAS N°
HPA	1-Méthyl Naphtalène	CH ₃ C ₁₀ H ₇	142,2	141 - 142	115			[90-12-0]
	Benzo(a)Pyrène	C ₂₀ H ₁₂	252,3	252	124 - 126		US EPA 8100 / 8270	[50-32-8]
	Indeno(1,2,3-cd)Pyrène	C ₂₂ H ₁₂	276,3	276	136 - 138		US EPA 8100 / 8270	[193-39-5]
PCB	CB28 (2,4,4'-TCB)	C ₁₂ H ₇ Cl ₃	257,5	256 / 258	75 / 93 / 110 / 150 / 186		US EPA 8080	[7012-37-5]
	CB156 (2,3,3',4,4',5-HCB)	C ₁₂ H ₄ Cl ₆	360,9	360 / 362	109 / 145 / 218 / 290		US EPA 8080	[38380-08-4]
	CB180 (2,2',3,4,4',5,5'-HCB)	C ₁₂ H ₃ Cl ₇	395,3	394 / 396	162 / 252 / 324		US EPA 8080	[35065-29-3]
Phénols	4-Chloro-3-Méthylphénol	C ₇ H ₇ ClO	142,6	142	77 / 107		US EPA 8060	[59-50-7]
	PCP	C ₆ HCl ₅ O	266,3	264 - 270		Insecticide / Ind. bois, colle	US EPA 8040 / 8270	[87-86-5]
	o-Crésol	C ₇ H ₈ O	108,1	108	107 / 150	Désinfectant	US EPA 8060 / 8270	[95-48-7]
HC	C12	C ₁₂ H ₂₆	170,3	57	71 / 85 / 170			[112-40-3]
	Phytane	(CH ₃) ₄ C ₁₆ H ₃₀	282,6	57	71 / 85 / 282		2,6,10,14-Tétraméthylhexadécane	[638-36-8]
	C30	C ₃₀ H ₆₂	422,8	57	71 / 85 / 282			[638-68-6]
Dérivés	3-Nitrotoluène	C ₇ H ₇ NO ₂	137,1	91	137 / 65	Ind. teinture		[99-08-1]
Benzéniques	1,4-Dichlorobenzène	C ₆ H ₄ Cl ₂	147,0	146 / 148	111 / 75	Insecticide par fumée	US EPA 8020 / 8120 / 8270	[106-46-7]
	Hexachlorobenzène	C ₆ Cl ₆	284,8	282 - 288	142 / 214 / 249	Fongicide / Synthèse Organique	US EPA 8120	[118-74-1]
	Biphényl	C ₁₂ H ₁₀	154,2	152 - 155	76	Agent de transfert chaleur / Synthèse Organique		[92-52-4]
Anilines	4-Chloro Aniline	C ₆ H ₆ ClN	127,6	127	65 / 92		US EPA 8270	[106-47-8]
	4-Chloro-2-Nitro Aniline	C ₆ H ₅ ClN ₂ O ₂	172,6	172	63 / 99 / 126			[89-63-4]
Phtalates	Di-n-butyl phtalate	C ₆ H ₄ (CO ₂ C ₄ H ₉) ₂	278,4	149	223 / 278		US EPA 8060	[84-74-2]
	Di-n-octyl phtalate	C ₆ H ₄ (CO ₂ C ₈ H ₁₇) ₂	390,6	149	167 / 279		US EPA 8060 / 8270	[117-84-0]
Nitrosamines	n-Nitrosodiphénylamine	C ₁₂ H ₁₀ N ₂ O	198,2	167 - 169	51 / 141	Accélérateur vulcanisation gommes	US EPA 8070 / 8270	[86-30-6]
	n-Nitrosodi-n-propylamine	C ₃ H ₇ NHC ₃ H ₆ NO	129,2	70	58 / 101 / 130		US EPA 8070 / 8270	[621-64-7]
Ether	Diphényl éther	C ₆ H ₅ OC ₆ H ₅	170,2	170	51 / 77 / 141 / 142	Milieu de transfert chaleur / Parfumerie du savon / Synthèse Organique		[101-84-8]
Cétone	4'-Méthylpropiophénone	CH ₃ C ₆ H ₄ COC ₂ H ₅	148,2	119	91 / 148			[5337-93-9]
Ester	Méthyl heptadécanoate	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284,5	74	87 / 143 / 241 / 284			[1731-92-6]
Alcool	2-Phénoxyéthanol	C ₆ H ₅ O(CH ₂) ₂ OH	138,2	94	77 / 138	Stabilisant cosmétique / Fixateur pour les parfums / Synthèse Organique / Produit qui repousse les insectes		[122-99-6]
Dibenzofurane	Dibenzofurane	C ₁₂ H ₈ O	168,2	168	84 / 139		US EPA 8270	[132-64-9]

* The Merck Index, 11th edition, 1989, U.S.A.

Figure 7 : Taux de récupération (%) de 27 composés après concentration sous courant d'azote (RDT1) ou à l'évaporateur rotatif (RDT2) (n=6).



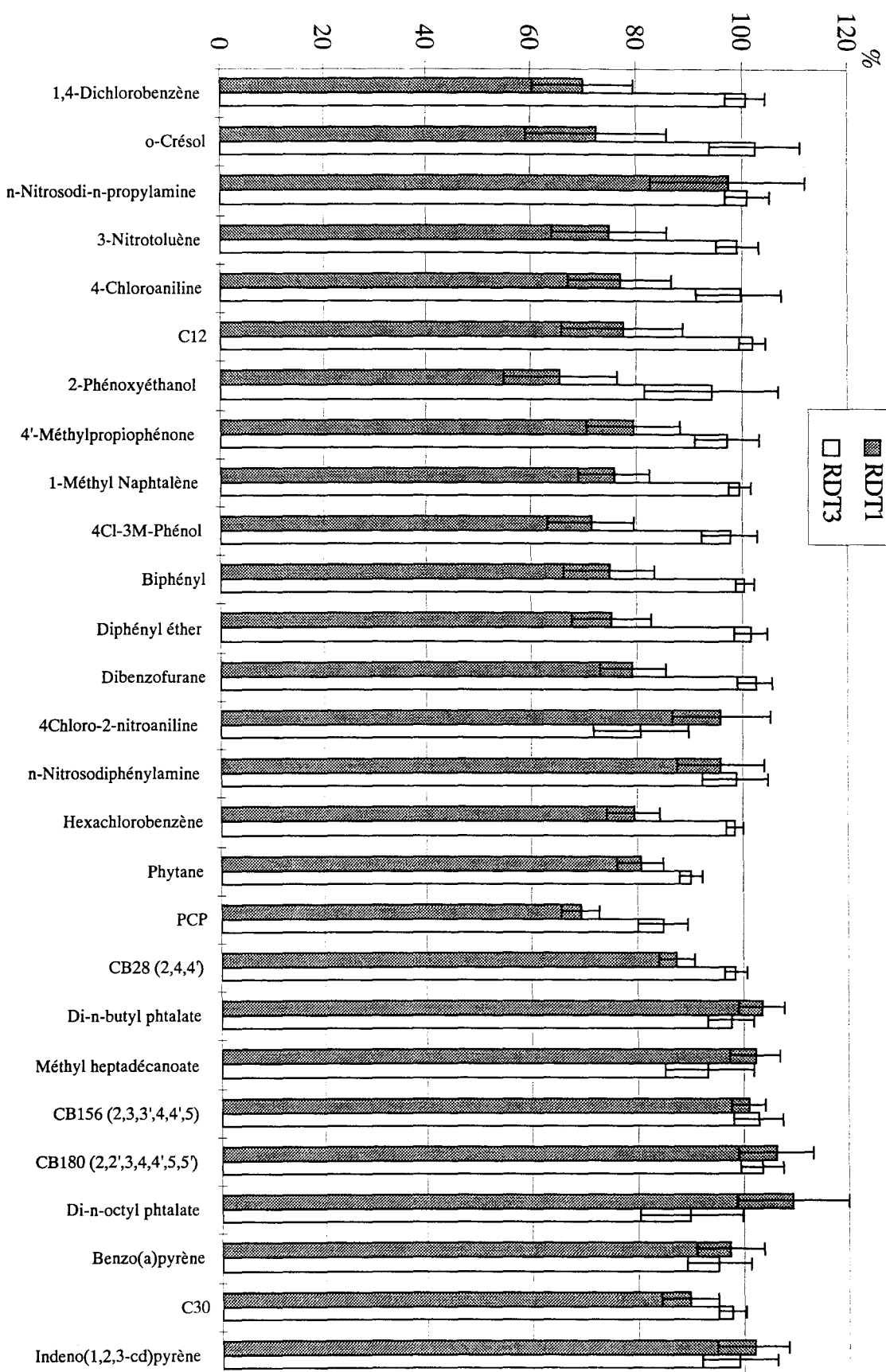


Figure 8 : Taux de récupération (%) de 27 composés obtenus lors de l'ajout des étalons internes avant (RDT3) ou après (RDT1) l'étape de concentration sous courant d'azote (n=6).

Par conséquent, cette technique d'extraction (tout comme l'EPS puisqu'elles sont toutes les deux basées sur les mêmes phénomènes physico-chimiques) est susceptible de pouvoir montrer son efficacité dans un large domaine de polarité et donc d'extraire une grande variété de composés, ce qui est notre objectif premier.

Les conditions expérimentales concernant l'étape d'extraction, seront fixées par la suite et font l'objet d'une étude dans le chapitre suivant. Toutefois, nous pouvons d'ores et déjà arrêter notre choix sur le solvant d'extraction. Le mélange binaire DCM/acétone (50/50, v/v) apparaît intéressant d'une part, du point de vue de sa polarité (cf. précédemment) et d'autre part, en raison de la diversité des méthodes dans lesquelles il est employé (tableau 20).

Tableau 20 : Méthodes référencées utilisant le mélange dichlorométhane/acétone pour l'extraction de matrices solides.

Classe de composé	Référence
Phénols	US EPA Method 8040, 1986
Phtalates esters	US EPA Method 8060, 1986
PCB	US EPA Method 8080, 1986
Pesticides organochlorés	US EPA Method 8080, 1986
Nitro-aromatiques	US EPA Method 8090, 1986
Cétones cycliques	US EPA Method 8090, 1986
HPA	US EPA Method 8100, 1986
Hydrocarbures chlorés	US EPA Method 8120, 1986
Pesticides organophosphorés	US EPA Method 8140, 1986

La définition du protocole global est basée sur les différentes conclusions tirées des précédents chapitres et paragraphes. Il est schématisé dans la figure 9. Les conditions opératoires analytiques sont regroupées dans le tableau 21.

Aucune étape de purification y est intégrée. Cela viendrait à l'encontre de l'objectif fixé puisque toute ségrégation dans le protocole de la méthode doit être évitée, afin d'avoir accès à tout type d'analyte. Seule une désulfuration est éventuellement envisageable en fin de procédure lorsque des interférences relatives au soufre élémentaire (S_8) sont présentes (ions 64/96/128/160/192/256). Cette étape peut cependant induire des réactions et modifier les espèces chimiques présentes dans l'extrait notamment certains pesticides [US EPA Method 3660, 1986]. Par conséquent, il est préférable de ne l'envisager qu'en dernier recours.

La désulfuration est réalisée par ajout de 1 à 2 gouttes de mercure dans l'extrait suivi d'une agitation vigoureuse de 5 min.. Si un précipité se forme ou lorsque la surface du mercure se noircit ou ternit, l'extrait est transvasé à la pipette Pasteur puis l'opération est répétée plusieurs fois jusqu'à disparition de la précipitation.

Une partie de l'extrait (500 μ L) est acétylée (cf. procédure § 3.5. du chapitre II). Cette étape constitue une dérivation pré-analytique mais peut être considérée comme une purification dans le sens où certains composés polaires vont être éliminés (ceux qui n'ont pas réagi).

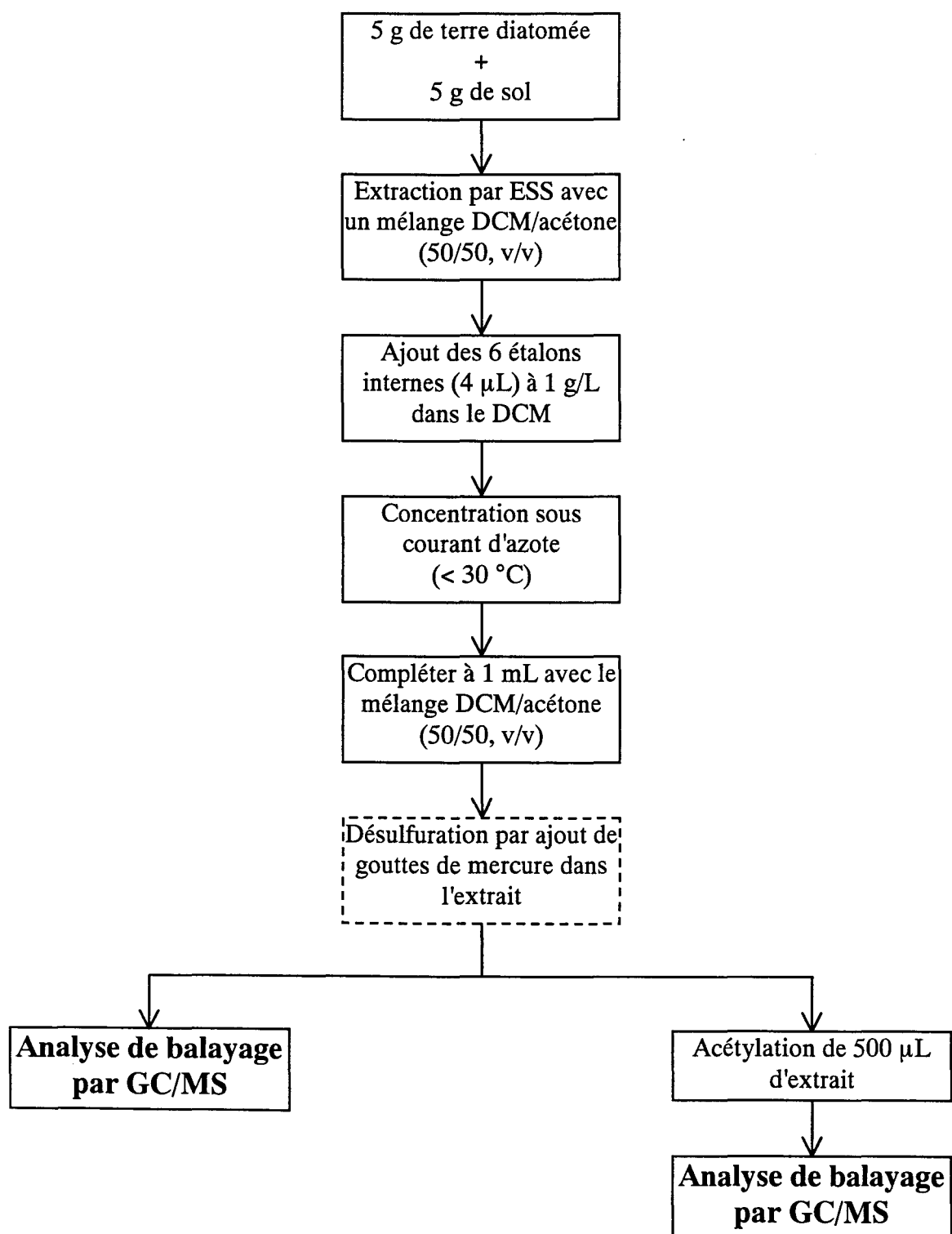


Figure 9 : Schéma du protocole expérimental de la méthode de balayage par spectrométrie de masse.

Tableau 21 : Description de l'analyse de balayage par GC/MS.

Appareillage	
Appareil GC/MS	HP 5890 Série II / HP 5989A MS Engine
Pré-colonne*	5 m x 0,53 mm i.d.
<i>Matériau</i>	Silice désactivée
Colonne*	30 m x 0,32 mm i.d.
<i>Epaisseur du film</i>	0,25 µm
<i>Phase greffée</i>	5 % diphenyl / 95 % diméthylsiloxane
<i>Marque</i>	DB™ 5 - J&W Scientific
Conditions opératoires	
Injecteur	
<i>Mode</i>	Splitless durant 1 min.
<i>Température</i>	250 °C
<i>Volume injecté</i>	1 µL
Four (température)	40 °C pendant 1 min. puis 5 °C.min. ⁻¹ jusqu'à 290 °C pendant 9 min.
Détecteur	
<i>Mode d'ionisation</i>	Impact électronique (70 eV)
<i>Ligne de transfert</i>	180 °C
<i>Source</i>	220 °C
<i>Quadripôle</i>	110 °C
Gaz vecteur	Hélium
<i>débit</i>	1,5 mL.min. ⁻¹ (constant)
Acquisition	
Domaine spectral 1	45 à 250 (m/z)
<i>Bornes d'acquisition</i>	de 4 min. à 15 min.
<i>Nombre de scan.s⁻¹</i>	2,37
<i>Valeur de a/d</i>	4
Domaine spectral 2	50 à 400 (m/z)
<i>Bornes d'acquisition</i>	de 15 min. à 60 min.
<i>Nombre de scan.s⁻¹</i>	2,71
<i>Valeur de a/d</i>	2
Durée totale de l'analyse	60 min.

* i.d. : diamètre interne (Internal Diameter).

**EVALUATION ET APPLICATION
A L'ETUDE DE SOLS**

CHAPITRE IV

MISE EN ŒUVRE D'UN OUTIL D'OPTIMISATION : ETUDE DU PROTOCOLE D'EXTRACTION DE LA PROCEDURE DE BALAYAGE PAR SPECTROMETRIE DE MASSE A L'AIDE DE LA METHODE SIMPLEX

Le protocole expérimental global de la méthode étant fixé, il nous reste à arrêter les conditions expérimentales de l'extraction subcritique par solvant et de définir les limites de la méthode de balayage par spectrométrie de masse.

Nous avons choisi d'utiliser un outil d'optimisation pour répondre au mieux à ces objectifs. Aussi, nous appliquerons cet outil au protocole défini dans le chapitre précédent en faisant varier uniquement les conditions expérimentales de l'étape d'extraction.

1. PRESENTATION DE L'OUTIL D'OPTIMISATION

1.1. Méthodes d'optimisation

La démarche classique est de faire varier un paramètre et de fixer les autres, ceci pour tous les paramètres. Le nombre d'essais nécessaire pour atteindre les paramètres optimaux devient rapidement inabordable (par exemple : m paramètres et X valeurs expérimentales par paramètre impliquent X^m essais à réaliser). Par conséquent, l'optimisation est difficilement applicable à des phénomènes comportant un nombre élevé de paramètres car trop longue. De plus, la convergence vers l'optimum n'est pas systématique mais peut aboutir à l'obtention d'un faux maximum [Souvie J.C. 1983].

L'utilisation de stratégies de recherche basées sur la variation simultanée de tous les paramètres à chaque essai, permet de réduire considérablement la durée et les coûts de l'optimisation.

Deux méthodes sont envisagées :

- les plans d'expériences (méthode indirecte),
- la technique du Simplex (méthode directe).

1.1.1. Choix de la méthode d'optimisation

Les caractéristiques et le domaine d'application de la méthode de balayage par spectrométrie de masse ainsi que les objectifs relatifs à ce chapitre, sont les critères sur lesquels est basé notre choix.

Les méthodes indirectes qui impliquent l'élaboration de modèles mathématiques, sont intéressantes lorsque les paramètres expérimentaux sont parfaitement connus, comme par exemple dans certaines synthèses organiques où les caractéristiques physico-chimiques du milieu réactionnel et les conditions opératoires sont contrôlées.

Or, la présence de paramètres non contrôlés tels que le type de matrice et de micropolluants organiques présents, réduit l'intérêt de modéliser le phénomène étudié. En effet, le sol est une matrice hétérogène qui présente une grande variété de constituants (chapitre I). Aussi, la diversité des sols susceptibles d'être extraits, ne permet pas d'établir de cadre de travail et de s'y tenir. L'importance des différents paramètres et de leurs interactions, est établie dans des conditions opératoires précises. Par conséquent, les renseignements et les conclusions issus d'une telle étude sur un type de sol donné, concernant notamment les interactions de paramètres, ne seront pas forcément transposables à un autre type de sol. Cependant, la mise en évidence de certains paramètres influants est possible, ce qui peut aussi être le cas avec le Simplex (cf. § 2.2 et § 3.2.).

De plus, les méthodes indirectes sont fondées sur des hypothèses de travail liées au modèle. Ces hypothèses ne sont pas toujours satisfaisantes et sont difficilement vérifiables. Par exemple, pour les plans d'expériences factoriels :

- l'équation mathématique associée est un polynôme du premier degré par rapport à chacun des paramètres pris indépendamment [Goupy J. 1988(a)]. Ainsi chaque paramètre agit de manière linéaire sur la réponse, ce qui reste à démontrer.

- la validité du modèle doit être confirmée par une comparaison des moyennes calculées et mesurées au centre du domaine expérimental; les réponses calculées étant plus précises au point central du domaine [Goupy J. 1988(a)].

- la mesure précise des réponses est primordiale pour l'exploitation des résultats et notamment pour les calculs d'effet [Goupy J. 1988(b)]. L'estimation de l'influence d'un paramètre est basée sur la détermination de l'erreur expérimentale (ou erreur aléatoire). Cette erreur est l'incertitude due à la dispersion des résultats que nous traduisons par la valeur de l'écart-type relatif (RSD). A cette erreur vient s'ajouter l'erreur systématique qui est difficilement appréciable. Par conséquent, soit le plan d'expérience doit être réalisé plusieurs fois, soit plusieurs répétitions sont effectuées pour chaque point d'expérience. Cette démarche est cependant peu abordée de mises au point de mises au point pour des raisons de temps et de coûts.

Dans ces conditions, l'emploi des méthodes indirectes ne paraît pas nécessaire. Dans le cadre de nos travaux, seule la recherche rapide de l'optimum est envisagée.

Les méthodes directes comme la technique du Simplex, ne font pas appel à des modèles mathématiques liant les réponses aux paramètres. Elles n'ont pour objectif que la convergence vers des paramètres optimaux.

Un de leurs avantages est l'obtention de résultats immédiats. Ce critère permet d'évaluer la progression des travaux et de décider de leur orientation à tout moment. Ce n'est pas le cas des méthodes indirectes où le suivi de l'optimisation n'est possible qu'après l'exploitation des résultats. Avec la méthode Simplex, l'interprétation des résultats est beaucoup plus directe et rapide. Elle ne nécessite pas de connaissances mathématiques et des calculs poussés.

La méthode Simplex nous paraît donc plus adaptée aux contraintes et aux objectifs liées à notre étude.

1.1.2. Description de la méthode Simplex

Divers auteurs ont tracé l'histoire des méthodes d'optimisation et expliqué leur principe, notamment celui du Simplex [Porte C. *et al.* 1984, Deshayes C.M.P. *et al.* 1980, Holuigue C. 1990, Florkin J. et Laszlo P. 1985]. La méthode Simplex se décline sous différentes méthodes dérivées de la méthode séquentielle de Spendley *et al.*. Nous avons choisi d'utiliser la méthode "Modified Simplex" de Nelder et Mead, qui met en œuvre une technique à pas variables [Nelder J.A. et Mead R. 1965]. L'algorithme initialement établi a été modifié par différents auteurs et c'est la dernière version de cette méthode que nous avons exploitée [Brookes A.E. *et al.* 1981].

Nous allons aborder brièvement sa description.

Dans un premier temps, le nombre de paramètres expérimentaux (m) à optimiser doit être défini.

Une figure géométrique appelée Simplex, est construite à partir des $m+1$ sommets correspondant chacun à une expérience. Les paramètres expérimentaux (P , T , etc.) d'un essai constituent ses coordonnées réelles. Divers auteurs décrivent en détail la construction du Simplex initial [Porte C. *et al.* 1986, Devys G. 1985, Holuigue C. 1990]. Nous verrons par la suite que nous pouvons nous affranchir des changements de repères (coordonnées réduites / réelles) généralement utilisés. Par conséquent, nous ne développerons pas ce point. Précisons cependant que l'ensemble des $m+1$ premiers essais constitue le réseau initial (r.i.).

Pour $m = 2$, la figure définie dans l'espace des paramètres, est un triangle. Avec $m = 3$, le Simplex est un tétraèdre non coplanaire. Au delà de trois paramètres expérimentaux étudiés, la figure est un hypertétraèdre qui est alors difficilement représentable.

A chaque essai correspond une réponse déterminée expérimentalement (un rendement par exemple).

Le principe de la méthode consiste à éliminer un des points du Simplex (en général le plus mauvais) au profit d'un autre qui fournit une meilleure réponse. Pour ce faire, une opération élémentaire est appliquée au Simplex. Elle conduit après différents calculs, aux n paramètres expérimentaux qui définissent un nouvel essai à réaliser. La réponse de cet essai est déterminée expérimentalement.

Ainsi, l'application successive d'opérations élémentaires va faire évoluer le Simplex vers une zone optimale. Ces opérations sont au nombre de quatre :

- la symétrie (ou réflexion) conduit à l'obtention du point S et de sa réponse associée r_s ,
- l'expansion (E) conduit au point E ,
- la contraction positive ($C+$) conduit au point $C+$,
- la contraction négative ($C-$) conduit au point $C-$.

La réponse associée aux opérations E ou $C+$ ou $C-$, est notée r_{op} .

La figure 1 représente les points associés aux différentes opérations appliquées. Les relations qui lient ces différents points sont :

- symétrie : $BS = \alpha ZB$ ($\alpha > 0$: coefficient de réflexion),
 - expansion : $BE = \gamma ZB$ ($\gamma > 1$: coefficient d'expansion),
 - contraction positive : $BC+ = \beta BS = \alpha \beta ZB$
 - contraction négative : $BC- = -\beta BS$
- } ($0 < \beta < 1$: coefficient de contraction).

Afin d'avoir une convergence la plus rapide possible, les trois coefficients relatifs aux quatre opérations sont généralement les suivants : $\alpha = 1$, $\gamma = 2$ et $\beta = 0,5$.

Les formules de calcul des différents paramètres expérimentaux sont déduits des relations précédentes :

- symétrie : $S = 2 B - Z$,
- expansion : $E = 3 B - 2 Z$,
- contraction positive : $C+ = (3 B - Z) / 2$,
- contraction négative : $C- = (B + Z) / 2$.

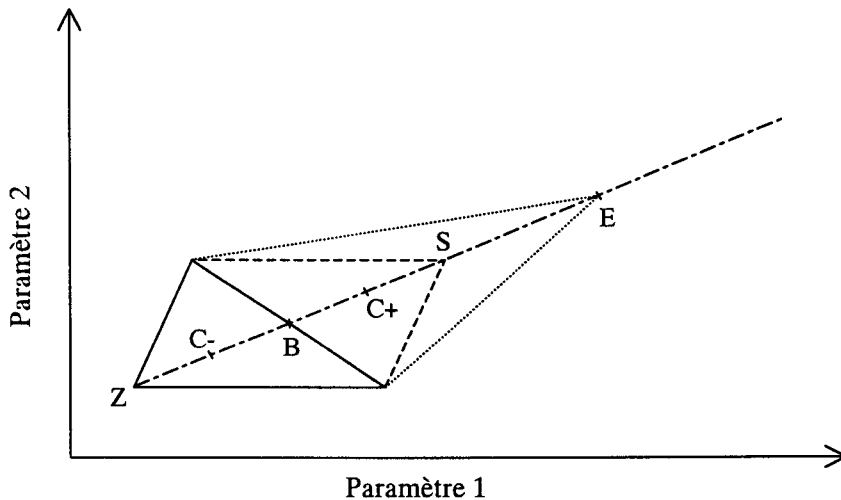


Figure 1 : Méthode de Nelder et Mead - représentation des différentes possibilités d'évolution d'un Simplex à 2 paramètres. Z : point à éliminer, B : barycentre, S : symétrique, E : expansion, C+ : contraction positive, C- : contraction négative.

Des règles d'évolution du Simplex définissent les critères conditionnant l'élimination d'un essai. Nous allons maintenant décrire succinctement les grandes lignes de la procédure du Simplex utilisé. Nous rappelons que la littérature fournit de nombreuses informations sur cette méthode et que l'algorithme détaillé est représenté dans la figure 5.

1.1.2.1. Calcul du point symétrique

Une fois le Simplex déterminé (essais et mesures réalisés), les réponses du Simplex sont classées par ordre croissant de $r(0)$ à $r(m)$ (impliquant $n+1$ réponses). Dans le Simplex considéré, la plus mauvaise réponse (associée au point M) est donc $r(0)$ et $r(m)$ la meilleure.

Il faut souligner que le point à éliminer (Z) est généralement $r(0)$ mais ce peut être un autre point du Simplex lors des changements de direction. La réponse associée à ce point est notée $r(z)$. L'essai classé juste après le point Z est noté $Z+1$ et sa réponse associée $r(z+1)$.

L'opération de symétrie est appliquée en premier lieu : le barycentre (B) de tous les points sauf de celui à éliminer, est calculé et l'image (S) du point Z est déterminée par rapport à B. La réponse r_s est déterminée expérimentalement.

A ce stade, divers cas de figures impliquant les quatre opérations élémentaires, sont envisageables selon la valeur prise par r_s .

1.1.2.2. Expansion : $rs > r(m)$

La direction est considérée comme convenable. Une opération d'expansion est alors appliquée dans la même direction et au delà du point S (figure 2a). Un nouvel essai est défini (point E) et sa réponse rop est déterminée expérimentalement. Le meilleur des deux points S ou E est conservé et le point Z est éliminé. Un nouveau Simplex est formé et la procédure est répétée à partir du § 1.1.2.1.

Si l'essai E est irréalisable (figure 2b) : les coordonnées réelles calculées pour le point E correspondent à des conditions expérimentales irréalistes (valeurs négatives pour une durée par exemple) ou ne pouvant pas être applicables car en dehors du domaine opératoire (contraintes expérimentales). Par conséquent, la symétrie est retenue (§ 1.1.2.3.).

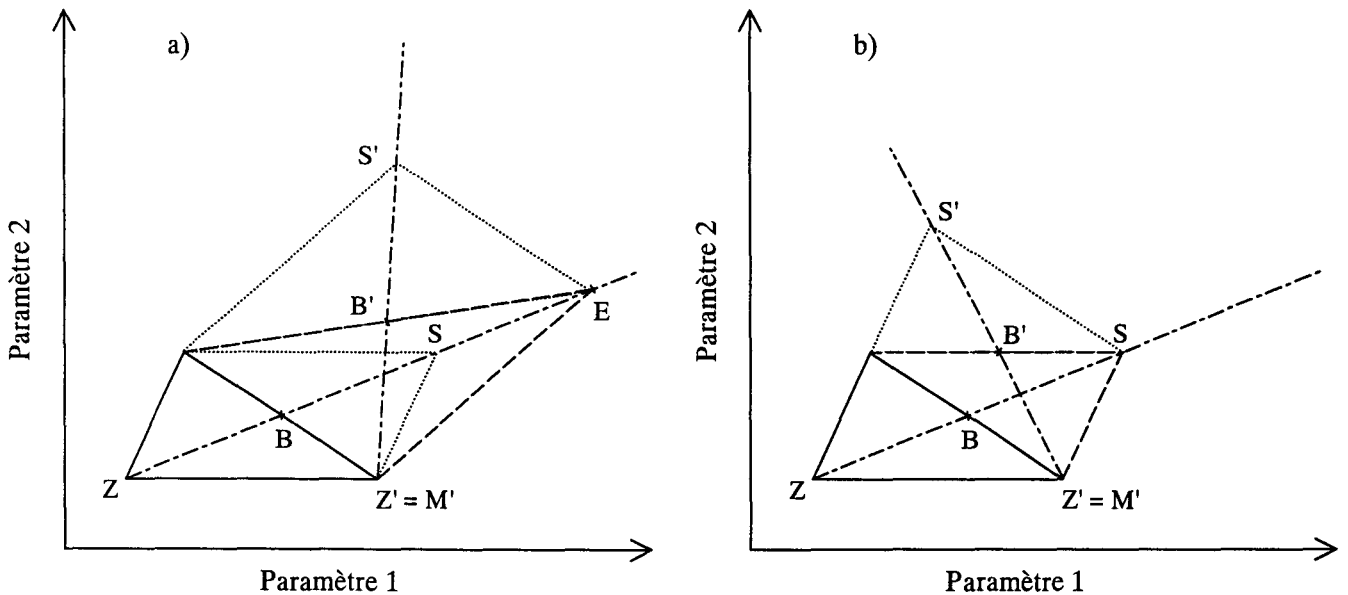


Figure 2 : Evolution du Simplex à 2 paramètres avec $rs > r(m)$: a) expansion retenue, b) expansion non retenue ou irréalisable impliquant l'application de la symétrie.

1.1.2.3. Symétrie : $r(z+1) \leq rs \leq r(m)$ ou l'expansion n'est pas possible

La direction est ni bonne, ni mauvaise et le point S remplace le point Z dans le nouveau Simplex. L'opération de symétrie est donc retenue. La procédure est reprise à partir du début (§ 1.1.2.1.).

1.1.2.4. Contraction positive : $r(z) \leq rs < r(z+1)$

Une contraction positive est effectuée. La réponse du point C+ est déterminée expérimentalement.

- Si $rop \geq r(z+1)$: la contraction est retenue et le point C+ remplace le point Z (figures 3a et 3b). Un nouveau Simplex est formé et la procédure est reprise à partir du § 1.1.2.1.

- Si $rs \leq rop < r(z+1)$: le point C+ remplace le point Z (figure 3c). Un nouveau Simplex est formé. Le point Z à éliminer dans ce nouveau Simplex correspond au point Z+1 dans

le Simplex précédent, même si sa réponse est supérieure à celle issue de la contraction positive ou de tout autre point. Un changement de direction dans l'évolution du Simplex est ainsi opéré. La procédure est répétée à partir du § 1.1.2.1.

- Si $rop < rs$: l'opération de contraction positive n'est pas gardée (figure 3d). Le point S remplace le point Z. Le point Z+1 devient le point à éliminer dans le nouveau Simplex (changement de direction) et la procédure est répétée à partir du § 1.1.2.1.

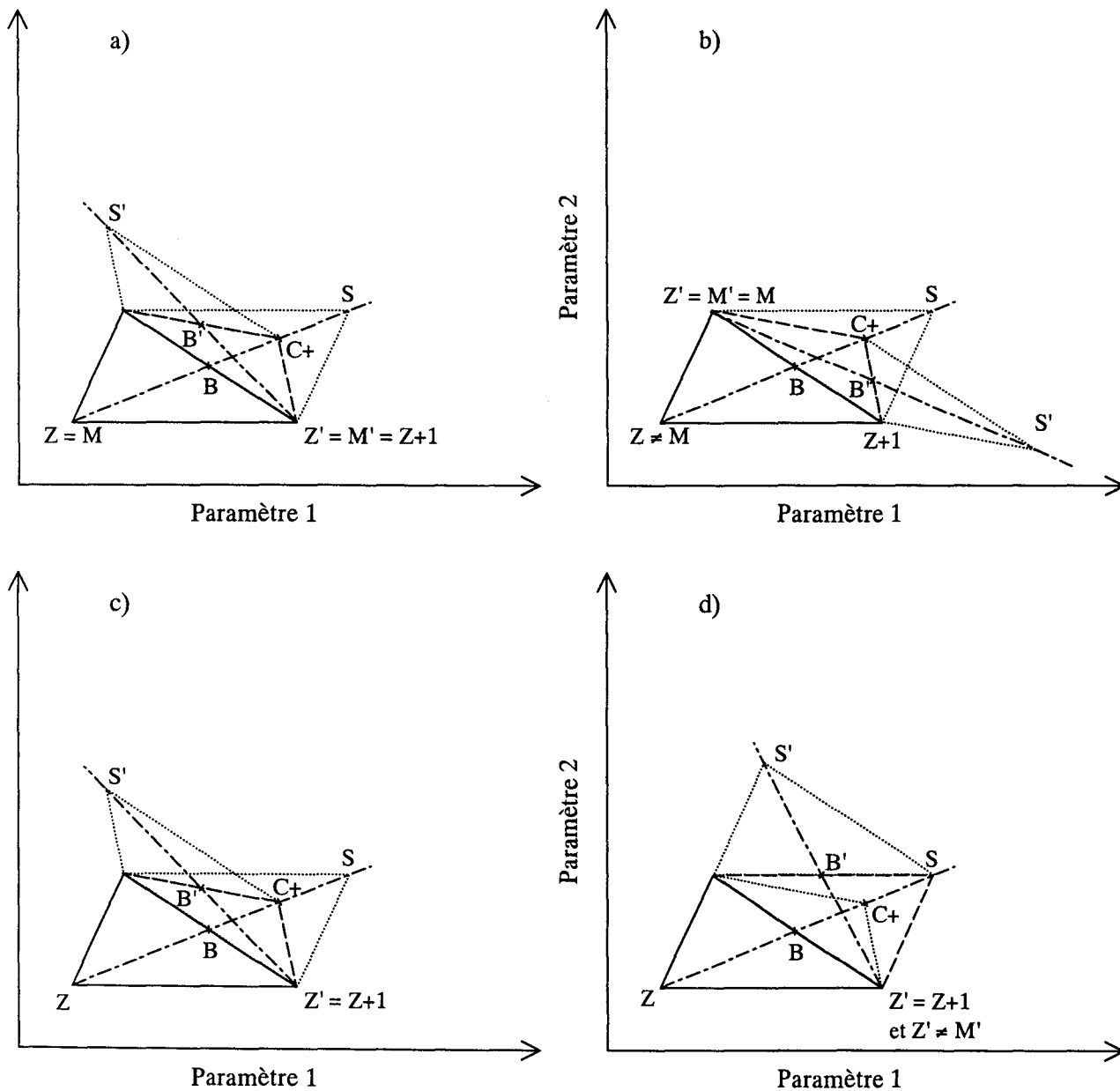


Figure 3 : Evolution du Simplex à 2 paramètres avec $r(z) \leq r(z+1)$: a) $rop \geq r(z+1)$ et $Z = M$: $C+$ retenue, b) $rop \geq r(z+1)$ et $Z \neq M$: $C+$ retenue, c) $rs \leq rop < r(z+1)$: $C+$ retenue avec changement de direction, d) $rop < rs$: symétrie retenue avec changement de direction.

1.1.2.5. Contraction négative : $r_s < r(z)$ ou l'essai S est irréalisable

Une contraction négative est effectuée. La réponse du point C^- est déterminée expérimentalement.

- Si $r_{op} \geq r(z+1)$: la contraction est retenue et le point C^- remplace le point Z (figures 4a et 4b). Un nouveau Simplex est formé et la procédure est reprise à partir du § 1.1.2.1.

- Si $r(z) \leq r_{op} < r(z+1)$: le point C^- remplace le point Z (figure 4c). Le point $Z+1$ devient le point à éliminer dans le nouveau Simplex et un changement de direction est opéré. La procédure est répétée à partir du § 1.1.2.1.

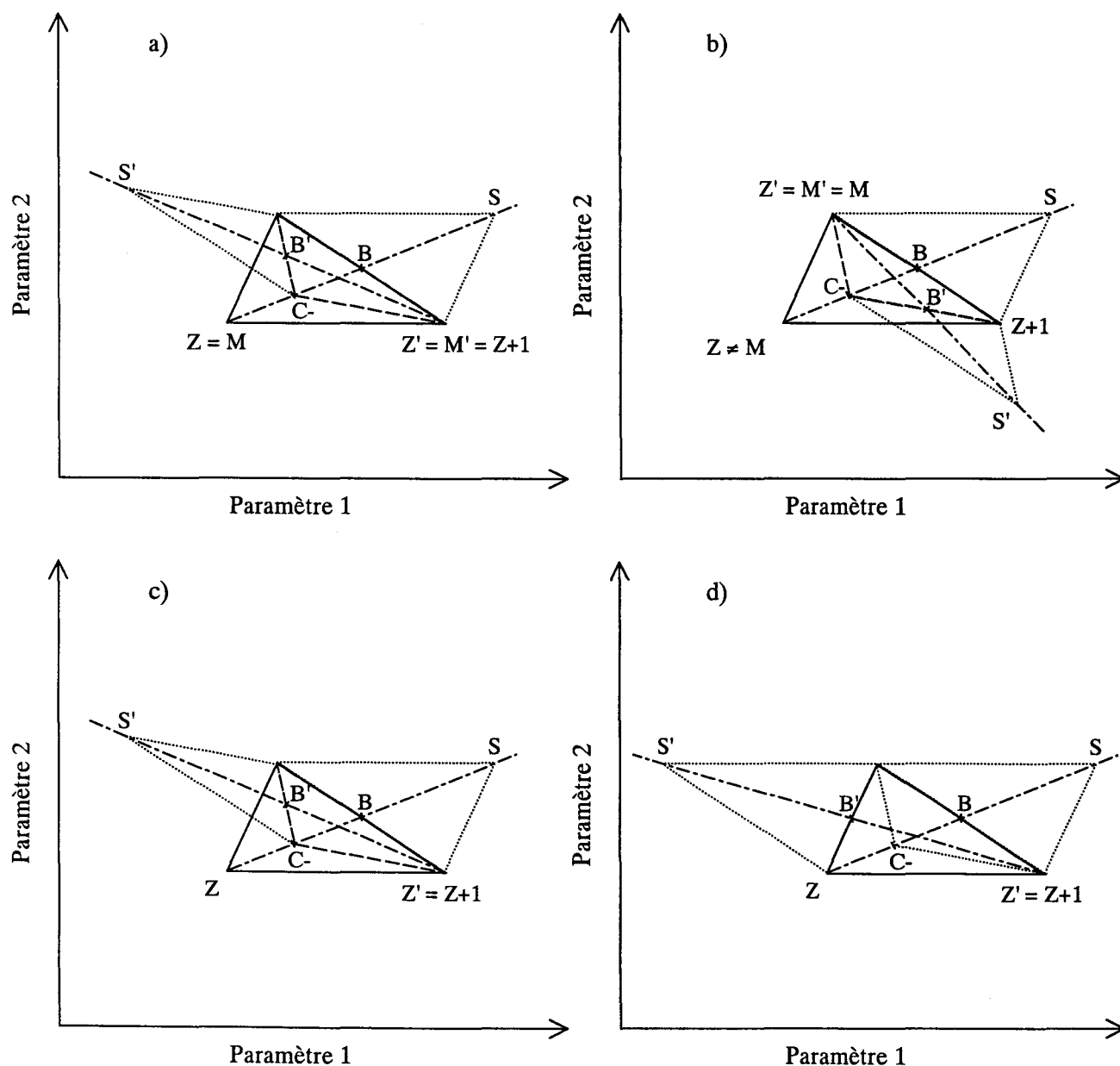


Figure 4 : Evolution du Simplex à 2 paramètres avec $r_s < r(z)$ ou S irréalisable : a) $r_{op} \geq r(z+1)$ et $Z = M$: C^- retenue, b) $r_{op} \geq r(z+1)$ et $Z \neq M$: C^- retenue, c) $r(z) \leq r_{op} < r(z+1)$: C^- retenue avec changement de direction, d) $r_{op} < r(z)$: Simplex inchangé mais changement de direction.

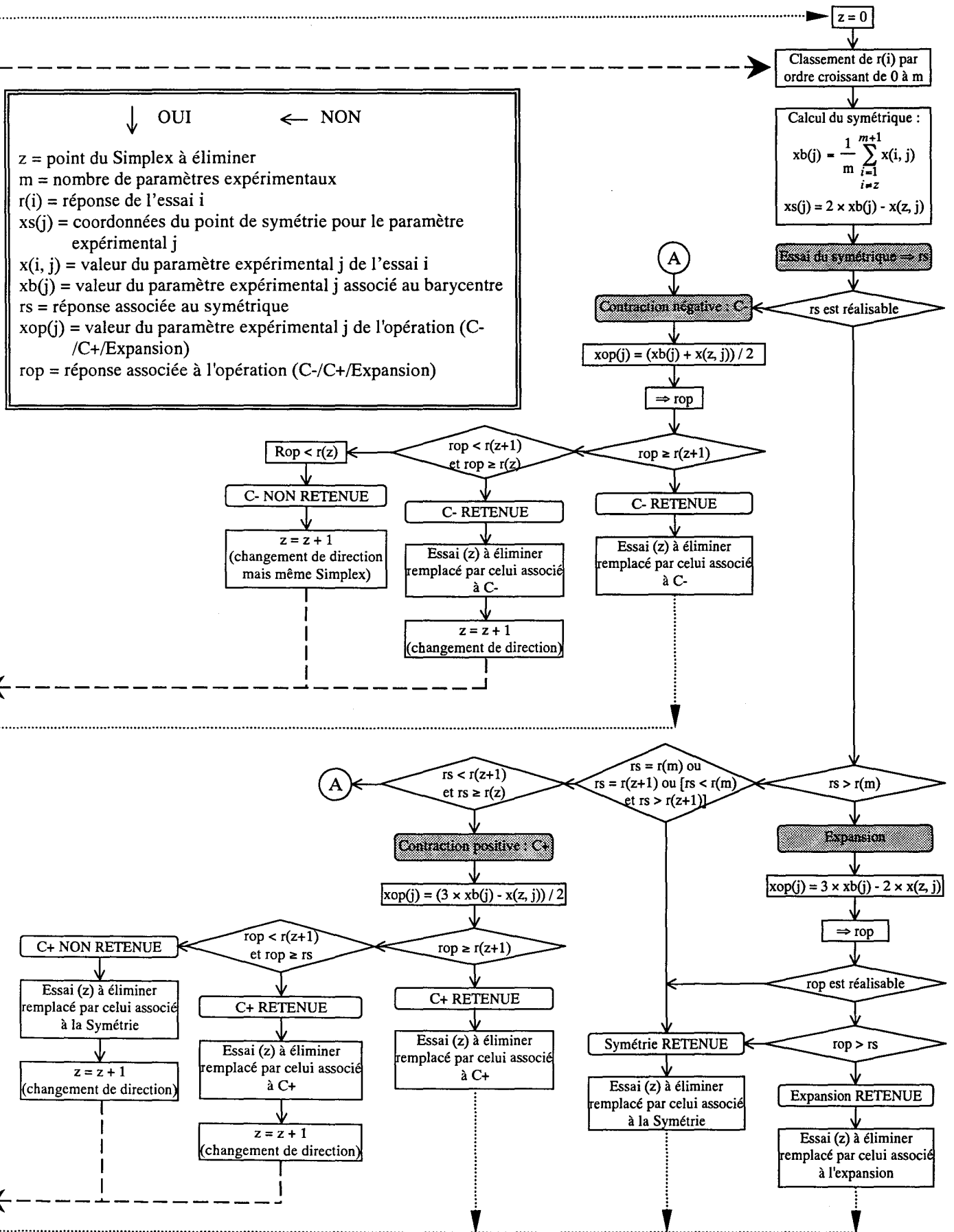


Figure 5 : Algorithme du programme en Visual basic concernant la méthode "Modified Simplex" de Nelder et Lead.

- Si $r_{op} < r(z)$: l'opération de contraction négative n'est pas retenue (figure 4d). Le nouveau Simplex demeure identique au précédent mais un changement de direction est réalisé. Le point Z+1 devient le point à éliminer dans le nouveau Simplex et la procédure est répétée à partir du § 1.1.2.1.

1.1.2.6. Arrêt de l'optimisation

La procédure est arrêtée lorsque les réponses du Simplex ne sont pas significativement différentes ou que le domaine expérimental du Simplex devient trop petit.

L'utilisation de l'informatique permet de rendre les calculs et le suivi des essais plus rapide et plus abordable. Aussi, nous avons développé un programme informatique en Visual basic, fonctionnant sous un tableur (annexe 3). L'algorithme représenté dans la figure 5, est utilisé dans notre programme et peut aussi servir pour une exploitation manuelle de la méthode Simplex.

1.2. Coefficient d'optimisation

La méthode Simplex est basée sur la comparaison et le classement des résultats obtenus entre plusieurs expériences. Par conséquent, son application nécessite de définir une fonction de réponse à partir de laquelle se fera l'optimisation. Afin de définir cette fonction, il est nécessaire de i) fixer les critères qui vont permettre de réorienter les expériences vers une optimisation, ii) vérifier que l'on progresse dans l'optimisation.

i) Ces critères sont choisis en fonction des objectifs de notre étude. L'objectif premier de ces travaux est de mettre en œuvre une méthode d'analyse qui permet de traiter une grande variété de composés présentant des propriétés physico-chimiques variées. Par conséquent, des paramètres expérimentaux d'extraction doivent être fixés afin d'obtenir un maximum de composés extraits ainsi que des taux de récupération optimaux pour une durée d'extraction courte et un volume de solvant réduit.

Aussi, l'élaboration de la fonction de réponse repose sur les critères suivants :

- le nombre de composés extraits (N),
- le taux de récupération moyen de l'ensemble des composés considérés,
- le volume total de solvant utilisé (V_{total}),
- la durée d'extraction (d),
- la dispersion des résultats (RSD).

ii) Des fonctions réponses chromatographiques ont été utilisées par divers auteurs pour optimiser des séparations de pics par la méthode Simplex [Holuigue C. 1990, Devys G. 1985, Berridge J.C. 1982]. Ces fonctions permettent de visualiser et de contrôler l'évolution de l'optimisation.

Dans la même optique, un coefficient d'optimisation (CO) est défini. Il jouera le même rôle que les fonctions réponses chromatographiques mais adapté à un protocole analytique relatif à une détermination chromatographique multi-résidus. Ce coefficient doit refléter les objectifs cités précédemment. Il est constitué de séries de nombres, chacun d'entre eux caractérisant un des critères à optimiser (5 dans le cas présent). Il se décompose comme suit :

$$CO = N 10^3 + RDTR + t 10^{-3} + V 10^{-5} + RSD 5 10^{-7} \quad (1)$$

avec :

N = nombre de composés extraits.

RDTR = Rendement relatif calculé soit en considérant les quantités introduites initialement pour un sol dopé, soit à partir de la concentration moyenne issue de l'essai n°1 dans le cas d'un sol réellement contaminé.

t = partie entière de $(999 - d \text{ (min.)})$, sachant que la durée d'extraction est inférieure à 496 minutes (5 cycles de 99 min. chacun au maximum).

V = partie entière de $(99 - V_{\text{total}} \text{ (mL)})$, sachant que le volume de solvant est $< 99 \text{ mL}$ (limitation liée au volume du flacon de collecte qui peut contenir 57 mL au maximum).

RSD5 = nombre de composés présentant une RSD $< 5 \%$.

On obtient alors un nombre constitué de 12 chiffres sous la forme : ## ###,### ## ##

Le classement des critères par ordre croissant d'importance et de priorité pour l'optimisation, est réalisé en fonction des objectifs précédemment fixés. La difficulté réside dans le choix des critères et de leur position au sein du CO (qui devra augmenter). L'ordre de succession des critères est primordial car le facteur situé le plus à gauche aura un poids maximum dans le CO. Ainsi, plus on se déplace vers la droite au sein du CO, plus l'influence du critère est mineur. Lorsque ces critères mineurs sont pris en considération, c'est que l'on peaufine la méthode et cela va dans le sens d'une optimisation maximale.

L'augmentation du CO doit traduire l'avancement de l'optimisation. Aussi, le calcul du facteur V se justifie par la nécessité d'utiliser un facteur qui doit augmenter mais qui traduit un paramètre expérimental qui, pour sa part, doit diminuer. Il en est de même pour le facteur t.

Lors de la progression de l'optimisation, le critère principal (N) va atteindre un maximum, puis la valeur liée au 2^{ième} critère (RDTR) et ainsi de suite pour les différents facteurs.

Le nombre de composés extraits doit être maximum afin de répondre aux impératifs de la méthode de balayage par spectrométrie de masse. Il sera donc considéré en premier. Les rendements d'extraction sont ensuite le critère déterminant dans une telle procédure. L'ordre choisi pour placer la durée d'extraction et le volume d'extrait est dicté par l'amplitude importante que peut prendre la durée d'une part et, par les faibles volumes de solvant utilisés d'autre part. Par conséquent, la durée d'extraction sera placée avant le volume total de l'extrait. Enfin, le critère RSD5 est choisi pour affiner l'optimisation, si il y a lieu d'être pris en considération.

Il ne faut pas confondre les paramètres d'optimisation cités précédemment (d, V_{total} , N, etc.), sur lesquels le calcul des CO est basé, avec les paramètres expérimentaux qui déterminent les coordonnées des différents points constituant le Simplex. Ces paramètres expérimentaux sont choisis d'après les caractéristiques de la méthode d'extraction : la pression (P) et la température (T) appliquées lors de l'extraction ainsi que le volume du solvant d'extraction utilisé lors de l'étape dynamique ($Vol_{\text{dyn.}}$), la durée de l'étape statique ($t_{\text{stat.}}$) et le nombre de cycle, constituent les 5 paramètres expérimentaux retenus. Le Simplex sera par conséquent constitué de 6 points.

2. OPTIMISATION DES CONDITIONS D'EXTRACTION SUR SOL DOPE

2.1. Réseau initial

La méthode d'optimisation Simplex est utilisée pour trouver les conditions expérimentales optimales pour l'extraction des composés de nature chimique variée : 26 analytes répartis dans

13 familles différentes. Un échantillon de sol dopé est utilisé afin de réunir toutes ces classes de composés dans une matrice unique et d'étudier ainsi un large domaine de comportement physico-chimique en une seule extraction. Les caractéristiques physico-chimiques du sol sont regroupées dans le tableau 4 du chapitre II (sol n°1).

Les contraintes liées au système d'extraction nécessitent de délimiter un domaine expérimental pour les conditions opératoires (tableau 1). Les points expérimentaux constituant les différents Simplex évolueront à l'intérieur de ce domaine.

Le réseau initial du Simplex comprend 6 essais pour 5 paramètres expérimentaux (tableau 2).

Dans la méthode séquentielle du Simplex (de Spendley), les pas ΔX sont fixes tout au long de la procédure. Ils doivent être choisis de manière à avoir une variation de la réponse du même ordre de grandeur, quel que soit le paramètre changé [Porte C. *et al.* 1984]. Ceci est imposé par la forme géométrique régulière que doit avoir le réseau du Simplex séquentiel. Or dans la méthode utilisant le pas variable (méthode Nelder et Mead), la forme géométrique du Simplex varie au cours des différentes opérations (contraction, expansion, etc.). Sa forme est irrégulière. Pour le réseau initial du Simplex, nous pouvons donc nous imposer un pas, indépendamment des variations de réponses. De plus, nous pouvons nous affranchir du calcul de p et q et des coordonnées réduites. En effet, les calculs des coordonnées des points du Simplex issus des opérations tel que le symétrique, peuvent être réalisés en coordonnées réelles avec les mêmes formules que celles employées en coordonnées réduites (cf. démonstration pour l'opération de symétrie en annexe 4).

Par conséquent, nous fixons uniquement l'essai de base et le pas pour chaque paramètre. La matrice expérimentale du réseau initial ainsi définie, présente une forme particulière qui n'est pas couramment rencontrée (tableau 3); même dans la méthode à pas variables qui s'appuie généralement sur la technique du Simplex séquentiel pour la construction du r.i.

L'avantage d'utiliser ce type de matrice pour le réseau initial (tableau 3) est le suivant : l'essai n°1 présente des caractéristiques initiales pour lesquelles nous faisons varier un paramètre à la fois à chaque nouvel essai du r.i.. Nous pouvons dans une certaine mesure évaluer l'influence individuelle de chaque paramètre sur l'amélioration des rendements d'extraction, en comparant l'évolution de ces derniers, de l'essai n°1 à l'essai considéré où nous avons modifié le paramètre. Ceci est plus facile à mettre en évidence lorsque l'écart des valeurs prises par le paramètre est important et/ou lorsque le r.i. est placé aux limites du domaine expérimental.

Par contre, il est exclu dans ce type de démarche (et à ce stade du Simplex) d'évaluer les conséquences liées aux variations de plusieurs paramètres en même temps, c'est à dire l'influence liée aux interactions de paramètres. Ici, les plans d'expériences factoriels se montrent plus appropriés pour remplir ce rôle. Cependant, les sols étant des matrices complexes hétérogènes tellement disparates que l'intérêt pour ce genre de démarche est très limité car le rôle et le comportement de chaque paramètre expérimental ou d'interactions de paramètres (surtout pour ces dernières) va dépendre fortement de la matrice sol et donc de l'origine et de l'évolution de celle-ci au sein de son écosystème (chapitre I).

Tableau 1 : Conditions expérimentales limites.

	P (psi)	T (°C)	Vol _{dyn.} (%)	t _{stat.} (min.)	Cycles
Minimum	500	50	5	1	1
Maximum	3000	200	150	99	5
Pas	50	5	5	1	1

Tableau 2 : Matrice expérimentale théorique.

Essai	Simplex	P (psi)	T (°C)	Vol _{dyn.} (%)	t _{stat.} (min.)	Cycles
1	r.i.	2000	100	60	5	1
2	r.i.	2000 + p ΔP	100 + q ΔT	60 + q ΔV	5 + q Δt	1 + q ΔC
3	r.i.	2000 + q ΔP	100 + p ΔT	60 + q ΔV	5 + q Δt	1 + q ΔC
4	r.i.	2000 + q ΔP	100 + q ΔT	60 + p ΔV	5 + q Δt	1 + q ΔC
5	r.i.	2000 + q ΔP	100 + q ΔT	60 + q ΔV	5 + p Δt	1 + q ΔC
6	r.i.	2000 + q ΔP	100 + q ΔT	60 + q ΔV	5 + q Δt	1 + p ΔC

Tableau 3 : Matrice expérimentale initiale.

Essai	Simplex	P (psi)	T (°C)	Vol _{dyn.} (%)	t _{stat.} (min.)	Cycles
1	r.i.	2000	100	60	5	1
2	r.i.	2500	100	60	5	1
3	r.i.	2000	150	60	5	1
4	r.i.	2000	100	110	5	1
5	r.i.	2000	100	60	10	1
6	r.i.	2000	100	60	5	3

2.2. Résultats et discussion

Les tableaux 4 à 6 regroupent les données et les paramètres conduisant au calcul des CO pour l'ensemble des essais. Le critère RDTR dans le CO, est calculé à partir des quantités connues d'analytes introduites lors du dopage. Par ailleurs, les rendements moyens sont plafonnés à 100 % pour chacun des composés. Ainsi, lorsque la moyenne globale est calculée, aucune déviation du résultat ne sera générée par une valeur excessive d'un rendement moyen. Toutefois, la corrélation entre les moyennes globales non plafonnées et celles qui le sont, est vérifiée ($r^2 = 0,9574$).

L'évolution du Simplex est résumé dans le tableau 7. Comme nous l'avons vu précédemment, l'application de la méthode Simplex conduit à la détermination de nouvelles conditions opératoires définissant ainsi chaque nouvel essai. Cependant, les conditions issues des calculs ne sont pas toujours réalistes (valeurs négatives par exemple) ou applicables pour des raisons de paramétrage du système d'extraction. Dans ce dernier cas, des valeurs proches de celles proposées sont alors exploitées (tableau 8). Les divers calculs impliqués dans l'évolution du Simplex (calculs du barycentre, du point de symétrie, etc.), prennent en considération les valeurs réellement appliquées.

Tableau 4 : Réseau initial du Simplex - Rendements de récupération (RDT) et dispersions de résultats (SD et RSD) obtenus pour les 26 composés extraits du sol dopé (exprimés en %, n=5).

Composé \ Essai	1			2			3			4			5			6			Variation	
	RDT	SD	RSD	RDT	SD	RSD	RDT	SD	RSD	RDT	SD	RSD	RDT	SD	RSD	RDT	SD	RSD	RDT	RSD
1,4-Dichlorobenzène	101	4	4	101	3	3	102	2	2	100	3	3	101	0	0	98	4	5	100	3
o-Crésol	79	9	12	86	12	14	89	8	9	99	9	9	100	6	6	71	6	9	87	10
n-Nitrosodi-n-propylamine	100	4	4	102	18	18	98	10	10	86	13	15	96	14	15	100	11	11	97	12
3-Nitrotoluène	106	7	7	99	3	3	102	7	6	98	7	7	96	3	3	97	7	7	100	6
4-Chloro Aniline	102	15	14	106	9	9	21	6	31	72	20	28	68	20	30	33	4	11	67	20
C12	99	2	2	97	3	3	97	1	1	98	1	1	96	2	2	98	3	3	97	2
4'-Méthylpropiophénone	97	3	3	101	8	8	99	2	2	101	3	3	94	4	4	97	6	6	98	4
1-Méthyl Naphtalène	97	2	2	98	2	2	95	2	2	95	1	1	97	1	1	102	5	5	97	2
4-Chloro-3-Méthylphénol	98	7	7	100	7	7	98	3	3	102	4	4	98	3	3	81	2	2	96	4
Biphényl	99	2	2	99	4	4	97	2	2	98	2	2	97	1	1	101	5	5	99	3
Diphényl éther	102	3	3	104	4	4	101	3	3	102	2	2	101	1	1	102	4	4	102	3
Dibenzofurane	101	3	3	103	5	5	99	4	4	98	2	2	97	3	3	101	6	6	100	4
4-Chloro-2-Nitro Aniline	103	13	12	93	14	15	92	15	16	100	12	12	92	6	7	102	9	8	97	12
n-Nitrosodiphénylamine	94	3	4	99	5	5	84	22	26	98	8	8	95	8	8	99	4	4	95	9
Hexachlorobenzène	88	4	5	86	5	5	90	1	1	89	2	2	88	3	4	83	5	6	87	4
Phytane	85	3	4	80	4	4	84	2	2	87	3	4	83	2	3	80	2	2	83	3
PCP	103	8	8	81	3	4	66	5	7	71	8	11	79	6	8	86	2	3	81	7
CB28 (2,4,4')	90	2	2	91	3	3	95	1	2	93	2	2	90	2	2	90	4	4	91	2
Di-n-butyl phtalate	94	5	5	103	7	7	102	4	4	102	4	4	97	3	3	98	4	4	99	5
Méthyl heptadécanoate	100	2	2	100	4	4	104	5	5	102	3	3	99	2	2	100	1	1	101	3
CB156 (2,3,3',4,4',5)	94	4	4	92	2	2	98	7	7	97	4	4	96	3	3	101	1	1	96	4
CB180 (2,2',3,4,4',5,5')	95	3	4	90	1	2	98	8	8	96	6	6	97	2	2	100	3	3	96	4
Di-n-octyl phtalate	97	7	7	97	7	7	104	8	7	104	9	9	99	2	2	105	5	5	101	6
Benzo(a)Pyrène	101	2	2	100	1	1	101	3	3	100	1	1	97	4	4	102	4	4	100	3
C30	101	10	10	93	4	4	101	5	5	97	5	5	99	3	3	96	4	4	98	5
Indeno(1,2,3-cd)Pyrène	101	3	3	102	3	3	102	3	3	100	2	2	99	2	2	99	4	4	101	3
Moyenne	97	5		96	5		93	5		96	5		94	4		93	4			
RSD (%)	5			6			6			5			4			5				
RDTR (%)	96			95			92			95			94			92				
Nb. de composés RSD < 5 %	18			17			16			17			20			16				

Tableau 5 : Essais complémentaires - Rendements de récupération (RDT) et dispersions de résultats (SD et RSD) obtenus pour les 26 composés extraits du sol dopé (exprimés en %, n=5).

Composé \ Essai	8			9			10		
	RDT	SD	RSD	RDT	SD	RSD	RDT	SD	RSD
1,4-Dichlorobenzène	96	9	10	88	4	5	92	3	3
o-Crésol	83	10	12	106	9	9	90	10	12
n-Nitrosodi-n-propylamine	105	9	9	91	7	8	103	5	5
3-Nitrotoluène	105	7	6	97	9	9	101	5	5
4-Chloro Aniline	94	9	10	101	14	14	99	4	4
C12	100	2	2	95	2	2	94	1	1
4'-Méthylpropiophénone	109	11	10	91	7	8	100	5	5
1-Méthyl Naphtalène	100	1	1	102	3	3	99	2	2
4-Chloro-3-Méthylphénol	104	9	8	103	5	5	103	6	6
Biphényl	99	3	3	100	2	2	100	2	2
Diphényl éther	100	2	2	99	2	2	98	3	3
Dibenzofurane	100	2	2	103	2	2	98	3	3
4-Chloro-2-Nitro Aniline	106	9	8	104	6	6	107	12	11
n-Nitrosodiphénylamine	100	5	5	100	6	6	102	6	6
Hexachlorobenzène	96	5	5	80	4	5	84	5	6
Phytane	95	3	3	79	3	3	83	3	3
PCP	83	8	9	85	3	4	53	7	13
CB28 (2,4,4')	101	2	2	83	3	3	86	1	2
Di-n-butyl phtalate	105	6	6	89	6	6	102	6	5
Méthyl heptadécanoate	103	5	5	92	7	8	99	2	2
CB156 (2,3,3',4,4',5)	94	7	8	87	5	5	94	5	6
CB180 (2,2',3,4,4',5,5')	81	3	4	86	7	8	89	6	7
Di-n-octyl phtalate	97	4	4	98	7	7	103	5	4
Benzo(a)Pyrène	104	8	7	98	8	8	105	6	5
C30	101	6	6	88	7	8	100	3	3
Indeno(1,2,3-cd)Pyrène	103	6	6	97	6	6	103	5	5
Moyenne	99	6		94	5		96	5	
RSD (%)	6			6			5		
RDTR (%)	97			93			94		
Nb. de composés RSD < 5 %	12			10			16		

Tableau 6 : Paramètres conduisant au calcul des coefficients d'optimisation (CO) (n=5).

Essai	Nb de Composés	RDTR (%)	d (min.)	V _{total} (mL)	Nb de composés dont RSD < 5 %	CO	RSD _{Récup.} (%)
1	26	96	16	18	18	26096,9838118	5
2	26	95	15	19	17	26095,9848017	6
3	26	92	17	18	16	26092,9828116	6
4	26	95	16	24	17	26095,9837517	5
5	26	94	20	16	20	26094,9798320	4
6	26	92	25	18	16	26092,9748116	5
8	26	97	24	19	12	26097,9758012	6
9	26	93	18	17	10	26093,9818210	6
10	26	94	17	17	16	26094,9828216	5

Tableau 7 : Evolution du Simplex pour un sol dopé (n=5).

Essai	Opération	Simplex	CO	Paramètres calculés				
				P (psi)	T (°C)	Vol _{dvn.} (%)	t _{stat.} (min.)	Cycles
1	r.i.	1/2/3/4/5/6	26096,9838118	-	-	-	-	-
2	r.i.	1/2/3/4/5/6	26095,9848017	-	-	-	-	-
3	r.i.	1/2/3/4/5/6	26092,9828116	-	-	-	-	-
4	r.i.	1/2/3/4/5/6	26095,9837517	-	-	-	-	-
5	r.i.	1/2/3/4/5/6	26094,9798320	-	-	-	-	-
6	r.i.	1/2/3/4/5/6	26092,9748116	-	-	-	-	-
7	S	6/3/5/4/2/1	i	2200	120	80	7	-1,0
8	C-	6/3/5/4/2/1	26097,9758012	2050	105	65	6	2,0
9	S	3/5/4/2/1/8	26093,9818210	2220	52	82	7	1,4
10	C+	3/5/4/2/1/8	26094,9828216	2165	77	77	7	1,3
11	S	5/10/4/2/1/8		2280	92	88	1	1,4

r.i. : réseau initial

i : essai irréalisable

Tableau 8 : Paramètres expérimentaux réellement appliqués.

Essai	Opération	P (psi)	T (°C)	Vol _{dvn.} (%)	t _{stat.} (min.)	Cycles
1	r.i.	2000	100	60	5,0	1
2	r.i.	2500	100	60	5,0	1
3	r.i.	2000	150	60	5,0	1
4	r.i.	2000	100	110	5,0	1
5	r.i.	2000	100	60	10,0	1
6	r.i.	2000	100	60	5,0	3
7	S	2200	120	80	7,0	-1
8	C-	2050	105	65	6,0	2
9	S	2200	50	80	7,0	1
10	C+	2150	75	75	7,0	1

L'étude des variations de rendements sur l'ensemble des 6 essais du r.i., permet de mettre en avant la diversité des comportements rencontrés pour chaque composé (tableau 4). Ces comportements dépendent des propriétés physico-chimiques de chacun des analytes.

Par exemple, certains composés tels que le 1,4-Dichlorobenzène, le Biphényl ou le Diphényl éther, présentent des rendements élevés et des RSD faibles quel que soit l'essai considéré. Ils sont moins influencés par les variations des conditions opératoires appliquées. Au contraire, des composés tels que la 4-Chloro Aniline ou le PCP, sont plus sensibles à ces variations qui sont relativement faibles au vu du domaine expérimental utilisé. La 4-Chloro Aniline subit une chute notable de rendement à l'essai 3. Ceci peut être attribué à une éventuelle dégradation du composé suite à l'application d'une température excessive (150 °C). Toutefois, cet effet négatif de la température peut s'avérer positif pour d'autres analytes (CB28 par exemple).

D'autre part, la multiplication du nombre de cycles semble avoir un effet négatif sur les rendements de certains composés polaires (o-Crésol, 4-Chloro Aniline, 4-Chloro-3-Méthylphénol).

Le réseau initial fournit déjà des taux de récupération globalement élevés. En effet, nous nous sommes placés dans des conditions opératoires très favorables dès le départ, suite aux essais préliminaires (chapitre II). Les essais suivants confirment les résultats obtenus avec le réseau initial.

D'autre part, nous savons que l'utilisation de sol dopé traduit mal la capacité d'extraction d'une méthode mais plutôt l'aptitude à récupérer les analytes.

Les conditions optimales sont obtenues avec l'essai 8. L'essai 1 classé juste avant, présente un rendement de récupération légèrement inférieur à l'essai 8. Si nous considérons leurs conditions opératoires respectives, nous constatons qu'elles sont très proches. Elles varient d'une valeur égale au pas, quel que soit le paramètre considéré.

Par conséquent, il apparaît inutile de continuer plus loin les investigations au niveau du Simplex avec une matrice artificiellement contaminée.

L'avantage d'utiliser la méthode Simplex est de pouvoir évaluer les résultats les uns après les autres et de pouvoir réorienter les travaux au fur et à mesure, si nécessaire. C'est ici le cas puisqu'il apparaît peu utile de continuer le Simplex.

Les plans d'expériences nous auraient pris encore plus de temps pour un résultat peu différent. En effet, puisque nous utilisons des sols dopés, il n'est pas utile d'étudier les interactions des différents paramètres expérimentaux (P, T, Vol_{dyn.}, etc.) sachant que l'importance de chacun de ces paramètres ne sera pas représentative de leur véritable comportement avec un sol réellement contaminé.

De plus, les plans d'expériences factoriels complets impliquent de réaliser un minimum de 2^k expériences, avec k correspondant au nombre de paramètres. Soit 32 essais pour les 5 paramètres expérimentaux (avec un minimum de 5 répétitions et un blanc par essai, soit 192 extractions).

Sachant que pour obtenir les résultats pour un essai, il faut :

- préparation et extraction (pour les 5 répétitions et le blanc d'extraction d'un essai) : de 2 h 30 à 3 h 30.
- concentration : environ 4 h (pour les 6 répétitions d'un essai).
- acétylation : 6 h.
- acquisition et exploitation des chromatogrammes : 35 h (28 injections de 75 min. par séquence).

Par conséquent, de 47 h à 49 h sont nécessaires pour obtenir une réponse pour un essai, soit 6 jours ou 1 semaine.

Pour un plan d'expériences complet, 32 essais nécessiteraient 32 semaines, soit environ 8 mois; contre 10 semaines pour le Simplex, soit 2,5 mois.

Un plan factoriel fractionné est envisageable afin de réduire le nombre des expériences. Cependant, les effets calculés sont aliasés c'est à dire mélangés aux interactions. Aussi, des hypothèses de travail supplémentaires de celles émises pour le modèle mathématique, doivent être avancées pour l'interprétation des résultats. Ce type de plan réduirait au maximum le nombre d'essais à 8 (2^{5-3}) alors que nous en avons réalisé seulement deux de plus par la technique du Simplex. Cette réduction est effective dans le meilleur des cas, elle ne tient pas compte de l'éventuelle nécessité d'un plan d'expériences complémentaire. Par ailleurs, la confirmation du modèle trouvé doit encore être faite, ce qui implique des essais supplémentaires.

Dans notre cas, il est incontestable que la méthode Simplex est la plus adaptée à ce type de démarche d'optimisation.

2.3. Conclusion

Ce premier volet relatif à l'étude d'un sol dopé par la technique du Simplex, nous a permis de vérifier pour la méthode de balayage par spectrométrie de masse que :

- la méthodologie fixée permet de récupérer une large plage de polarité,
- l'emploi de sol dopé fournit des résultats avec de faibles dispersions (homogènes),
- la température d'injecteur n'a pas dégradé les analytes étudiés.

Par contre, la température d'extraction peut entraîner des dégradations de composés. Elle constitue donc une limitation à la méthode étudiée.

De plus, nous avons constaté que la diversité des propriétés physico-chimiques rencontrées entraîne des comportements différents vis à vis de l'extraction. Des effets antagonistes peuvent alors être rencontrés envers un même paramètre.

3. OPTIMISATION DES CONDITIONS D'EXTRACTION SUR SOL REELLEMENT CONTAMINE

L'application de la technique du Simplex à un sol réellement contaminé (sol n°3) permet d'éprouver d'une part, cette technique d'optimisation et d'autre part, la méthode de balayage par spectrométrie de masse, sur une matrice complexe liant des interactions variées avec les composés organique. Le sol employé est de type limoneux (§ 4.1. tableau 17).

3.1. Réseau initial

Lors de l'étude sur sol dopé, le nombre de répétitions était fixé à 5. Il était nécessaire d'effectuer ce type d'approche afin d'une part, de pouvoir traiter statistiquement les résultats et d'autre part, d'obtenir un résultat moyen suffisamment précis pour chaque essai car les coefficients d'optimisation calculés étaient très proches. Néanmoins, ce nombre élevé de points par essai s'est avéré en fin de compte peu adapté aux spécificités du protocole analytique de balayage par spectrométrie de masse qui est long. De plus, cette approche apparaît coûteuse pour les laboratoires de contrôle en situation d'optimisation.

Pour le sol réellement contaminé, nous allons aborder d'une autre manière l'étude, en exploitant un des avantages intrinsèque à la méthode Simplex : à savoir la pondération de chaque résultat obtenu par ceux des autres points du Simplex. De plus, l'autocorrection des erreurs de résultats se fait lors de la réorientation du Simplex après chaque nouveau point. Aussi, nous réaliserons uniquement deux répétitions par essai.

Les conditions opératoires limites sont les mêmes que précédemment (tableau 1). Nous allons nous placer aux extrémités du domaine expérimental avec un pas important afin d'opérer par contractions successives, ce qui nous assurera d'atteindre un optimum. La matrice expérimentale initiale est représentée dans le tableau 9.

Tableau 9 : Matrice expérimentale initiale.

Essai	Simplex	P (psi)	T (°C)	Vol _{dyn.} (%)	t _{stat.} (min.)	Cycles
1	r.i.	500	50	5	1	1
2	r.i.	3000	50	5	1	1
3	r.i.	500	200	5	1	1
4	r.i.	500	50	150	1	1
5	r.i.	500	50	5	99	1
6	r.i.	500	50	5	1	5

3.2. Résultats et discussion

Dans le cas du sol réellement contaminé, il est impossible de déterminer la valeur 100 % pour le taux de récupération puisque nous ne connaissons pas les niveaux de contamination. Par conséquent, le critère RDTR est calculé en prenant comme référence le taux de récupération moyen obtenu avec l'essai 1 (tableaux 10 et 11). De plus, il est nécessaire d'établir une liste de composés à partir desquels se fera la quantification relative. Ainsi tout au long de l'évolution du Simplex, les taux de récupération moyens seront basés sur des références identiques et pourront alors être comparés.

Le critère N est déterminé en ne considérant que les composés identifiés avec un facteur de qualité ≥ 85 % (cf. tableau en annexe 5). Ainsi, nous effectuons l'identification selon la procédure de balayage définie dans le chapitre III.

Tableau 10 : Réseau initial du Simplex - Quantités (Q en mg.kg⁻¹) et dispersions de résultats (RSD en %) obtenues pour 8 composés extraits du sol réellement contaminé.

Composé \ Essai	1		2		3		4		5		6	
	Q	RSD	Q	RSD	Q	RSD	Q	RSD	Q	RSD	Q	RSD
1,3,5-Triméthylbenzène	0,087	11,3	0,077	15,3	0,604	24,4	0,115	31,5	0,122	22,6	0,138	1,6
Naphtalène	0,249	12,9	0,169	23,0	1,334	0,4	0,372	4,4	0,433	9,3	0,411	22,2
Phénanthrène	0,190	2,6	0,167	4,1	0,558	6,2	0,218	11,0	0,274	5,2	0,244	1,0
Fluoranthène	0,260	4,4	0,221	0,0	0,367	3,0	0,302	11,3	0,354	2,5	0,339	4,1
Pyrène	0,159	13,3	0,144	0,7	0,202	6,2	0,155	2,6	0,189	5,1	0,181	10,8
Chrysène	0,197	10,0	0,174	6,2	0,243	0,6	0,227	11,8	0,238	3,9	0,252	10,9
Benzo(b+k)Fluoranthène	0,204	16,4	0,137	0,0	0,223	11,3	0,250	16,3	0,200	0,3	0,244	4,4
Benzo(a)Pyrène	0,202	1,5	0,109	0,9	0,266	5,4	0,215	0,7	0,176	8,0	0,213	13,0
Moyenne	0,194		0,150		0,475		0,232		0,248		0,253	
RSD (%)	9		6		7		11		7		8	
RDTR (%)	100		77		245		120		128		131	
Nb. de composés RSD < 5 %	3		5		3		3		3		4	

Tableau 11 : Essais complémentaires - Quantités (Q en mg.kg⁻¹) et dispersions de résultats (RSD en %) obtenues pour 8 composés extraits du sol réellement contaminé.

Composé \ Essai	8		9		10		12		14	
	Q	RSD	Q	RSD	Q	RSD	Q	RSD	Q	RSD
1,3,5-Triméthylbenzène	0,151	10,4	0,616	2,5	1,820	12,8	0,194	6,3	0,269	4,5
Naphtalène	0,406	9,8	1,789	6,9	3,439	6,0	0,731	6,5	0,891	5,4
Phénanthrène	0,296	4,1	0,803	3,1	0,939	6,3	0,376	1,3	0,479	1,2
Fluoranthène	0,323	0,4	0,611	11,1	0,532	1,9	0,381	7,7	0,441	6,1
Pyrène	0,225	8,9	0,325	3,7	0,317	4,1	0,241	14,3	0,274	1,3
Chrysène	0,295	3,7	0,371	5,5	0,321	3,5	0,241	4,7	0,249	11,4
Benzo(b+k)Fluoranthène	0,294	4,9	0,427	1,5	0,388	5,5	0,305	0,0	0,338	0,5
Benzo(a)Pyrène	0,242	0,1	0,414	10,9	0,260	6,1	0,225	9,9	0,182	5,2
Moyenne	0,279		0,670		1,002		0,337		0,390	
RSD (%)	5		6		6		6		4	
RDTR (%)	144		346		517		174		202	
Nb. de composés RSD < 5 %	5		4		3		3		4	

Composé \ Essai	16		18		20		22		24	
	Q	RSD	Q	RSD	Q	RSD	Q	RSD	Q	RSD
1,3,5-Triméthylbenzène	0,275	1,2	0,264	8,9	0,244	1,5	0,281	2,1	0,253	10,9
Naphtalène	0,647	8,8	0,711	1,4	0,471	2,6	1,149	8,6	1,243	2,4
Phénanthrène	0,491	11,1	0,678	0,2	0,567	5,7	0,591	16,4	0,567	12,1
Fluoranthène	0,464	8,6	0,623	0,8	0,499	3,5	0,577	12,8	0,472	15,7
Pyrène	0,293	13,3	0,360	5,2	0,292	1,6	0,313	5,3	0,293	7,5
Chrysène	0,242	11,9	0,290	13,2	0,128	0,4	0,387	16,5	0,284	13,7
Benzo(b+k)Fluoranthène	0,367	5,6	0,335	6,1	0,342	1,9	0,344	1,9	0,359	2,4
Benzo(a)Pyrène	0,178	19,3	0,191	8,9	0,154	4,6	0,281	6,6	0,168	0,4
Moyenne	0,369		0,431		0,337		0,491		0,455	
RSD (%)	10		6		3		9		9	
RDTR (%)	191		223		174		253		235	
Nb. de composés RSD < 5 %	1		3		7		2		3	

Composé \ Essai	25		27		28		30		32	
	Q	RSD	Q	RSD	Q	RSD	Q	RSD	Q	RSD
1,3,5-Triméthylbenzène	1,428	5,9	2,554	0,3	3,641	8,0	0,628	34,5	0,575	18,0
Naphtalène	3,082	7,5	2,809	9,5	2,014	3,0	1,971	24,8	1,620	0,1
Phénanthrène	0,577	6,9	0,786	8,2	0,531	10,6	0,624	6,9	0,722	2,3
Fluoranthène	0,474	2,4	0,375	14,2	0,346	11,8	0,543	8,3	0,511	10,8
Pyrène	0,268	3,0	0,262	6,5	0,194	5,8	0,355	20,9	0,443	4,5
Chrysène	0,333	13,4	0,291	15,8	0,243	6,8	0,381	5,4	0,357	4,6
Benzo(b+k)Fluoranthène	0,450	2,5	0,387	2,0	0,316	4,4	0,366	15,0	0,359	2,1
Benzo(a)Pyrène	0,256	3,7	0,217	6,8	0,251	5,2	0,210	21,9	0,291	2,9
Moyenne	0,859		0,960		0,942		0,635		0,610	
RSD (%)	6		8		7		17		6	
RDTR (%)	443		496		487		328		315	
Nb. de composés RSD < 5 %	4		2		2		0		6	

Composé \ Essai	33		34		35		36		38	
	Q	RSD	Q	RSD	Q	RSD	Q	RSD	Q	RSD
1,3,5-Triméthylbenzène	5,742	3,0	0,927	12,2	0,244	8,2	2,173	18,3	1,254	15,1
Naphtalène	3,217	2,1	2,056	14,3	0,527	4,9	1,696	2,5	2,153	8,5
Phénanthrène	0,928	1,9	0,914	4,6	0,499	11,2	0,756	4,4	0,815	3,9
Fluoranthène	0,546	5,3	0,741	8,3	0,365	6,9	0,270	7,0	0,506	4,9
Pyrène	0,248	2,5	0,307	3,3	0,266	44,1	0,201	22,3	0,275	13,8
Chrysène	0,403	1,3	0,390	10,3	0,327	19,6	0,356	7,3	0,388	9,4
Benzo(b+k)Fluoranthène	0,482	3,9	0,359	1,9	0,361	1,9	0,355	8,7	0,367	4,3
Benzo(a)Pyrène	0,267	5,2	0,183	8,5	0,109	10,4	0,135	6,8	0,151	8,9
Moyenne	1,479		0,735		0,337		0,743		0,739	
RSD (%)	3		8		10		10		9	
RDTR (%)	764		379		174		384		381	
Nb. de composés RSD < 5 %	6		3		2		2		3	

Les tableaux 12 à 14 regroupent respectivement les paramètres conduisant au calcul des CO, les opérations décrivant l'évolution du Simplex et les paramètres expérimentaux réellement appliqués.

Tableau 12 : Paramètres conduisant au calcul des coefficients d'optimisation (CO).

Essai	Nb de Composés	RDTR (%)	d (min.)	V _{total} (mL)	Nb de composés dont RSD < 5 %	CO	RSD _{Récup.} (%)
1	8	100	11	9	3	8100,9889003	9
2	7	77	11	7	5	7077,9889205	6
3	19	245	15	9	3	19245,9849003	7
4	10	120	12	23	3	10120,9877603	11
5	10	128	110	11	3	10128,8898803	7
6	10	131	16	37	4	10131,9836204	8
8	15	144	21	14	5	15144,9788505	5
9	19	346	144	53	4	19346,8554604	6
10	17	517	209	45	3	17517,7905403	6
12	10	174	43	38	3	10174,9566103	6
14	16	202	125	42	4	16202,8745704	4
16	16	191	50	47	1	16191,9495201	10
18	15	223	53	34	3	15223,9466503	6
20	16	174	49	17	7	16174,9508207	3
22	15	253	55	32	2	15253,9446702	9
24	14	235	57	28	3	14235,9427103	9
25	19	443	58	19	4	19443,9418004	6
27	19	496	97	35	2	19496,9026402	8
28	18	487	67	16	2	18487,9328302	7
30	17	328	68	30	0	17328,9316900	17
32	17	315	102	41	6	17315,8975806	6
33	15	764	100	50	6	15764,8994906	3
34	17	379	77	31	3	17379,9226803	8
35	14	174	253	38	2	14174,7466102	10
36	18	384	54	40	2	18384,9455902	10
38	17	381	91	36	3	17381,9086303	9

Le domaine expérimental étant plus large que dans le cas du sol dopé, le nombre d'essais pour parvenir à l'optimum est plus élevé que précédemment.

L'examen des RDTR dans le r.i. (tableau 10) confirme la remarque précédemment faite avec le sol dopé, concernant l'amélioration globale des taux de récupération par accroissement de la température d'extraction. L'effet de ce paramètre n'est donc pas négligeable. Par contre, il est difficile de tirer des conclusions sur les effets des autres paramètres car les RDTR trouvés sont relativement proches si nous tenons compte de leur RSD.

L'évolution du Simplex présente plusieurs changements de direction. Notamment, le dernier Simplex (32/34/3/9/25/27) demeure inchangé après plusieurs opérations (tableau 13). Ceci traduit des changements de direction successifs sans élimination de point du Simplex. Nous tournons donc tout autour d'un même Simplex sans pouvoir trouver de meilleur point. D'autre part, le point à éliminer au stade où nous nous sommes arrêté, est le 5^{ème} point du Simplex, c'est-à-dire l'essai 25. Or cet essai possède un CO très proche du CO maximum et une valeur de N correspondant au maximum de composés trouvés sur l'ensemble des essais. De plus, même les CO les plus élevés trouvés sur l'ensemble des essais, sont pour la plus grande partie, intégrés au Simplex. Seuls 2 essais n'appartiennent pas au Simplex final (tableau 15). Nous pouvons donc en déduire que la zone d'optimum est relativement bien encadrée. D'autre part, le Simplex final présente des CO très proches, par conséquent nous avons décidé d'arrêter l'optimisation à ce stade.

Tableau 13 : Evolution du Simplex pour un sol réellement contaminé.

Essai	Opération	Essai à éliminer	Simplex	CO	P (psi)	Paramètres calculés			Cycles
						T (°C)	Vol _{dyn.} (%)	t _{stat.} (min.)	
1	r.i.	-	1/2/3/4/5/6	8100,9889003	-	-	-	-	-
2	r.i.	-	1/2/3/4/5/6	7077,9889205	-	-	-	-	-
3	r.i.	-	1/2/3/4/5/6	19245,9849003	-	-	-	-	-
4	r.i.	-	1/2/3/4/5/6	10120,9877603	-	-	-	-	-
5	r.i.	-	1/2/3/4/5/6	10128,8898803	-	-	-	-	-
6	r.i.	-	1/2/3/4/5/6	10131,9836204	-	-	-	-	-
7	S	2	2/1/4/5/6/3	i	-2000	110	63	40	2,6
8	C-	2	2/1/4/5/6/3	15144,9788505	1750	65	20	11	1,4
9	S	1	1/4/5/6/8/3	19346,8554604	1000	116	69	44	2,6
10	Exp.	1	1/4/5/6/8/3	17517,7905403	1250	149	101	66	3,4
11	S	4	4/5/6/8/3/9	i	1200	142	-108	61	3,4
12	C-	4	4/5/6/8/3/9	10174,9566103	675	73	86	16	1,6
13	S	5	5/6/12/8/3/9	i	1280	152	69	-70	3,8
14	C-	5	5/6/12/8/3/9	16202,8745704	695	76	21	57	1,7
15	S	6	6/12/8/14/3/9	i	1360	162	75	51	-1,4
16	C-	6	6/12/8/14/3/9	16191,9495201	715	78	23	13	3,4
17	S	12	12/8/16/14/3/9	i	1160	139	-29	34	2,0
18	C-	12	12/8/16/14/3/9	15223,9466503	815	91	57	21	2,0
19	S	8	8/18/16/14/3/9	i	-270	159	52	43	3,4
20	C-	8	8/18/16/14/3/9	16174,9508206	1245	89	28	19	1,6
21	S	18	18/20/16/14/3/9	i	860	134	0	33	2,4
22	C-	18	18/20/16/14/3/9	15253,9446702	815	101	45	24	2,1
23	S*	20	22/20/16/14/3/9	i	230	138	36	37	2,4
24	C-	20	22/20/16/14/3/9	14235,9427103	995	102	32	23	2,1
25	S*	16	22/20/16/14/3/9	19443,9418004	1000	152	43	45	1,0
26	Exp.	16	22/20/16/14/3/9	i	1150	188	52	61	0,0
27	S	22	22/20/14/3/9/25	19496,9026402	980	152	23	42	1,6
28	Exp.	22	22/20/14/3/9/25	18487,9328302	1070	178	12	52	1,4
29	S	20	20/14/3/9/25/27	i	430	186	36	57	1,6
30	C-	20	20/14/3/9/25/27	17328,9316900	1045	114	32	28	1,9
31	S	14	14/30/3/9/25/27	i	1120	217	50	7	1,6
32	C-	14	14/30/3/9/25/27	17315,8975806	805	111	28	45	1,9
33	S*	30	32/30/3/9/25/27	15764,8994906	670	175	40	43	1,6
34	C-	30	32/30/3/9/25/27	17379,9226803	955	130	33	32	1,9
35	S*	3	32/34/3/9/25/27	14174,7466102	1400	62	77	82	3,0
36	C-	3	32/34/3/9/25/27	18384,9455902	725	166	23	21	1,5
37	S*	9	32/34/3/9/25/27	i	700	181	-14	22	0,2
38	C-	9	32/34/3/9/25/27	17381,908630	925	132	49	39	2,3
39	S*	25	32/34/3/9/25/27		700	132	21	21	3,0

r.i. : réseau initial.

i : essai irréalisable.

* opération réalisée après un changement de direction.

Tableau 14 : Paramètres expérimentaux réellement appliqués lors de l'extraction du sol réellement contaminé.

Essai	Opération	P (psi)	T (°C)	Vol _{dvn.} (%)	t _{stat.} (min.)	Cycles
1	r.i.	500	50	5	1	1
2	r.i.	3000	50	5	1	1
3	r.i.	500	200	5	1	1
4	r.i.	500	50	150	1	1
5	r.i.	500	50	5	99	1
6	r.i.	500	50	5	1	5
7	S	-2000	110	65	40	3
8	C-	1750	65	20	11	1
9	S	1000	115	70	44	3
10	Exp.	1250	150	100	66	3
11	S	1200	140	-110	60	3
12	C-	700	75	85	16	2
13	S	1300	150	70	-70	4
14	C-	700	75	20	57	2
15	S	1350	160	75	51	-1
16	C-	700	80	25	13	3
17	S	1150	140	-30	34	2
18	C-	800	90	60	21	2
19	S	-270	159	52	43	3
20	C-	1250	90	30	19	2
21	S	850	135	0	33	2
22	C-	800	100	45	24	2
23	S	230	140	35	37	2
24	C-	1000	100	30	23	2
25	S	1000	150	45	45	1
26	Exp.	1150	191	50	61	0
27	S	1000	150	25	42	2
28	Exp.	1050	180	10	52	1
29	S	450	185	35	57	2
30	C-	1050	115	30	28	2
31	S	1100	220	50	7	2
32	C-	800	110	30	45	2
33	S	650	175	40	43	2
34	C-	950	130	35	32	2
35	S	1400	60	75	82	3
36	C-	750	165	25	21	2
37	S	700	180	-15	22	0
38	C-	950	130	50	39	2
39	S	700	130	20	21	3

La progression du Simplex pour le sol réellement contaminé est notable (figure 6), contrairement à celle du sol dopé. Le domaine final couvert par les CO (en pointillé) est réduit de 6 fois par rapport au domaine initial, alors que le domaine expérimental a, pour sa part, été réduit de 1,7 à 5 fois selon les paramètres considérés.

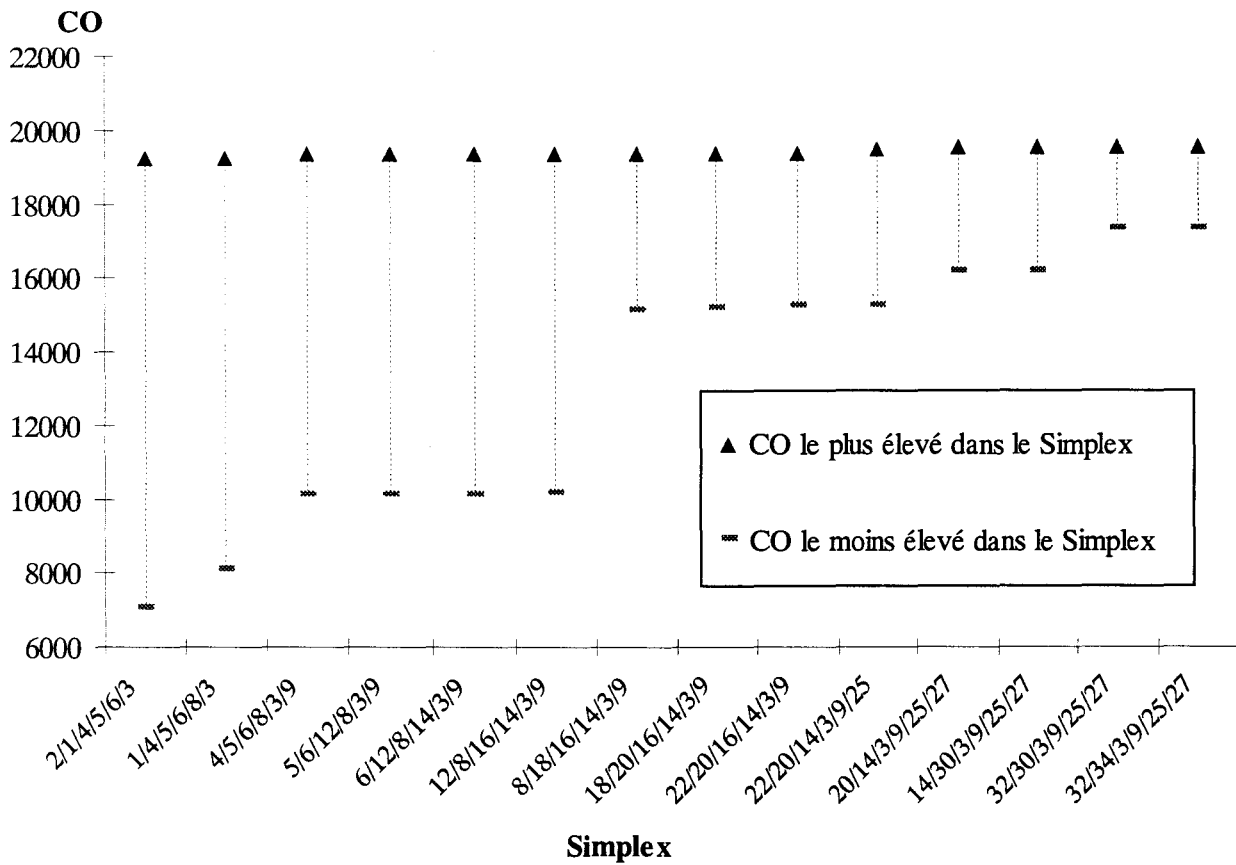


Figure 6 : Evolution des CO en fonction du Simplex pour un sol réellement contaminé.

Tableau 15 : Simplex final et meilleurs CO obtenus pour le sol réellement contaminé.

	Essai	P (psi)	T (°C)	Vol _{dyn.} (%)	t _{stat.} (min.)	Cycles	CO
Simplex final	32	800	110	30	45	2	17315,8975806
	34	950	130	35	32	2	17379,9226803
	3	500	200	5	1	1	19245,9849003
	9	1000	115	70	44	3	19346,8554604
	25	1000	150	45	45	1	19443,9418004
	27	1000	150	25	42	2	19496,9026402
	Moyenne	875	143	35	35	1,8	
CO les plus élevés	36	750	165	25	21	2	18384,9455902
	28	1050	180	10	52	1	18487,9328302
	3	500	200	5	1	1	19245,9849003
	9	1000	115	70	44	3	19346,8554604
	25	1000	150	45	45	1	19443,9418004
	27	1000	150	25	42	2	19496,9026402
	Moyenne	883	160	30	34	1,7	

Afin de fixer les paramètres expérimentaux pour l'extraction subcritique par solvant, nous allons regarder plus en détail la décomposition des CO du dernier Simplex trouvé (tableau 15).

Quatre essais présentent le maximum de composés extraits. Parmi eux, l'essai 27 fournit le taux de récupération moyen le plus élevé mais celui de l'essai 25 est suffisamment proche pour le prendre en considération. Aussi pour départager ces deux essais, les autres critères du CO sont examinés. La durée d'extraction (d) et le volume de solvant (V_{total}) sont, tous les deux, défavorables à l'essai 27. Aussi, malgré un CO légèrement plus faible, notre choix se porte sur l'essai 25 afin d'arrêter les conditions expérimentales de l'ESS. Il faut cependant remarquer que ces dernières ne sont pas très différentes de celles de l'essai 27.

3.3. Conclusion

Dans le protocole du balayage par spectrométrie de masse, l'extraction subcritique par solvant est réalisée en prenant les conditions expérimentales retenues précédemment. Ces dernières sont regroupées dans le tableau 16.

Tableau 16 : Conditions expérimentales de l'ESS incluse dans le protocole de la méthode de balayage par spectrométrie de masse.

Prise d'essai	5 g
Quantité de terre diatomée	5 g
Terre de diatomée	Célite 545
Filtre	Microfibres de verre (8 μ m)
Volume de la cellule	11 mL
Type de remplissage	Stratifié : filtre / célite 545 / prise d'essai / célite 545
Solvant d'extraction	Dichlorométhane/acétone (50/50, v/v)
Pression	1000 psi
Température	150 °C
Volume de l'étape dynamique	45 % (du volume de la cellule)
Durée de l'étape statique	45 min.
Nombre de cycles	1

4. APPLICATION DE LA METHODE DE BALAYAGE PAR SPECTROMETRIE DE MASSE A DES ECHANTILLONS REELLEMENT CONTAMINES

4.1. Conditions expérimentales

L'analyse de six échantillons de sols réellement contaminés est entreprise en étudiant particulièrement trois classes de composés : PCB, HPA et hydrocarbures aliphatiques.

Les méthodes d'analyses de routine dédiées à la détermination de ces familles d'analytes sont mises en œuvre.

Parallèlement, l'approche semi-quantitative élaborée précédemment (chapitre III § 3.4.) est abordée sur ces mêmes matrices. Les équations (7) à (9) explicitées dans le chapitre III, sont appliquées ainsi que les facteurs d'estimation (chapitre III tableaux 15 à 18).

De cette manière, la comparaison des résultats issus des deux approches permet d'évaluer et de valider la méthode de balayage par spectrométrie de masse pour des échantillons naturellement pollués.

Les sols analysés présentent des textures, des teneurs en matières organiques et des taux d'humidité résiduelle variés (tableau 17).

Selon l'échantillon de sol considéré, le chromatogramme issu de l'analyse présente un aspect plus ou moins chargé (annexe 6).

Les protocoles expérimentaux employés lors des analyses de routine sont résumés dans le tableau 18.

Tableau 17 : Caractéristiques physico-chimiques des sols analysés pour l'étude de la méthode de balayage par spectrométrie de masse.

Sol	Argile g.kg ⁻¹	Limon fin g.kg ⁻¹	Limon grossier g.kg ⁻¹	Sable fin g.kg ⁻¹	Sable grossier g.kg ⁻¹	C organique total (%) ^a	Humidité résiduelle (%)
n°3	169	390	316	125	-	2,5	2,0
n°4	146	400	309	145	-	3,4	12,6
n°5	218	623	159	-	-	11,7	27,9
n°6	89	207	99	320	285	3,6	2,6
n°7	108	437	335	120	-	1,7	13,2
n°8	87	333	410	160	10	2,0	6,9

^a: oxydation sulfochromique (norme AFNOR NF X31-109).

4.2. Résultats et discussion

L'analyse des PCB par la méthode dédiée montre que les quantités rencontrées sont trop faibles pour être mesurables par la méthode de balayage par spectrométrie de masse (tableau 19). En effet, les concentrations varient entre le seuil de quantification (0,2 µg.kg⁻¹) et 4,1 µg.kg⁻¹. Le domaine de concentration est tout de même très en dessous de 1 mg.L⁻¹, correspondant à la valeur seuil néerlandaise (chapitre III tableau 6).

L'examen des quantités d'hydrocarbures aliphatiques (tableau 20) et des HPA (tableau 21) obtenues après application des deux approches, permet de constater des écarts entre les valeurs des deux méthodes. Ces derniers peuvent être attribués aux différences de rendements de récupération liés à l'efficacité des méthodes d'extraction et/ou à la présence d'ions interférents, au même temps de rétention que l'analyte, venant ainsi enrichir le signal TIC en GC/MS. Dans ce dernier cas, l'examen des spectres de masse ainsi que de leur coefficient de qualité, permet généralement d'appréhender ce problème.

Néanmoins, les résultats relatifs à l'approche semi-quantitative sont globalement convenables au regard de ceux issus des méthodes dédiées. Les valeurs obtenues sont du même ordre de grandeur. Par conséquent, le principal objectif de notre démarche semi-quantitative est atteint.

Tableau 18 : Principales conditions expérimentales appliquées lors des analyses de routine.

	PCB	HC	HPA
Extraction aux ultrasons			
Prise d'essai	2 g	3 g	2 g
Solvant d'extraction	Hexane / acétone (50/50,v/v)	Hexane / acétone (50/50,v/v)	DCM / acétone (50/50,v/v)
Volume de Solvant	3 x 20 mL	2 x 10 mL	3 x 20 mL
Durée d'extraction	3 x 15 min.	2 x 15 min.	3 x 15 min.
Concentration			
Appareil	Evaporateur rotatif / sous courant d'azote	Sous courant d'azote	Evaporateur rotatif / sous courant d'azote
Solvant de reprise	Hexane	Hexane	Cyclohexane
Attaques acide			
Solvant	H ₂ SO ₄ 18 mol.L ⁻¹ (1 mL) Isooctane (1 mL)	- -	- -
Purification			
Cartouche	Florisil	-	Silice
Solvant d'éluion	Ether de pétrole (10 mL)	-	Cyclohexane (10 mL)
Volume final	1 mL	1 mL	1 mL (acétonitrile / eau)
Désulfuration			
	Oui	Oui	Non
Analyse			
Technique ^a	GC/ECD	GC/MS	HPLC/UV/Fluo
Colonne ^b	60 m x 0,25 mm i.d.; 0,25 µm	30 m x 0,32 mm i.d.; 0,25 µm	250 mm x 2,1 mm i.d.; 5 µm
Phase greffée	5 % diphenyl / 95 % diméthylsiloxane	5 % diphenyl / 95 % diméthylsiloxane	Octadécylsilane (C18)
Marque	DB™ 5 - J&W Scientific	DB™ 5 - J&W Scientific	Supelcosil™ LC PAH - Supelco
Injecteur			
Mode	On-column	Splitless durant 1 min.	Boucle
Température	-	250 °C	-
Volume injecté	1 µL	1 µL	25 µL
Four (température)	Cf. Programmation	Cf. Programmation	20 °C
Programmation	80 °C pendant 1 min. puis 5 °C.min. ⁻¹ jusqu'à 220 °C pendant 5 min. enfin 2 °C.min. ⁻¹ jusqu'à 290 °C	40 °C pendant 1 min. puis 5 °C.min. ⁻¹ jusqu'à 290 °C pendant 9 min.	50 % acétonitrile / 50 % eau pendant 3 min. puis 100 % acétonitrile à 40 min. pendant 29 min.
Détecteur	320 °C	220 °C	-
Domaine spectral	-	50 à 400 (m/z)	190 nm à 400 nm
Phase mobile	Hélium	Hélium	Cf. Programmation
Débit	300 kPa / 40 cm.s ⁻¹ (P constante)	1,5 mL.min. ⁻¹ (constant)	0,2 mL.min. ⁻¹ (constant)
Durée totale de l'analyse			
	69 min.	60 min.	69 min.

^a GC (Gas Chromatography), MS (Mass Spectrometry), HPLC (High Performance Liquid Chromatography), UV (UltraViolet), Fluo (Fluorescence detection).

^b i.d. : diamètre interne (Internal Diameter).

Tableau 19 : Quantités de PCB (exprimées en $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de matières brutes) déterminées par les analyses de routine.

Composé	Sol n°3	Sol n°4	Sol n°5	Sol n°6	Sol n°7	Sol n°8
28	0,5	0,2	0,2	< 0,2	< 0,2	< 0,2
52	0,9	0,5	1,9	< 0,2	0,3	< 0,2
101	1,2	1,0	2,9	< 0,2	< 0,2	< 0,2
118	1,1	1,0	4,1	< 0,2	< 0,2	< 0,2
153	1,8	1,0	1,9	< 0,2	< 0,2	0,2
138	2,0	1,0	2,7	< 0,2	< 0,2	0,2
180	1,7	0,6	0,6	< 0,2	< 0,2	< 0,2

D'autre part, les quantités d'HPA estimées au niveau du sol n°8, sont inférieures aux limites d'identification établies précédemment (chapitre III § 3.2.). Cette situation est possible car les LI sont généralement supérieures aux limites de quantification. C'est pourquoi, ces données doivent être considérées avec plus de précaution. Toutefois, même dans ces conditions, les résultats demeurent analogues dans une certaine mesure.

En outre, les valeurs mesurées pour les HPA dans l'échantillon de sol n°6 sont élevées, indiquant une forte contamination.

Ainsi, il apparaît une corrélation satisfaisante entre les valeurs issues des deux approches, pour un large domaine de concentration.

Tableau 20 : Quantités de HC (exprimées en mg.kg^{-1} de matières brutes) déterminées par les analyses de routine et la méthode de balayage par spectrométrie de masse.

Composé	Routine (mg.kg^{-1})	Balayage (mg.kg^{-1})	Coefficient de qualité ^a (%)
Sol n°4			
C24	0,28	0,29	76
C25	0,39	0,54	87
C26	0,40	0,85	93
C27	0,43	1,23	87
C28	0,42	0,98	83
Sol n°5			
C10	0,27	0,45	91
C11	0,38	1,18	83
C12	0,35	2,02	90
C13	0,35	1,13	91
C14	0,30	2,66	93
C15	0,29	1,46	76
C16	0,30	1,28	94
C17	0,28	0,87	93
Pristane	0,23	0,89	98
C18	0,25	0,73	94
Phytane	-	0,29	87

C19	0,30	0,89	83
C20	0,23	0,70	90
C21	0,23	0,83	93
C22	0,26	0,33	85
C23	0,26	0,25	97
C24	0,23	0,33	86
Sol n°7			
C10	0,55	0,33	90
C11	0,58	0,45	86
C12	0,17	0,20	85
C13	-	0,43	87

^a caractérise la qualité du spectre de masse du composé inconnu par rapport à celui de la référence.

Tableau 21 : Quantités de HC (exprimées en mg.kg⁻¹ de matières brutes) déterminées par les analyses de routine et la méthode de balayage par spectrométrie de masse.

Composé	Routine (mg.kg ⁻¹)	Balayage (mg.kg ⁻¹)	Coefficient de qualité ^a (%)
Sol n°3			
Naphtalène	0,20	1,12	97
Acénaphène	0,01	-	-
Phénanthrène	0,25	0,83	95
Anthracène	0,03	-	-
Fluoranthène	0,28	0,41	95
Pyrène	0,21	0,23	90
Benz(a)Anthracène	0,13	0,08	89
Chrysène	0,17	0,12	96
Benzo(a)Pyrène	0,12	0,17	91
Indeno(1,2,3-c,d)Pyrène	0,11	-	-
Benzo(g,h,i)Pérylène	0,09	-	-
Sol n°4			
Naphtalène	0,04	0,89	60
Acénaphène	0,02	-	-
Fluorène	0,07	0,13	58
Phénanthrène	0,66	0,51	95
Anthracène	0,18	0,16	81
Fluoranthène	0,96	0,57	95
Pyrène	0,70	0,42	93
Benz(a)Anthracène	0,48	0,18	76
Chrysène	0,41	0,20	91
Benzo(a)Pyrène	0,33	0,53	92
Indeno(1,2,3-c,d)Pyrène	0,16	0,25	38
Benzo(g,h,i)Pérylène	0,18	-	-

Sol n°5			
Naphtalène	0,82	0,68	97
Acénaphène	0,12	0,15	64
Fluorène	0,25	0,60	95
Phénanthrène	0,41	1,73	97
Fluoranthène	0,62	0,44	86
Pyrène	0,42	0,40	94
Benz(a)Anthracène	0,39	0,12	86
Chrysène	1,66	0,22	91
Benzo(a)Pyrène	0,49	0,97	60
Indeno(1,2,3-c,d)Pyrène	0,52	-	-
Benzo(g,h,i)Pérylène	0,28	-	-
Sol n°6			
Naphtalène	0,66	0,41	93
Acénaphthylène	0,87	2,07	64
Acénaphène	16,66	21,11	90
Fluorène	49,34	29,64	95
Phénanthrène	-	21,62	96
Anthracène	12,50	13,39	94
Fluoranthène	21,83	20,13	93
Pyrène	42,89	28,63	91
Benz(a)Anthracène	16,42	12,66	96
Chrysène	14,79	11,52	95
Benzo(a)Pyrène	6,69	4,23	98
Indeno(1,2,3-c,d)Pyrène	1,93	1,62	91
Benzo(g,h,i)Pérylène	1,36	1,10	90
Sol n°8			
Naphtalène	0,02	0,05	86
Acénaphène	0,08	0,08	76
Fluorène	0,03	0,11	35
Phénanthrène	0,05	0,07	81
Anthracène	0,01	-	-
Fluoranthène	0,07	-	-
Pyrène	0,07	-	-
Benz(a)Anthracène	0,04	-	-
Chrysène	0,04	0,03	58
Benzo(a)Pyrène	0,04	-	-
Benzo(g,h,i)Pérylène	0,03	-	-

^a caractérise la qualité du spectre de masse du composé inconnu par rapport à celui de la référence.

4.3. Conclusion

L'approche semi-quantitative de la méthode de balayage par spectrométrie de masse se révèle en adéquation avec d'une part, les valeurs provenant des analyses de routine et d'autre part, l'objectif premier fixé pour cet outil analytique; à savoir un vaste champ d'action (méthode multi-résidus) et une quantification permettant l'évaluation du niveau de contamination des échantillons analysés.

En effet, les concentrations des produits détectés couvrent un large domaine : de quelques microgrammes par kilo à plusieurs dizaines de milligrammes par kilo de sol réellement contaminé.

Cependant, il ne faut pas oublier que toute procédure analytique présente des limitations. A ce stade de l'étude, il semble utile de les rappeler, afin de compléter la description de la méthode de balayage.

5. LIMITATIONS DE LA METHODE DE BALAYAGE PAR SPECTROMETRIE DE MASSE

Nous avons classé les limitations pré-analytiques et analytiques de la méthode de balayage par spectrométrie de masse selon leur origine :

- limitations liées au domaine d'application de la CPG,
- limitations liées au protocole expérimental,
- limitations liées à la procédure de traitement des données chromatographiques.

5.1. Echantillonnage

Avant d'aborder les limitations de la méthode étudiée, nous devons apporter quelques précisions concernant l'échantillonnage. Cette étape qui est primordiale pour la détermination d'une pollution de sol et pour toute analyse en général, n'a pas été abordée dans ces travaux. L'importance que revêt le prélèvement, le transport jusqu'au laboratoire d'analyse et la conservation des échantillons, en est la principale raison. En effet, ces différents traitements nécessitent une étude poussée qui entre dans le cadre de travaux spécifiques.

Nous pouvons cependant constater qu'à l'heure actuelle les techniques et les stratégies d'échantillonnage restent encore mal définies pour les analyses multi-résidus. Contrairement aux composés inorganiques, peu de travaux approfondis relatent des plans d'échantillonnage concernant les micropolluants organiques. Des parallèles et des correspondances peuvent cependant être établies. Nous pouvons quand même citer les travaux de Lamé F. P. [1993], Ramsey M.H. [1995], Thompson M. [1995], Sverdrup G.M. [1990] et les normes AFNOR : X31-071 (1983), X31-100 (1992) et NF X31-101 (1992); ou ISO : NF ISO 11464 (1994) et NF ISO 11074-1 (1997) qui fournissent des indications et des pistes concernant aussi bien les stratégies de prélèvement que les procédures à suivre.

Au-delà de la sélection de l'emplacement d'échantillonnage et de sa représentativité, une approche multi-résidus pose le problème du choix du matériel et/ou des matériaux à utiliser pour prélever et conserver un échantillon de sol, sans risque majeur de contamination. La multiplication des manipulations d'échantillons peuvent être à l'origine de pertes d'analytes ou de contaminations, ainsi que l'emploi de matériels non appropriés.

Suite aux observations rencontrées dans la littérature, nous recommandons une manipulation minimale des échantillons par des outils en acier inoxydable (non recouvert de peinture) et

préalablement décontaminés. D'autre part, le choix du conteneur doit être judicieux. Ce dernier doit répondre à certains critères de qualité. Il doit être inerte vis à vis des analytes, résistant aux chocs et hermétique à l'eau, aux poussières et aux gaz. Un conteneur à col large permet une manipulation plus aisée. Il doit pouvoir supporter une large plage de température pour un stockage à basse température et une décontamination à haute température, sans risque ultérieur de modification de l'échantillon. L'utilisation de récipients en acier inoxydable, en verre, ou en Téflon® (Polytétrafluoroéthylène ou PTFE) semble convenir. La solution la plus économique consiste à utiliser le verre. Cela peut poser des problèmes avec les analytes très polaires (adsorption possible sur les parois). Cependant, la matrice étudiée est un sol, ce qui limite la présence de ce type de composé car les analytes polaires sont susceptibles d'être entraînés par les eaux de lexiviation. Par ailleurs, il est essentiel de maintenir l'échantillon dans l'obscurité et à une température ne dépassant pas 4 °C lors du transport et du stockage. L'addition de certains réactifs pour limiter l'évolution de l'échantillon est souvent inapplicable sans perturber la structure du sol ou sans affecter les autres propriétés chimiques du sol. De plus, cela peut poser un problème d'homogénéité de prise d'essai lors de l'extraction.

Toutes les suggestions exposées ci-dessus ont pour unique objectif de faire comprendre et d'appréhender les problèmes et les questions engendrés par l'échantillonnage en vue d'analyses multi-paramétriques. Comme nous l'avons précisé précédemment, elles doivent faire l'objet d'une étude approfondie pour confirmation et validation.

Quoiqu'il en soit, il est indéniable que l'échantillonnage introduit des contraintes qui peuvent être limitantes pour des analyses multi-résidus.

5.2. Domaine d'application de la CPG

Le système chromatographique ou le principe même de la CPG sont à l'origine des erreurs qui peuvent être générées.

Aussi, des pics parasites ou "fantômes" peuvent apparaître. Ces pics ne correspondent pas aux analytes présents dans l'extrait analysé :

- des réactions peuvent avoir lieu au sein du système chromatographique entre certains analytes ou avec la phase stationnaire de la colonne par exemple (due à la température).
- la décomposition d'un analyte dans l'injecteur peut induire l'apparition de pics supplémentaires, correspondant aux produits de dégradation et la disparition du composé en question.
- l'effet de "bleeding" de la colonne (décomposition ou volatilisation de la phase stationnaire) ou le relargage du septum doivent être particulièrement surveillés.

L'absence de pic peut aussi être possible :

- les solutés doivent pouvoir être entraînés par le gaz vecteur, leur tension de vapeur doit être suffisante.
- compte tenu des matrices complexes analysées et du couplage avec un spectromètre de masse, les analytes doivent être relativement lourds et doivent fournir des fragments suffisamment gros pour donner une réponse.
- suite aux interactions mise en jeu, certains analytes peuvent être retenus sur la phase stationnaire de façon quasi-irréversible.

Toutes ces limitations ne sont pas spécifiques à la méthode de balayage mais sont communes à toute méthode analytique incluant la CPG.

5.3. Protocole expérimental

L'étape d'extraction peut être à l'origine de la formation ou de la dégradation de certains analytes. Ainsi, une matrice aussi complexe et variée qu'un sol, associée à une température d'extraction trop élevée peuvent en être les raisons.

D'autre part, l'absence d'étape de purification dans le protocole expérimental utilisé, conduit à l'injection d'extraits très chargés en matières organiques, ce qui n'est pas sans conséquence sur l'état global du chromatographe.

L'état de propreté de la source d'ionisation en est fortement affecté. Il doit être particulièrement surveillé car il influe notamment sur le bruit de fond. Par conséquent, le démontage et le nettoyage de la source doivent être fréquents. Cette procédure est longue, surtout à cause du nettoyage qui doit être minutieux, et de l'équilibrage du système chromatographique après remontage. Il en résulte l'arrêt complet de l'appareil durant plusieurs jours.

Malgré l'emploi d'une pré-colonne, la durée de vie de la colonne capillaire est réduite avec ce type de démarche par rapport à une utilisation plus conventionnelle. L'élimination régulière de quelques spires de pré-colonne permet cependant de prolonger son utilisation.

De plus, le contrôle et l'entretien des différentes parties du chromatographe doivent être continus et rigoureux.

L'incidence directe de cet absence de purification est la détérioration des performances chromatographiques.

Les composés les plus polaires sont les premiers touchés (avec la colonne utilisée dans cette étude c'est à dire avec une colonne apolaire). La forme de leur pic subit des modifications (traînée de pic par exemple).

La présence de traces d'acides organiques dans l'extrait dégrade la phase stationnaire de la colonne, faisant apparaître du "bleeding". La colonne (ou la pré-colonne) présente alors des sites actifs. Les groupements silanols ($\equiv\text{Si-OH}$) donneurs de protons, vont interagir avec les composés polaires. Certains analytes peuvent être retenus. Ce cas est illustré sur la figure 7 où le 2-phénoxyéthanol disparaît après plusieurs injections d'extraits contenant des traces d'acide.

5.4. Procédure de traitement des données chromatographiques

Le bruit de fond combiné à l'injection d'extraits chargés contribue à l'augmentation du nombre d'ions parasites dans les spectres de masse. Par conséquent, le nombre de composés résiduels, non identifiés après application de la procédure de balayage (décrite dans la figure 1 du chapitre III) peut devenir conséquent.

Les bibliothèques de spectres possèdent un nombre important d'entrées mais des mises à jour régulières devraient être réalisées pour une recherche plus efficace. Ainsi, les composés organiques nouvellement synthétisés pourraient être pris en compte.

Le calcul du facteur d'estimation dans l'approche semi-quantitative, a été étudié sur des points de gammes. Aussi, l'équation (11) du chapitre III est appliquée avec le sol réellement contaminé n°3 (tableau 22). Les valeurs trouvées recourent celles obtenues précédemment (tableau 16 du chapitre III). Cependant, les dispersions de résultats sont plus importantes lorsque les matrices extraites sont naturelles.

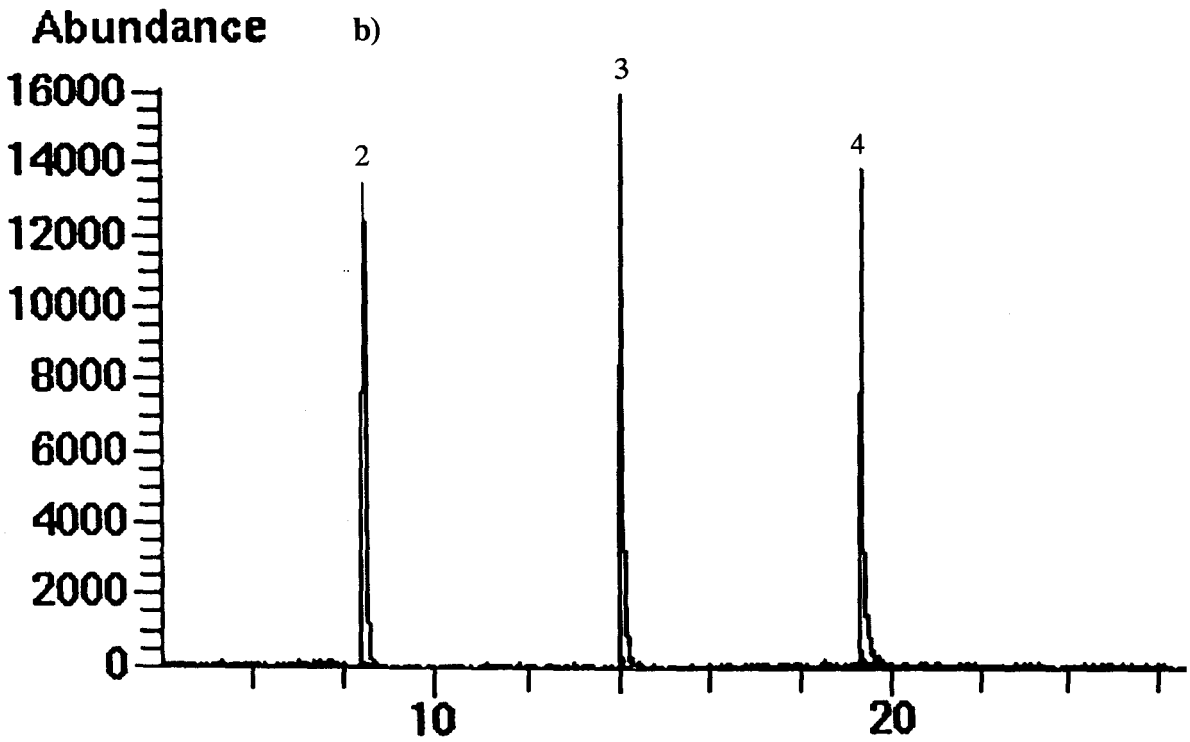
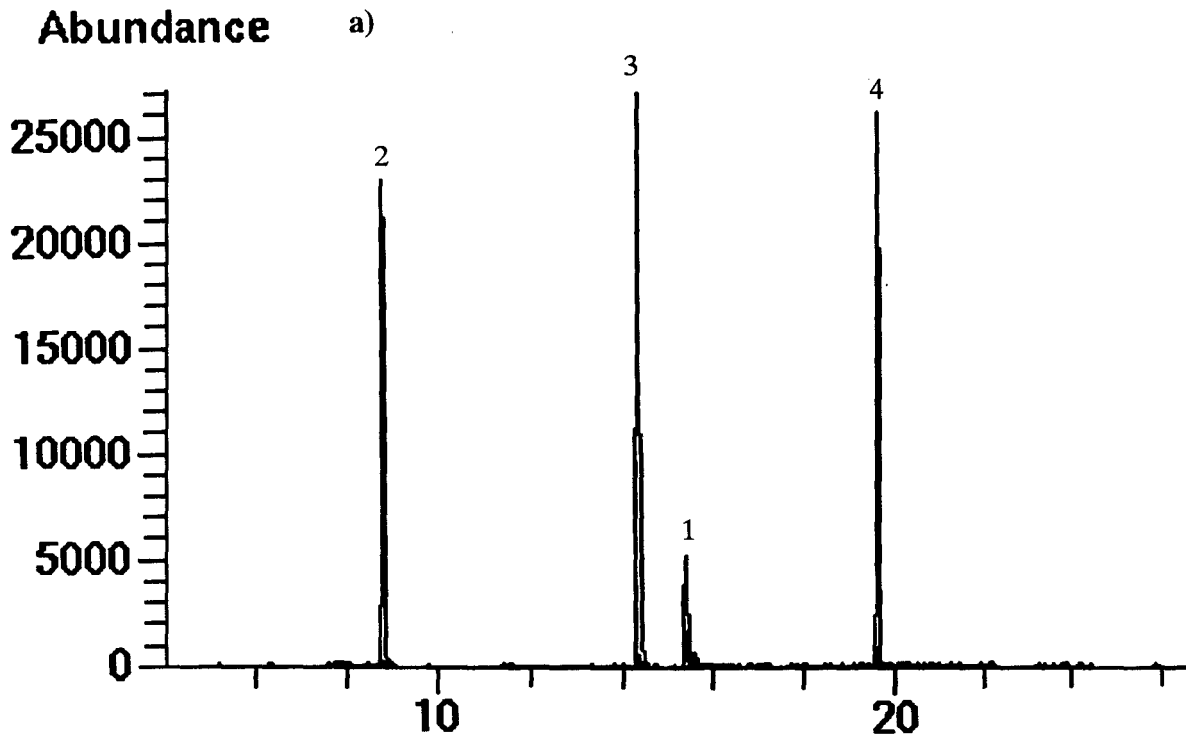


Figure 7 : Gamme contenant le 2-phénoxyéthanol à $6,5 \text{ mg.L}^{-1}$ (pic N°1 – ion 94) et les étalons internes D22 (pic N°2 – ion 66), D26 (pic N°3 – ion 66) et D30 (pic N°4 – ion 66) : a) chromatogramme initial, b) chromatogramme obtenu après plusieurs injections d'extraits contenant des traces d'acide.

Tableau 22 : Facteur d'estimation (EF) calculés à partir du sol réellement contaminé n°3 (n=10).

Composé	EF	SD	RSD (%)
Naphtalène	0,9	0,2	20,3
Phénanthrène	1,3	0,2	12,3
Fluoranthène	1,3	0,2	18,6
Pyrène	1,3	0,1	9,4
Benz(a)Anthracène	1,2	0,1	9,0
Chrysène	1,4	0,1	10,2
Benzo(a)Pyrène	1,2	0,2	17,6

Le traitement des données issues de la procédure de balayage, nécessite plus de temps que celui d'une analyse conventionnelle. L'examen minutieux du chromatogramme ainsi que les calculs des différentes grandeurs utilisées pour l'identification et l'approche semi-quantitative, en sont les principales raisons. En effet, une vérification manuelle, pic après pic, est nécessaire, surtout dans le cas de chromatogrammes chargés rencontrés avec les échantillons de sols.

5.5. Conclusion

Une méthode d'analyse multi-résidus présente inévitablement des limites d'applicabilité. Il apparaît que les limitations peuvent être classées en deux catégories : d'une part, les limites généralement induites lors d'une analyse en chromatographie en phase gazeuse (décomposition thermique, effet de "bleeding", interférents, etc.) et d'autre part, celles relatives au protocole expérimental et à l'exploitation des données (dégradation des composés, qualité des spectres, etc.). Certaines de ces limites sont estimables, voire prévisibles; d'autres par contre ne peuvent qu'être envisagées mais elles sont difficilement vérifiables. Des précautions doivent être prises afin d'en corriger les effets et de minimiser les risques d'erreurs.

L'utilisation de blancs d'extraction et de blancs d'injection permettent de contrôler l'état général du système chromatographique et les éventuelles contaminations dues au protocole expérimental.

Un entretien méticuleux et continu du système chromatographique est obligatoire afin d'assurer une certaine qualité au niveau des résultats.

La rigueur et l'expérience du chromatographe joue un rôle déterminant que ce soit lors de l'application du protocole analytique, ou que ce soit lors de l'interprétation des résultats.

Enfin, il faut toujours garder à l'esprit l'existence de ces limites pour exploiter correctement les résultats issus de ce type de détermination multi-paramétrique.

CONCLUSION

CONCLUSION

L'évaluation des risques en terme de contamination des sols, repose sur la détermination d'un certain nombre de polluants. L'utilisation de méthodes analytiques dédiées rend la surveillance inévitablement restrictive. De plus, avec la multiplication des paramètres demandés, l'expertise devient économiquement inabordable.

Aussi, ces travaux ont permis d'élaborer un outil analytique qui se veut polyvalent. Il permet de recueillir rapidement une grande quantité d'informations. Il offre comme finalité première la mise en place d'études visant à évaluer, hiérarchiser et/ou surveiller l'évolution des pollutions dans les sols.

La méthode de balayage par spectrométrie de masse mise au point conduit à l'identification des principaux contaminants organiques présents dans les sols pollués, ainsi qu'à l'estimation des niveaux de contamination.

L'examen de la matrice a permis de mettre en évidence la diversité des interactions engagées entre les xénobiotiques organiques et les différentes fractions du sol, ainsi que l'étendue du domaine de polarité des polluants. Par conséquent, il apparaît nécessaire d'extraire le plus grand nombre de classes de composés afin de répondre aux objectifs fixés.

La recherche de la plupart des méthodologies relatives à l'extraction des composés organiques dans les sols, nous a conduit à considérer l'extraction sous champ micro-ondes focalisés (MOF), l'extraction en phase supercritique (EPS) et l'extraction subcritique par solvant (ESS).

La valorisation de l'apport des micro-ondes est envisagée par l'emploi d'eau et par la combinaison de solvants de polarités différentes. En effet, les mécanismes améliorant l'efficacité d'extraction des micro-ondes sont encore mal connus. Nous avons pu montrer l'importance que revêt le choix du solvant d'extraction lors du traitement de matrices solides hétérogènes (sol réellement contaminé par 15 HPA). L'ajout d'acétone au dichlorométhane entraîne une baisse du pouvoir solvant qui peut être compensée par l'amélioration de l'efficacité des micro-ondes. La nécessité de travailler avec un système extractant homogène est démontré. L'acétone joue ici un rôle primordial.

Lors d'extraction successives en ESS menées sur le même sol que précédemment, le phénomène de transfert de masse ayant lieu dans les pores (diffusion intraparticulaire), nous a paru être un facteur limitant dans le processus d'extraction.

Dans le cas d'un sol tamisé à 2 mm avec une granulométrie élevée (type sableux), les méthodes d'extraction conventionnelles, Soxhlet et ultrasons, fournissent des résultats peu différents de ceux obtenus avec les trois autres techniques (MOF, EPS, ESS), mais leurs dispersions de résultats sont plus conséquentes.

D'autre part, ces trois techniques ne se différencient pas sur un plan quantitatif, mais plutôt sur un plan plus pragmatique. Toutefois, l'ESS s'avère être la technique la mieux adaptée aux exigences des analyses de routine.

En effet, les facteurs les plus remarquables caractérisant ses qualités, sont des temps d'extraction réduits par rapport à la méthode conventionnelle Soxhlet, une diminution non négligeable des quantités de solvants organiques et de verrerie, ainsi que sa possibilité d'automatisation.

Par ailleurs, les essais complémentaires sur sol dopé confirment sa capacité à récupérer simultanément des composés possédant des caractéristiques physico-chimiques variées (HPA et

phénols). Nous avons donc porté notre choix sur cette technique d'extraction et nous l'avons inclus dans le protocole expérimental de la méthode de balayage, défini dans la troisième partie de ce mémoire.

Les points forts de cette procédure sont d'une part, un contrôle poussé de l'algorithme d'identification des signaux et d'autre part, une approche semi-quantitative la plus fidèle possible, permettant à l'analyste de proposer des valeurs estimées sur des produits dont les standards ne sont pas toujours disponibles au laboratoire. Les temps de rétention relatifs (t_{RR}) utilisés pour conforter les résultats issus de la procédure d'identification, se révèlent suffisamment précis (variation maximale de 1 %).

L'approche semi-quantitative basée sur l'emploi de six étalons deutérés répartis de façon régulière sur le chromatogramme, conduit à définir un facteur d'estimation. Ce facteur permet d'atteindre des valeurs estimées qui fournissent un ordre de grandeur du niveau de contamination du sol.

L'application de la méthode de balayage sur divers sols réellement contaminés a permis de valider, par la suite, l'approche semi-quantitative par comparaison avec les méthodes d'analyses dédiées. Nous avons montré que les variations des résultats entre cette approche et une détermination classique, sont comprises entre 9 % et 20 % pour une matrice chargée et réellement contaminée. D'autre part, la correction apportée aux valeurs trouvées par étalonnage interne, est favorable à l'introduction des étalons internes au niveau de l'extrait non concentré.

Nous avons adapté le paramétrage de l'extraction subcritique par solvant, aux caractéristiques de la méthode de balayage au moyen d'un outil d'optimisation.

La technique du Simplex à pas variable se révèle appropriée dans le contexte qui est le notre : matrice hétérogène, de constitution inconnue et variable d'un échantillon à un autre. Par ailleurs, l'application d'aucune hypothèse de travail (liée à un modèle mathématique) et l'autocorrection des résultats sont des avantages indéniables. Une fonction de réponse dont la composition reflète les objectifs visés, est utilisée sous la forme d'un coefficient d'optimisation. L'évolution de ce coefficient repose sur les paramètres expérimentaux de l'ESS.

Nous avons constaté que la possibilité de contrôler la progression et l'orientation des travaux, essai après essai, fait généralement gagner du temps dans l'optimisation par rapport à un plan d'expériences factoriel.

L'étude menée sur sol dopé, montre qu'une grande variété de composés est susceptible d'être analysée par la méthode de balayage par spectrométrie de masse.

De plus, grâce aux divers essais sur sol dopé et contaminé, nous avons pu mettre en évidence les limites d'applicabilité de la méthode.

La qualité de l'analyse implique de traiter les échantillons au cas par cas et de prendre de nombreuses précautions que ce soit au niveau de la procédure analytique ou de l'interprétation des données recueillies. Quoiqu'il en soit, l'application de la méthode de balayage demande une grande rigueur. Par ailleurs, la connaissance de l'origine de l'échantillon ainsi que de l'historique du site du prélèvement peut apporter de précieuses informations pour l'interprétation et l'exploitation des résultats.

Néanmoins, l'échantillonnage en vue d'une détermination multi-paramétrique, n'est pas abordée dans ces travaux. Cette partie située en amont du protocole expérimental élaboré ici, reste à étudier et à définir. Elle doit faire l'objet de travaux spécifiques car de nombreux aspects restent à éclaircir. Les recommandations que nous avons émises à ce sujet, sont applicables mais elles peuvent induire des biais liés à la représentativité de l'échantillon à analyser.

Enfin, les évolutions envisageables pour la méthode de balayage sont de trois ordres :

- la mise à jour des tables établies (notamment EF et t_{RR}) par l'étude d'autres composés organiques,
- l'établissement d'une base de données relative aux sites pollués permettrait de recouper les résultats des analyses avec des informations complémentaires à caractère toxicologique,
- l'adaptation à l'étude des rejets industriels et des nappes contaminées ou d'une manière plus générale à des matrices aqueuses qui sont généralement moins complexes que les sols, est concevable après modification de la méthodologie de préparation de l'échantillon.

Ces travaux permettront à divers disciplines telles que l'écotoxicologie, de se doter d'un outil à fort potentiel. Ce dernier leur offrira des possibilités plus larges que lors de l'utilisation d'une méthode spécifique à un type d'analyte. Par exemple, une étude globale de surveillance pourra être envisagée.

Cette méthode de balayage est susceptible de mettre en avant certains aspects ou certaines lacunes en matière de plans de surveillance. Elle pourra éventuellement ouvrir de nouvelles perspectives dans le domaine de la pollution d'origine organique, comme ce fut le cas de la spéciation pour les métaux. En effet, l'élaboration de méthodes analytiques concernant les métaux présents dans les sols a permis de mettre en place des études d'impact sur le plan environnemental. Force est de constater que beaucoup de problèmes furent alors mis en évidence et purent ainsi être en parti résolus.

Aussi, cette méthode est à même de révéler des produits organiques qui ne sont pas concernés par les méthodes analytiques dédiées. En effet, en matière de micropolluants organiques, de nombreux développements restent à faire. Compte tenu de la variété et du nombre significatif des molécules organiques rencontrées dans l'environnement, bien des domaines restent à explorer ou à approfondir.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Alexandrou N., Pawliszyn J., 1989, Supercritical fluid extraction for rapid determination of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans in municipal incinerator fly ash. *Anal. Chem.*, **61**, 24, p2770-2776
- Alexandrou N., Lawrence M.J., Pawliszyn J., 1992, Cleanup of complex organic mixtures using supercritical fluids and selective adsorbents. *Anal. Chem.*, **64**, p301-311
- Al-Saad H.T., 1987, Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in surficial sediments from shatt al-arab river and north-west region of the arabian gulf. *Marine Pollution Bulletin*, **18**, 5, p248-251
- Andersen M.R., Swanson J.T., Porter N.L., Richter B.E., 1989, Supercritical fluid extraction as a sample introduction method for chromatography. *Journal of Chromatographic Science*, **27**, p371-377
- Ashraf-Khorassani M., Taylor L.T., Zimmerman P., 1990(a), Nitrous oxide versus carbon dioxide for supercritical fluid extraction and chromatography of amines. *Anal. Chem.*, **62**, p1177-1180
- Ashraf-Khorassani M., Kumar M.L., Koebler D.J., Williams G.P., 1990(b), Evaluation of coupled supercritical fluid extraction-cryogenic collection-supercritical fluid chromatography (SFE-CC-SFC) for quantitative and qualitative analysis. *Journal of Chromatographic Science*, **28**, p599-604
- Ashraf-Khorassani M., Houck R.K., Levy J.M., 1992, Cryogenically cooled adsorbent trap for off-line supercritical fluid extraction. *Journal of Chromatographic Science*, **30**, p361-366
- Atlas R.M., Cerniglia C.E., 1995, Bioremediation of petroleum pollutants. *BioScience*, **45**, 5, p332-338
- Ball W.P., Roberts P.V., 1991, Long-term sorption of halogenated organic chemicals by aquifer material. 2. Intraparticle diffusion. *Environ. Sci. Technol.*, **25**, 7, p1237-1249
- Barnabas I.J., Dean J.R., Owen S.P., 1994, Supercritical fluid extraction of analytes from environmental samples. *Analyst*, **119**, p2381-2394
- Barnabas I.J., Dean J.R., Tomlinson W.R., Owen S.P., 1995(a), Experimental design approach for the extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from soil using supercritical carbon dioxide. *Anal. Chem.*, **67**, p2064-2069
- Barnabas I.J., Dean J.R., Fowles I.A., Owen S.P., 1995(b), Extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from highly contaminated soils using microwave energy. *Analyst*, **120**, p1897-1903
- Barron M.G., 1990, Bioconcentration. *Environ. Sci. Technol.*, **24**, 11, p1612-1618
- Bartle K.D., Clifford A.A., Jafar S.A., Shilstone G.F., 1991, Solubilities of solids and liquids of low volatility in supercritical carbon dioxide. *J. Phys. Chem. Ref. Data*, **20**, 4, p713-756
- Bernal J.L., Jimenez J.J., Rivera J.M., 1995, Interferences found in the determination of pesticide and PCB residues by capillary GC after SFE. *Journal of Chromatographic Science*, **33**, p500-504
- Berridge J.C., 1982, Unattended optimization of reversed-phase HPLC separations using the modified Simplex algorithm. *J. Chromat.*, **244**, p1-14
- Bollag J.M., 1992, Decontaminating soils with enzymes: an in situ method using phenolic and anilinic compounds. *Environ. Sci. Technol.*, **26**, 10, p1876-1881
- Böttler C.J.F., Bordewijk P., 1978, Theory of electric polarisation. **Vol II**, 561p.

- Bowadt S., Johansson B., 1994, Analysis of PCBs in sulfur-containing sediments by off-line supercritical fluid extraction and HRGC-ECD. *Anal. Chem.*, **66**, p667-673
- Bowadt S., Johansson B., Wunderli S., Zennegg M., de Alencastro L.F., Grandjean D., 1995, Independent comparison of Soxhlet and supercritical fluid extraction for the determination of PCBs in an industrial soil. *Anal. Chem.*, **67**, p2424-2430
- Brady B.O., Kao C.P.C., Dooley K.M., Knopf F.C., Gambrell R.P., 1987, Supercritical extraction of toxic organics from soils. *Ind. Eng. Chem. Res.*, **26**, 2, p261-268
- Brookes A.E., Leary J.J., Golightly D.W., 1981, Modifications of the sequential Simplex optimization method. *Anal. Chem.*, **53**, p720-721
- Brown R.S., Luong J.H.T., Szolar O.H.J., Halasz A., Hawari J., 1996, Cyclodextrin-modified capillary electrophoresis : determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in contaminated soils. *Anal. Chem.*, **68**, 2, p287-292
- Bruner F., 1993, The mass spectrometer and its use in environmental analysis. In : Gas chromatographic environmental analysis : Principles, techniques, instrumentations. *Ed. VCH*, New York, p89-117
- Brusseau M.L., Jessup R.E., Rao P.S.C., 1991, Nonequilibrium sorption of organic chemicals : elucidation of rate-limiting processes. *Environ. Sci. Technol.*, **25**, 1, p134-142
- Budzinski H., Papineau A., Baumard P., Garrigues P., 1995, Extraction assistée par chauffage micro-ondes focalisées (MOF) à pression ambiante des composés organiques dans les matrices naturelles : application à l'analyse des composés aromatiques. *C. R. Acad. Sci. Paris*, t. **321**, Série II b, p69-76
- Bumpus J.A., Tien M., Wright D., Aust S.D., 1985, Oxidation of persistent environmental pollutants by a white rot fungus. *Science*, **228**, p1434-1436
- Burford M.D., Hawthorne S.B., Miller D.J., 1993, Extraction rates of spiked versus native PAHs from heterogeneous environmental samples using supercritical fluid extraction and sonication in methylene chloride. *Anal. Chem.*, **65**, 11, p1497-1505
- Burgos W.D., Novak J.T., Berry D.F., 1996, Reversible sorption and irreversible binding of naphthalene and α -naphthol to soil : elucidation of processes. *Environ. Sci. Technol.*, **30**, p1205-1211
- Caddick S., 1995, Microwave assisted organic reactions. *Tetrahedron*, **51**, 38, p10403-10432
- Camel V., Tambute A., Caude M., 1992, L'extraction en phase supercritique à l'échelle analytique : principe, mise en oeuvre et applications. *Analisis*, **20**, 9, p503-528
- Camel V., Tambute A., Caude M., 1993, Analytical-scale supercritical fluid extraction : a promising technique for the determination of pollutants in environmental matrices. *Journal of Chromatography*, **642**, p263-281
- Castioni P., Christen P., Veuthey J.L., 1995, L'extraction en phase supercritique de substances d'origine végétale. *Analisis*, **23**, p95-106
- Cerniglia C.E., Van Baalen C., Gibson D.T., 1980(a), Metabolism of naphthalene by the cyanobacterium *oscillatoria* sp., strain jcm. *Journal of General Microbiology*, **116**, p485-494
- Cerniglia C.E., Gibson D.T., Van Baalen C., 1980(b), Oxidation of naphthalene by cyanobacteria and microalgae. *Journal of General Microbiology*, **116**, p495-500
- Cerniglia C.E., Yang S.K., 1984, Stereoselective metabolism of anthracene and phenanthrene by the fungus *cunninghamella elegans*. *Applied and Environmental Microbiology*, **47**, 1, p119-124
- Chabanel M., Gressier P., 1991, Liaison chimique et spectroscopie : cours et exercices. *Edition Marketing*, Paris, p177-182

- Chapman J.R., 1993, Instrumentation. In : Practical organic mass spectrometry. A guide for chemical and biochemical analysis. Second edition. Ed. John Wiley & Sons, New York, p1-31
- Chester T.L., Pinkston J.D., Raynie D.E., 1994, Supercritical fluid chromatography and extraction. *Anal. Chem.*, **66**, 12, p106R-130R
- Chiou C.T., Peters L.J., Freed V.H., 1979, Physical concept of soil-water equilibria for nonionic organic compounds. *Science*, **206**, p831-832
- Chiou C.T., Lee J.F., Boyd S.A., 1990, The surface area of soil organic matter. *Environ. Sci. Technol.*, **24**, p1164-1166
- Coover M.P., Sims R.C., Doucette W., 1987, Extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from spiked soil. *Journal of AOAC International*, **70**, 6, p1018-1020
- Davies I.L., Raynor M.W., Kithinji J.P., Bartle K.D., Williams P.T., Andrews G.E., 1988, SFE, LC, GC, SFC interfacing. *Anal. Chem.*, **60**, p683A-702A
- Davies R.P., Dobbs A.J., 1984, The prediction of bioconcentration in fish. *Water Research*, **18**, 10, p1253-1262
- Dean-Ross D., Cerniglia C.E., 1996, Degradation of pyrene by mycobacterium flavescens. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **46**, p307-312
- Deshayes C.M.P., Debreuille W., Delacroix A., 1980, Utilisation des modèles mathématiques pour l'optimisation en fermentation. Applications aux transformations par les micro-organismes. *Bulletin de la Société Chimique de France*, **1-2**, p24-34
- Detannenber P., 1996, Pollueurs : voici ce qui vous attend !, *L'Environnement Magazine*, **1547**, p32-36
- Devys G., 1985, Automatisation dans un laboratoire de chimie. Optimisation des conditions opératoires en CLHP ou en synthèse organique. *Mémoire*, présenté en vue d'obtenir le diplôme d'ingénieur C.N.A.M., p4-27
- Donnelly J.R., Grange A.H., Herron N.R., Nichol G.R., Jeter J.L., White R.J., Brumley W.C., Emon J.V., 1996, Modular methodology for determination of polychlorinated biphenyls in soil as arochlor and individual congeners. *Journal of AOAC International*, **79**, 4, p953-961
- Douabul A.A.Z., Al-Saad H.T., Darmonoian S.A., 1984, Distribution of petroleum residues in surficial sediments from shatt al-arab river and the north-west region of the arabian gulf. *Marine Pollution Bulletin*, **15**, 5, p198-200
- Dragun J., Helling C.S., 1985, Physicochemical and structural relationships of organic chemicals undergoing soil- and clay-catalyzed free-radical oxidation. *Soil Science*, **139**, 2, p100-111
- Duchaufour P., Souchier B., 1983, Pédogenèse et classification. *Edition MASSON*, Paris, p27-64
- Dzombak D.A., Luthy R.G., 1984, Estimating adsorption of polycyclic aromatic hydrocarbons on soils. *Soil Science*, **137**, 5, p292-308
- Engebretson R.R., Von Wandruszka R., 1994, Microorganization in dissolved humic acids. *Environ. Sci. Technol.*, **28**, 11, p1934-1941
- Engebretson R.R., Tammy A., Von Wandruszka R., 1996, Quantitative approach to humic acid associations. *Environ. Sci. Technol.*, **30**, 3, p990-997
- Ensley B.D., Gibson D.T., Laborde A.L., 1982, Oxidation of naphthalene by a multicomponent enzyme system from pseudomonas sp. strain ncib 9816. *J. Bacteriology*, **149**, 3, p948-954
- Eskinja I., Soljic Z., Svel-Cerovecki S., Eskinja M., Sojat V., 1996, Sources and fate of polycyclic aromatic hydrocarbons in ambient air of urban and rural croatian sites. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, **63**, p251-268

- Evershed R.P., 1993, Combined gas chromatography-mass spectrometry. In : Gas chromatography, a practical approach. *Ed. Oxford University Press, Oxford*, p359-391
- Fahmy T.K., Pauaitis M.E., Johnson D.M., McNally M.E.P., 1993, Modifier effects in the supercritical fluid extraction of solutes from clay, soil, and plant materials. *Anal. Chem.*, **65**, 10, p1462-1469
- Federle T.W., 1988, Mineralization of monosubstituted aromatic compounds in unsaturated and saturated subsurface soils. *Canadian Journal of Microbiology*, **34**, p1037-1042
- Field J.A., Baten H., Boelsma F., Rulkens W., 1996, Biological elimination of polycyclic aromatic hydrocarbons in solvent extracts of polluted soil by the white rot fungus, *bjerkandera* sp. strain bos55. *Environmental Technology*, **17**, p317-323
- Florkin J., Laszlo P., 1985, Introduction aux stratégies d'optimisation : le programme SIMPLOT. *L'Actualité Chimique*, **Septembre**, p53-56
- Fournier J., 1996, Analyse de traces de pyréthrinoïdes dans des matrices végétales : extraction assistée par micro-ondes. *Recueil des actes de la journée scientifique : "Préparation d'échantillon par micro-ondes"*. Publication N99, Paris, le 14 mars
- Fowlie P.J.A., Bulman T.L., 1986, Extraction of anthracene and benzo(a)pyrene from soil. *Anal. Chem.*, **58**, 4, p721-723
- Furton K.G., Rein J., 1991, The quantitative effect of microextractor cell geometry on the analytical supercritical fluid extraction efficiencies of environmentally important compounds. *Chromatographia*, **31**, 5/6, p297-299
- Furton K.G., Lin Q., 1992, The dependence of sorbent/analyte type on observed differences in supercritical fluid extraction efficiencies employing extraction vessels of different dimensions. *Chromatographia*, **34**, 3/4, p 185-187
- Furton K.G., Jolly E., Pentzke G., 1993(a), Recent advances in the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons and fullerenes. *Journal of Chromatography*, **642**, p33-45
- Furton K.G., Lin Q., 1993(b), Variation in the supercritical fluid extraction of polychlorinated biphenyls as a function of sorbent type, extraction cell dimension, and fluid flow rate. *Journal of Chromatographic Science*, **31**, p201-206
- Gardais J.F., 1982, Analyse quantitative. In : Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse. Troisième édition. *Edition MASSON, Paris*, p338-382
- Gere D.R., Knipe C.R., Castelli P., Hedrick J., Randall-Frank L.G., Schulenberg-Schell H., Schsuer R., Doherty L., Orolin J., Lee H.B., 1993, Bridging the automation gap between sample preparation and analysis : An overview of SFE, GC, GC-MS, and HPLC applied to environmental samples. *Journal of Chromatographic Science*, **31**, p246-258
- Gerstl Z., 1991, Behaviour of organic agrochemicals in irrigated soils. In : Chemistry, agriculture and the environment. *Ed. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK*, p332-369
- Gibson D.T., Jerina D.M., Yagi H., Yeh H.J.C., 1975, Oxidation of the carcinogens benzo[a]anthracene to dihydrodiols by a bacterium. *Science*, **189**, p295-297
- Golub M.S., Donald J.M., Reyes J.A., 1991, Reproductive toxicity of commercial PCB mixtures : LOAELs and NOAELs from animal studies. *Environmental Health Perspectives*, **94**, p245-253
- Goss K.U., 1993, Effects of temperature and relative humidity on the sorption of organic vapors on clay minerals. *Environ. Sci. Technol.*, **27**, 10, p2127-2132
- Goupy J., 1988(a), Modèle mathématique associé aux plans factoriels 2^k . In : La méthode des plans d'expériences. *Ed. Dunod, Paris*, p147-179

- Goupy J., 1988(b), Estimation de l'erreur et effets significatifs. In : La méthode des plans d'expériences. Ed. Dunod, Paris, p41-56
- Grathwohl P., 1990, Influence of organic matter from soils and sediments from various origins on the sorption of chlorinated aliphatic hydrocarbons : implications on K_{oc} correlations. *Environ. Sci. Technol.*, **24**, p1687-1693
- Haderlein S.B., Schwarzenbach R.P., 1993, Adsorption of substituted nitrobenzenes and nitrophenols to mineral surfaces. *Environ. Sci. Technol.*, **27**, 2, p316-326
- Haemmerli S.D., Leisola M.S.A., Sanglard D., Fiechter A., 1986, Oxidation of benzo(a)pyrene by extracellular ligninases of phanerochaete chrysosporium. *J. Biol. Chem.*, **261**, 15, p6900-6003
- Haider K., Spiteller M., Wais A., Fild M., 1993, Evaluation of the binding mechanism of anilazine and its metabolites in soil organic matter. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, **53**, p125-137
- Hambrick G.A., DeLaune R.D., Patrick W.H., 1980, Effect of estuarine sediment pH and oxidation-reduction potential on microbial hydrocarbon degradation. *Applied and Environmental Microbiology*, **40**, 2, p365-369
- Hammel K.E., Kalyanaraman B., Kirk T.K., 1986, Oxidation of polycyclic aromatic hydrocarbons and dibenzo[p]dioxins by phanerochaete chrysosporium ligninase. *J. Biol. Chem.*, **261**, 36, p16948-16952
- Hammel K.E., Gai W.Z., Green B., Moen M.A., 1992, Oxidative degradation of phenanthrene by the ligninolytic fungus phanerochaete chrysosporium. *Applied and Environmental Microbiology*, **58**, 6, p1832-1838
- Hammel K.E., 1995, Mechanisms for polycyclic aromatic hydrocarbon degradation by ligninolytic fungi. *Environmental Health Perspectives*, **103**, 5 supplement, p41-43
- Hartmann R., 1996, Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in forest soils : critical evaluation of a new analytical procedure. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, **62**, p161-173
- Hawthorne S.B., Miller D.J., 1986, Extraction and recovery of organic pollutants from environmental solids and tenax-GC using supercritical CO₂. *Journal of Chromatographic Science*, **24**, p258-264
- Hawthorne S.B., Miller D.J., 1987(a), Extraction and recovery of polycyclic aromatic hydrocarbons from environmental solids using supercritical fluids. *Anal. Chem.*, **57**, p1705-1708
- Hawthorne S.B., Miller D.J., 1987(b), Directly coupled supercritical fluid extraction-gas chromatographic analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons and polychlorinated biphenyls from environmental solids. *Journal of Chromatography*, **403**, p63-76
- Hawthorne S.B., Krieger M.S., Miller D.J., 1988, Analysis of flavor and fragrance compounds using supercritical fluid extraction coupled with gas chromatography. *Anal. Chem.*, **60**, p472-477
- Hawthorne S.B., Miller D.J., Langenfeld J.J., 1990(a), Quantitative analysis using directly coupled supercritical fluid extraction-capillary gas chromatography (SFE-GC) with a conventional split/splitless injection port. *Journal of Chromatographic Science*, **28**, p2-8
- Hawthorne S.B., 1990(b), Analytical-scale supercritical fluid extraction. *Anal. Chem.*, **62**, p633A-642A
- Hawthorne S.B., Langenfeld J.J., Miller D.J., Burford M.D., 1992, Comparison of supercritical CHCl₃, N₂O, and CO₂ for the extraction of polychlorinated biphenyls and polycyclic aromatic hydrocarbons. *Anal. Chem.*, **64**, 14, p1614-1622
- Hawthorne S.B., Miller D.J., Burford M.D., Langenfeld J.J., Eckerct-Tilotta S., Louie P.K., 1993, Factors controlling quantitative supercritical fluid extraction of environmental samples. *Journal of Chromatography*, **642**, p301-317

- Hawthorne S.B., Miller D.J., 1994(a), Direct comparison of Soxhlet and low- and high-temperature supercritical CO₂ extraction efficiencies of organics from environmental solids. *Anal. Chem.*, **66**, 22, p4005-4012
- Hawthorne S.B., Yang Y., Miller D.J., 1994(b), Extraction of organic pollutants from environmental solids with sub- and supercritical water. *Anal. Chem.*, **66**, 18, p2912-2920
- Hawthorne S.B., Galy A.B., Schmitt V.O., Miller D.J., 1995, Effect of SFE flow rate on extraction rates : classifying sample extraction behavior. *Anal. Chem.*, **67**, p2723-2732
- Heemken O.P., Theobald N., Wenclawiak B.W., 1997, Comparison of ASE and SFE with Soxhlet, sonication, and methanolic saponification extractions for the determination of organic micropollutants in marine particulate matter. *Anal. Chem.*, **69**, 11, p2171-2180
- Heitkamp M.A., Freeman J.P., Cerniglia C.E., 1987, Naphthalene biodegradation in environmental microcosms : estimates of degradation rates and characterization of metabolites. *Applied and Environmental Microbiology*, **53**, 1, p129-136
- Herbes S.E., Schwall L.R., 1978, Microbial transformation of polycyclic aromatic hydrocarbons in pristine and petroleum-contaminated sediments. *Applied and Environmental Microbiology*, **35**, 2, p306-316
- Heuvel J.P.V., Lucier G., 1993, Environmental toxicology of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and polychlorinated dibenzofurans. *Environmental Health Perspectives*, **100**, p189-200
- Hills J.W., Hill H.H., 1993, Carbon dioxide supercritical fluid extraction with a reactive solvent modifier for determination of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Journal of Chromatographic Science*, **31**, p6-12
- Hites R.A., Laflamme R.E., Farrington J.W., 1977, Sedimentary polycyclic aromatic hydrocarbons : the historical record. *Science*, **198**, p829-831
- Holuigue C., 1990, Optimisation de synthèses de polyesters insaturés de polydispersité contrôlée. *Thèse de doctorat*, Université des Sciences et Techniques de Lille Flandres-Artois, p22-34
- Hong H., Xu L., Zhang L., Chen J.C., Wong Y.S., Wan T.S., 1995, Environmental fate and chemistry of organic pollutants in the sediment of xiamen and victoria harbours. *Marine Pollution Bulletin*, **31**, 4-12, p229-236
- Howard A.L., Taylor L.T., Schweighardt F.K., Emery A.P., Chesler S.N., McCrehan W.A., 1993, Supercritical fluid extraction of environmental analytes using trifluoromethane. *Journal of Chromatographic Science*, **31**, p401-408
- Hubert-Habart M., 1993, Evaluation du pouvoir cancérogène des composés chimiques. *L'Actualité Chimique*, **Juillet/Aout/Septembre**, p41-49
- Johansen H.R., Becher G., Greibrokk T., 1994, Determination of planar PCBs by combining on-line SFE-HPLC and GC-ECD or GC/MS. *Anal. Chem.*, **66**, N 22, p4068-4073
- Johnson J.C., Van Emon J., 1996, Quantitative enzyme-linked immunosorbent assay for determination of polychlorinated biphenyls in environmental soil and sediment samples. *Anal. Chem.*, **68**, 1, p162-169
- Johnston K.P., Ziger D.H., Eckert C.A., 1982, Solubilities of hydrocarbon solids in supercritical fluids. The augmented van der waals treatment. *Ind. Eng. Chem. Fundam.*, **21**, p191-197
- Junk G.A., Richard J.J., 1986, Extraction of organic compounds from solid samples. *Anal. Chem.*, **58**, 4, p962-965
- Kane M., Dean J.R., Hitchen S.M., Tomlinson W.R., Tranter R.L., Dowle C.J., 1993, Quantitative structure-extraction relationships : a model for supercritical fluid extraction. *Analyst*, **118**, p1261-1264

- Karickhoff S.W., Brown D.S., Scott T.A., 1979, Sorption of hydrophobic pollutants on natural sediments. *Water Research*, **13**, p241-248
- Karimi-Lotfabad S., Pickard M.A., Gray M.R., 1996, Reactions of polynuclear aromatic hydrocarbons on soil. *Environ. Sci. Technol.*, **30**, p1145-1151
- Kay B.D., Elrick D.E., 1967, Adsorption and movement of lindane in soils. *Soil Science*, **104**, 5, p314-322
- King J.W., 1989, Fundamentals and applications of supercritical fluid extraction in chromatographic science. *Journal of Chromatographic Science*, **27**, p355-364
- Koskinen W.C., Cheng H.H., Jarvis L.J., Sorenson B.A., 1995, Characterization of mechanisms of pesticide retention in soil using the supercritical fluid extraction technique. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, **58**, p379-385
- Lame F.P.J., Defize P.R., 1993, Sampling of contaminated soil : sampling error in relation to sample size and segregation. *Environ. Sci. Technol.*, **27**, 10, p2035-2044
- Langenfeld J.J., Hawthorne S.B., Miller D.J., Tehrani J., 1992, Method for determining the density of pure and modified supercritical fluids. *Anal. Chem.*, **64**, 19, p2263-2266
- Langenfeld J.J., Hawthorne S.B., Miller D.J., Pawliszyn J., 1993, Effects of temperature and pressure on supercritical fluid extraction efficiencies of polycyclic aromatic hydrocarbons and polychlorinated biphenyls. *Anal. Chem.*, **65**, p338-344
- Langenfeld J.J., Hawthorne S.B., Miller D.J., Pawliszyn J., 1994, Role of modifiers for analytical-scale supercritical fluid extraction of environmental samples. *Anal. Chem.*, **66**, p909-916
- Langenfeld J.J., Hawthorne S.B., Miller D.J., Pawliszyn J., 1995, Kinetic study of supercritical fluid extraction of organic contaminants from heterogeneous environmental samples with carbon dioxide and elevated temperatures. *Anal. Chem.*, **67**, p1727-1736
- Lara R., Ernst W., 1990(a), Sorption of polychlorinated biphenyls on marine sediments. I. The role of the organic carbon content. *Environmental Technology*, **11**, p83-92
- Lara R., Ernst W., 1990(b), Sorption of polychlorinated biphenyls on marine sediments. II. Effect of the removal of sediment organic matter. *Environmental Technology*, **11**, p93-97
- Lauer H.H., McManigIII D., Board R.D., 1983, Mobile-phase transport properties of liquefied gases in near-critical and supercritical fluid chromatography. *Anal. Chem.*, **55**, 8, p1370-1375
- Law R., Andrulowics E., 1983, Hydrocarbons in water, sediment and mussels from the southern baltic sea. *Marine Pollution Bulletin*, **14**, 8, p289-293
- Lawruk T., Lachman C.E., Jourdan S.W., Fleeker J.R., Hayes M.C., Herzog D.P., Rubio F.M., 1996, Quantitative determination of PCBs in soil and water by a magnetic particule-based immunoassay. *Environ. Sci. Technol.*, **30**, 2, p695-700
- Lee H.B., Peart T.E., Hong-You R.L., Gere D.R., 1993, Supercritical carbon dioxide extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from sediments. *Journal of Chromatography*, **653**, p83-91
- Levy J.M., Cavalier R.A., Bosch T.N., Rynaski A.F., Huhak W.E., 1989(a), Multidimensional supercritical fluid chromatography and supercritical fluid extraction. *Journal of Chromatographic Science*, **27**, p341-346
- Levy J.M., Rosselli A.C., 1989(b), Quantitative supercritical fluid extraction coupled to capillary gas chromatography. *Chromatographia*, **28**, 11/12, p613-616
- Levy J.M., Rosselli A.C., Boyer D.S., Cross K., 1990, Qualitative supercritical fluid extraction coupled to capillary gas chromatography. *J. of High Resolution Chromatography*, **13**, p 418-420

- Levy J.M., Ravey R.M., 1993, Considerations of SFE for GC/MS determination of polynuclear aromatic hydrocarbons in soils and sediments. *Journal of Chromatographic Science*, **31**, p349-352
- Lin T.F., Little J.C., Nazaroff W.W., 1994, Transport and sorption of volatile organic compounds and water vapor within dry Soil grains. *Environ. Sci. Technol.*, **28**, 2, p322-330
- Lindhart B., Holst H., Christensen T.H., 1994, Comparison of Soxhlet and shake extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from coal tar polluted soils sampled in the field. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, **57**, p9-19
- Lipiatou E., Saliot A., 1991, Fluxes and transport of anthropogenic and natural polycyclic aromatic hydrocarbons in the western mediterranean sea. *Marine Chemistry*, **32**, p51-71
- Loch J.P.G., 1991, Effect of soil type on pesticide threat to the soil/groundwater environment. In : Chemistry, agriculture and the environment. Ed. *The Royal Society of Chemistry*, Cambridge, UK, p291-307
- Lopez-Avila V., Dodhiwala N.S., Becker W.F., 1990, Supercritical fluid extraction and its application to environmental analysis. *Journal of Chromatographic Science*, **28**, p468-476
- Lopez-Avila V., Young R., Beckert W.F., 1994, Microwave-assisted extraction of organic compounds from standard reference soils and sediments. *Anal. Chem.*, **66**, 7, p1097-1106
- Lopez-Avila V., Young R., Benedicto J., Ho P., Kim R., Beckert W.F., 1995, Extraction of organic pollutants from solid sample using microwave energy. *Anal. Chem.*, **57**, 13, p2096-2102
- Lorrain P., Corson D.R., 1979, Champs et ondes électromagnétiques. *Librairie Armand Colin*, Paris, p115-155
- Loupy A., Haudrechy A., 1996, Effets de milieu en synthèse organique : des effets de solvants aux méthodes d'activation non classiques. *Edition MASSON*, Paris, 334 p.
- Mahaffey W.R., Compeau G., Nelson M., Kinsella J., 1991, Developing strategies for PAH and TCE bioremediation. *Water Environment & Technology*, **3**, 10, p83-88
- McDonald P.P., Almond R.E., Mapes J.P., Friedman S.B., 1994, PAH RIS soil test- a rapid, on-site screening test for polynuclear aromatic hydrocarbons in soil. *Journal of AOAC International*, **77**, 2, p466-472
- McLaren L., Myers M.N., Giddings J.C., 1968, Dense-gas chromatography of nonvolatile substances of high molecular weight. *Science*, **159**, p197-199
- Meyer A., Kleiböhmer W., Cammann K., 1993, SFE of PAHs from soils with a high carbon content and analyte collection via combined liquid/solid trapping. *J. of High Resolution Chromatography*, **16**, p491-494
- Mihelcic J.R., Luthy R.G., 1988(a), Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbon compounds under various redox conditions in soil-water systems. *Applied and Environmental Microbiology*, **54**, 5, p1182-1187
- Mihelcic J.R., Luthy R.G., 1988(b), Microbial degradation of acenaphthene and naphthalene under denitrification conditions in soil-water systems. *Applied and Environmental Microbiology*, **54**, 5, p1188-1198
- Miller D.J., Hawthorne S.B., McNally M.E.P., 1993, Solventless collection of analytes by rapid depressurization after static supercritical fluid extraction. *Anal. Chem.*, **65**, p1038-1042
- Miller D.J., Hawthorne S.B., 1995, Determination of solubilities of organic solutes in supercritical CO₂ by on-line-flame ionization detection. *Anal. Chem.*, **67**, p273-279
- Miller-Schantz M., Chesler S.N., 1986, Supercritical fluid extraction procedure for the removal of trace organic species from solid samples. *Journal of Chromatography*, **363**, p397-401

- Mitra S., Wilson N.K., 1990, Thermal modulation interface between supercritical fluid extraction and supercritical fluid chromatography. *Journal of Chromatographic Science*, **28**, p182-185
- Mitra S., Wilson N.K., 1991, An empirical method to predict solubility in supercritical fluids. *Journal of Chromatographic Science*, **29**, p305-309
- Mortland M.M., Pinnavaia T.J., 1971, Formation of copper(II) arene complexes on the interlamellar surfaces of montmorillonite. *Nature Physical Science*, **229**, p75-77
- Mulcahey L.J., Taylor L.T., 1992, Collection efficiency of solid surface and sorbent traps in supercritical fluid extraction with modified carbon dioxide. *Anal. Chem.*, **64**, 20, p2352-2358
- Murphy E.M., Zachara J.M., Smith S.C., 1990, Influence of mineral-bound humic substances on the sorption of hydrophobic organic compounds. *Environ. Sci. Technol.*, **24**, 10, p1507-1516
- Nelder J.A., Mead R., 1965, A Simplex method for function minimization. *The Computer Journal*, **7**, p308-313
- Onuska F.I., Terry K.A., 1989, Supercritical fluid extraction of PCBs in tandem with high resolution chromatography in environmental analysis. *J. of High Resolution Chromatography*, **12**, p527-531
- Onuska F.I., Terry K.A., 1993, Extraction of pesticides from sediments using a microwave technique. *Chromatographia*, **36**, p191-194
- Onuska F.I., Terry K.A., 1995, Microwave extraction in analytical chemistry of pollutants: polychlorinated biphenyls. *J. of High Resolution Chromatography*, **18**, p417-421
- Paré J.R.J., Bélanger J.M.R., Stafford S.S., 1994, Microwave-assisted process (MAP) : a new tool for the analytical laboratory. *Trends in Anal. Chem.*, **13**, 4, p176-184
- Pavoni B., Sfriso A., Marcomini A., 1987, Concentration and flux profiles of PCBs, DDTs and PAHs in a dated sediment core from the lagoon of venice. *Marine Chemistry*, **21**, p25-35
- Pawliszyn J., 1993, Kinetic model of supercritical fluid extraction. *Journal of Chromatographic Science*, **31**, p31-37
- Pérez J.P., Carles R., Fleckinger R., 1991, Electromagnétisme : vide et milieux matériels. *Edition MASSON*, Paris, 621p.
- Petrasek A.C., Kugelmann I.J., Austern B.M., Pressley T.A., Winslow L.A., Wise R.H., 1983, Fate of toxic organic compounds in wastewater treatment plants. *J. Water Pollut. Control Fed.*, **55**, 10, p1286-1296
- Petronio B.M., Soldani M., Petruzzelli G., Gennaro M.C., Vanni A., Liberatori A., 1993, The effect of sludge stabilization conditions on soil organic compounds interactions. *Environmental Technology*, **14**, p989-994
- Petronio B.M., D'Orazio D., Petruzzelli G., Gennaro M.C., Vanni A., Liberatori A., 1995, Sorption capacities of soil : Effect of organic compounds. *Environmental Technology*, **16**, p81-88
- Pignatello J.J., Huang L.Q., 1991, Sorptive reversibility of atrazine and metolachlor residues in field soil samples. *Journal of Environmental Quality*, **20**, p222-228
- Pilette J.F., 1992, Application des techniques immuno-enzymatiques à la détection des pesticides. *Spectra 2000*, **167**, p60-65
- Pilette J.F., 1995, Une nouvelle méthode simple et rapide pour la détection des pollutions dans les sols. *Spectra Analyse*, **183**, p55-58
- Pinnavaia T.J., Mortland M.M., 1971, Interlamellar metal complexes on layer silicates. I. Copper(II)-arene complexes on montmorillonite. *The Journal of Physical Chemistry*, **75**, 26, p3957-3962

- Porte C., Debreuille W., Delacroix A., 1984, La méthode Simplex et ses dérivées : Application à l'optimisation dans le laboratoire de développement en chimie. *L'Actualité Chimique*, **Octobre**, p45-54
- Porte C., Debreuille W., Delacroix A., 1986, Le Simplex. Deuxième partie : méthodes dérivées. *L'Actualité Chimique*, **Juin-Juillet**, p1-11
- Porter N.L., Rynaski A.F., Campbell E.R., Saunders M., Richter B.E., Swanson J.T., Nielsen R.B., Murphy B.J., 1992, Studies of linear restrictors and analyte collection via solvent trapping after supercritical fluid extraction. *Journal of Chromatographic Science*, **30**, p367-373
- Pye V.I., Patrick R., 1983, Ground water contamination in the united states. *Science*, **221**, p713-718
- Pyle S.M., Setty M.M., 1991, Supercritical fluid extraction of high sulfur soils, with use a copper scavenger. *Talanta*, **38**, 10, p1125-1128
- Ramsey M.H., Argyraki A., Thompson M., 1995, On the collaborative trial in sampling. *Analyst*, **120**, p2309-2312
- Reijnders P.J.H., 1986, Reproductive failure in common seals feeding on fish from polluted coastal waters. *Nature*, **324**, p456-457
- Reindl S., Höfler F., 1994, Optimization of the parameters in supercritical fluid extraction of polynuclear aromatic hydrocarbons from soil samples. *Anal. Chem.*, **66**, p1808-1816
- Richard H., Loo A, Giampaoli P, 1992, L'extraction des plantes aromatiques par le dioxyde de carbone. *Analisis*, **20**, 1, pM39-M42
- Richter B.E., Jones B.A., Ezzell J.L., Porter N.L., Avdalovic N., Pohl C., 1996, Accelerated solvent extraction : a technique for sample preparation. *Anal. Chem.*, **68**, 6, p1033-1039
- Rizvi S.S.H., Benado A.L., Zollweg J.A., Daniels J.A., 1986, Supercritical fluid extraction : fundamental principles and modeling methods. *Food Technology*, **40**, 6, p55-65
- Rouessac F., Rouessac A., 1992, Analyse chimique : méthodes et techniques instrumentales modernes. *Edition MASSON*, Paris, p76-78
- Roux P., 1993, Electromagnétisme. *Edition Marketing*, Paris, 324p.
- Salkinoja-Salonen M., Uotila J., Jokela J., Laine M., Sasaki E., 1995, Organic halogens in the environment : studies of environmental biodegradability and human exposure. *Environmental Health Perspectives*, **103**, 5 supplement, p63-69
- Schmidt S.K., Gier M.J., 1990, Coexisting bacterial populations responsible for multiphasic mineralization kinetics in soil. *Applied and Environmental Microbiology*, **56**, 9, p2692-2697
- Schocken M.J., Gibson D.T., 1984, Bacterial oxidation of the polycyclic aromatic hydrocarbons acenaphthene and acenaphthylene. *Applied and Environmental Microbiology*, **48**, 1, p10-16
- Schwarzenbach R.P., Gschwend P.M., Imboden D.M., 1993, Sorption : Solid-aqueous solution exchange. In : *Environmental organic chemistry*, Ed. *John Wiley & Sons*, New York, 681p.
- Scow K.M., Fan S., Johnson C., Ma G.M., 1995, Biodegradation of sorbed chemicals in soil. *Environmental Health Perspectives*, **103**, 5 supplement, p93-95
- Seidel V., Lindner W., 1995, Evaluation of a supercritical fluid extraction method for hexachlorobenzène from artificially spiked and naturally contaminated oil seeds and soil samples. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, **59**, p1-13
- Shindo H., Huang P.M., 1982, Role of Mn(IV) oxide in abiotic formation of humic substances in the environment. *Nature*, **298**, p363-365

- Solomon D.H., Loft B.C., 1969, Reactions catalyzed by minerals. Part III. The mechanism of spontaneous interlamellar polymerizations in aluminosilicates. *Journal of Applied Polymer Science*, **12**, p1253-1262
- Soltner D., 1994, Les bases de la production végétale : Le sol. *Collection Sciences et Techniques Agricoles, Tome I*, Paris, p137-153
- Souvie J.C., 1983, Automatisation et optimisation en chimie fine industrielle. *Information Chimie*, **235**, p145-149
- Stearman G.K., Wells M.J.M., Adkisson S.M., Ridgill T.E., 1995, Supercritical fluid extraction coupled with enzyme immunoassay analysis of soil herbicides. *Analyst*, **120**, p2617-2621
- Strickland P., Kang D., Sithisarankul P., 1996, Polycyclic aromatic hydrocarbon metabolites in urine as biomarkers of exposure and effect. *Environmental Health Perspectives*, **104**, Supp 5, p927-932
- Sverdrup G.M., Buxton B.E., Chuang J.C., Casuccio G.S., 1990, Determination of storage conditions for particulate samples. *Environ. Sci. Technol.*, **24**, p1186-1195
- Szecsody J.E., Strelle G.P., Pavalko W.J., 1993, Transport of aminonaphthlene with a site-limited transformation reaction. *Environ. Sci. Technol.*, **27**, 2, p356-365
- Talaska G., Underwood P., Maier A., Lewtas J., Rothman N., jaeger M., 1996, Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), nitro-PAHs and related environmental compounds : biological markers of exposure and effects. *Environmental Health Perspectives*, **104**, Supp 5, p901-906
- Tang P.H., Ho J.S., Eichelberger J.W., 1993, Determination of organic pollutants in reagent water by liquid-solid extraction followed by supercritical fluid elution. *Journal of AOAC International*, **76**, 1, p72-82
- Tena M.T., Luque de Castro M.D., Valcarcel M., 1994, Systematic study of the influence of modifiers on the CO₂-supercritical extraction of PAHs in soil. *Chromatographia*, **38**, 7/8, p431-435
- Tena M.T., Luque de Castro M.D., Valcarcel M., 1996, Screening of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil by on-line fiber-optic-interfaced supercritical fluid extraction spectrofluorometry. *Anal. Chem.*, **68**, p2386-2391
- Thompson M., Ramsey M.H., 1995, Quality concepts and practices applied to sampling - An exploratory study. *Analyst*, **120**, p261-270
- Thuéry J., 1989, Les micro-ondes et leurs effets sur la matière. Applications industrielles, agro-alimentaires et médicales. Deuxième édition, *Technique et Documentation - Lavoisier*, Paris, 575p.
- Tilio R., Kapila S., Nam K.S., Bossi R., Facchetti S., 1994, Reduction/elimination of sulfur interference in organochlorine residue determination by supercritical fluid extraction. *Journal of Chromatography*, **662**, p191-197
- Tranchant J., 1982, Analyse qualitative. In : Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse. Troisième édition. *Edition MASSON*, Paris, p301-337
- Trapp S., Matthies M., Scheunert I., Topp E.M., 1990, Modeling the bioconcentration of organic chemicals in plants. *Environ. Sci. Technol.*, **24**, p1246-1252
- Traynor G.W., Apte M.G., Sokol H.A., Chuang J.C., Tucker W.G., Mumford J.L., 1990, Selected organic pollutant emissions from unvented kerosene space heaters. *Environ. Sci. Technol.*, **24**, 8, p1265-1270
- US EPA Method 3540, 1986, Soxhlet extraction. *US Government Printing Office*, Washington D.C., USA
- US EPA Method 3550, 1986, Sonication extraction. *US Government Printing Office*, Washington D.C., USA

- US EPA Method 3561, 1995, Supercritical fluid extraction of polynuclear aromatic hydrocarbons. *US Government Printing Office*, Washington D.C., USA
- US EPA Method 3660, 1986, Sulfur cleanup. *US Government Printing Office*, Washington D.C., USA
- US EPA Method 8040, 1986, Phenols. *US Government Printing Office*, Washington D.C., USA
- US EPA Method 8060, 1986, Phtalate esters. *US Government Printing Office*, Washington D.C., USA
- US EPA Method 8080, 1986, Organochlorine pesticides and PCBs. *US Government Printing Office*, Washington D.C., USA
- US EPA Method 8090, 1986, Nitroaromatics and cyclic ketones. *US Government Printing Office*, Washington D.C., USA
- US EPA Method 8100, 1986, Polynuclear aromatic hydrocarbons. *US Government Printing Office*, Washington D.C., USA
- US EPA Method 8120, 1986, Chlorinated hydrocarbons. *US Government Printing Office*, Washington D.C., USA
- US EPA Method 8140, 1986, Organophosphorus pesticides. *US Government Printing Office*, Washington D.C., USA
- Van De Vorst A., 1991, Introduction à la physique. Tome 2 : électromagnétisme et optique. *Edition De Boeck – Wesnael*, Bruxelles, p55-79
- Van der Hoek J.P., Urlings L.G.C.M., Grobben C.M., 1989, Biological removal of polycyclic aromatic hydrocarbons, benzene, toluene, ethylbenzene, xylene and phenolic compounds from heavily contaminated ground water and soil. *Environmental Technology Letters*, **10**, p185-194
- Van Engers L., 1978, Mineralization of organic matter in the subsoil of a waste disposal site : a laboratory experiment. *Soil Science*, **126**, 1, p22-28
- Vander Vorst A., 1994, Electromagnétisme : champs et circuits. *Edition De Boeck – Wesnael*, Bruxelles, p105-124
- Veuthey J.L., Caude M., Rosset R., 1990, Couplage de l'extraction et de la chromatographie en phase supercritique avec des chromatographies. *Analisis*, **18**, p103-111
- Vidic R.D., Suidan M.T., Traegner U.K., Nakhla G.F., 1990, Adsorption isotherms : illusive capacity and role of oxygen. *Water Research*, **24**, 10, p1187-1195
- Voice T.C., Weber W.J., 1983, Sorption of hydrophobic compounds by sediments, soils and suspended solids - I Theory and background. *Water Research*, **17**, 10, p1433-1441
- Wang T.S.C., Li S.W., Ferng Y.L., 1978, Catalytic polymerization of phenolic compounds by clay minerals. *Soil Science*, **126**, 1, p15-21
- Weber W.J., Voice T.C., Pirbazari M., Hunt G.E., Ulanoff D.M., 1983, Sorption of hydrophobic compounds by sediments, soils and suspended solids - II Sorbent evaluation studies. *Water Research*, **17**, 10, p1443-1452
- Weber W.J., Miller C.T., 1988, Modeling the sorption of hydrophobic contaminants by aquifer materials - I Rates and equilibria. *Water Research*, **22**, 4, p457-464
- Wenclawiak B.W., Rathmann C., Teuber A., 1992, Supercritical-fluid extraction of soil samples and determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by HPLC. *Fresenius J. Anal. Chem.*, **344**, p497-500
- Wershaw R.L., 1993, Model for humus in soils and sediments. *Environ. Sci. Technol.*, **27**, 5, p814-816

- Wild S.R., Waterhouse K.S., McGrath S.P., Jones K.C., 1990, Organic contaminants in an agricultural soil with a known history of sewage sludge amendments : polynuclear aromatic hydrocarbons. *Environ. Sci. Technol.*, **24**, 11, p1706-1711
- Witt G., 1995, Polycyclic aromatic hydrocarbons in water and sediment of the baltic sea. *Marine Pollution Bulletin*, **31**, 4-12, p237-248
- Woolley C., Ramsey B., Fiorante A., Martin-Dangler B., 1995, Extraction rapide et efficace de composés semivolatils présents dans les sols par fluide sous pression et GC capillaire/MS. *The Reporter*, **14**, 6, p4-8
- Wright B.W., Kalinoski H.T., Smith R.D., 1985, Investigation of retention and selectivity effects using various mobile phases in capillary supercritical fluid chromatography. *Anal. Chem.*, **57**, 14, p2823-2829
- Wright B.W., Wright C.W., Gale R.W., Smith R.D., 1987, Analytical supercritical fluid extraction of adsorbent materials. *Anal. Chem.*, **59**, 1, p38-44
- Wu M., Liu Z., Farnsworth P.B., Lee M.L., 1993, Comprehensive supercritical fluid extraction/gas chromatographic analysis of organic compounds in soil matrice with an element-selective radiofrequency plasma detector. *Anal. Chem.*, **65**, 17, p2185-2188
- Wuchner K., Grob R., 1995, Application de l'extraction par fluide supercritique à l'analyse de polluants aqueux. *Analisis*, **23**, 5, p227-229
- Xie Q.L., Markides K.E., Lee M.L., 1989, Supercritical fluid extraction-supercritical fluid chromatography with fraction collection for sensitive analytes. *Journal of Chromatographic Science*, **27**, p365-370
- Yang Y., Gharaibeh A., Hawthorne B., Miller D.J., 1995(a), Combined temperature/modifier effects on supercritical CO₂ extraction efficiencies of polycyclic aromatic hydrocarbons from environmental samples. *Anal. Chem.*, **67**, p641-646
- Yang Y., Bowadt S., Hawthorne S.B., Miller D.J., 1995(b), Subcritical water extraction of polychlorinated biphenyls from soil and sediment. *Anal. Chem.*, **67**, 24, p4571-4576
- Young T.M., Weber W.J.Jr, 1997, Equilibrium and rate study of analyte-matrix interactions in supercritical fluid extraction. *Anal. Chem.*, **69**, 8, p1612-1619
- Yu X., Wang X., Bartha R., Rosen J.D., 1990, Supercritical fluid extraction of coal tar contaminated soil. *Environ. Sci. Technol.*, **24**, 11, p1732-1738
- Zhou J.L., Fileman T.W., Evans S., Donkin P., Fauzi R., Mantoura C., Rowland S.J., 1996, Seasonal distribution of dissolved pesticides and polynuclear aromatic hydrocarbons in the humber estuary and humber coastal zone. *Marine Pollution Bulletin*, **32**, 8/9, p599-608

ANNEXES

ANNEXE 1

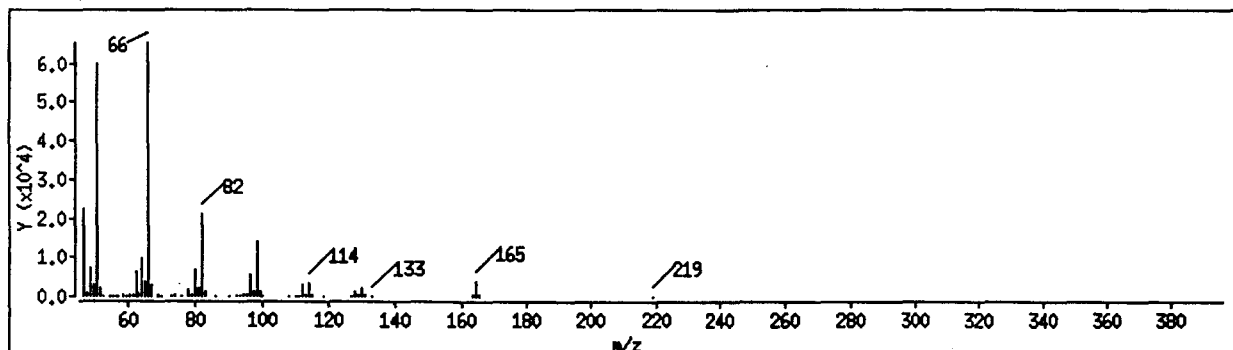
Calculs du coût d'utilisation par échantillon :
effectués sur une base de 20 échantillons (éch.) traités par jour.
(tous les prix sont indiqués en FHT)

Paramètres	Soxhlet	US	MOF	EPS	ESS
Temps opérateur /éch.	10 min.	15 min.	10 min.	1 h 15 min.	10 min.
Prix opérateur /éch. (110 F/h.)	18,33	27,50	18,33	137,50	18,33
Coût de l'équipement	Rampe 10 000 FHT Soxhlet 1 000 FHT ⇒ 16 000	Cuve à US 1 500 FHT Tube Corex 150 FHT ⇒ 2 400	⇒ 43 500	avec 4 cellules ⇒ 109 600	avec 24 cellules ⇒ 325 000
Coût de l'amortissement matériel (calculé sur 5 ans /éch.)	0,44	0,07	1,19	3,00	8,90
Volume de solvant d'extraction	220 mL	60 mL	40 mL	25 mL	25 mL
Prix DCM /éch. (138 FHT / 2500 mL)	12,14	3,31	1,10	1,38	1,38
Prix acétone /éch. (75 FHT / 2500 mL)			0,60		
Prix solvants /éch.	12,14	3,31	1,70	1,38	1,38
Fréquence de changement de verrerie	3/120 éch.	1/300 éch.	1/120 éch.	-	-
Pièce changée	siphon	tube Corex	tube d'extraction	-	-
Nombre de matériel cassé ramené à un éch.	0,025	0,003	0,008	-	-
Prix verrerie /éch.	22,00	0,50	25,83	0,00	0,00
Prix Cartouche Soxhlet /éch.	15,00				
Prix CO ₂ /éch. (50 éch. / bouteille)				2,98	
Prix Septum /éch.				4,39	0,83
Prix cellule / éch. (EPS ⇒ 1/2000 éch., ESS ⇒ 1/1000 éch.)				1,20	2,38
Prix fritté /éch. (1/300 éch.)				0,88	0,05
Prix joint /éch. (1/200 éch.)					0,33
Prix o-ring /éch. (1/100 éch.)					0,09
Prix terre de diatomée (2g /éch.)					11,42
Prix sulfate de sodium (1,5g /éch.)				0,24	
Prix restricteur (1/10 éch.)				7,88	
Prix ferrules (1/20 éch.)				2,86	
Prix tube inox (1/100 éch.)				0,55	
Prix consommables /éch.	15,00	0,00	0,00	20,97	15,09
Coût d'utilisation /éch.	67,92	31,38	47,06	162,85	43,71
Classement du coût d'utilisation (ordre croissant)	4	1	3	5	2

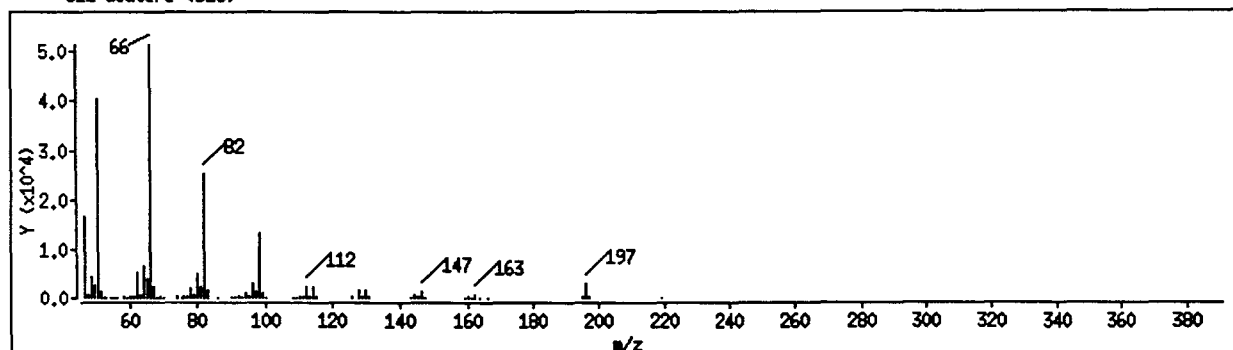
ANNEXE 2

Spectres de masse des étalons internes deutérés :

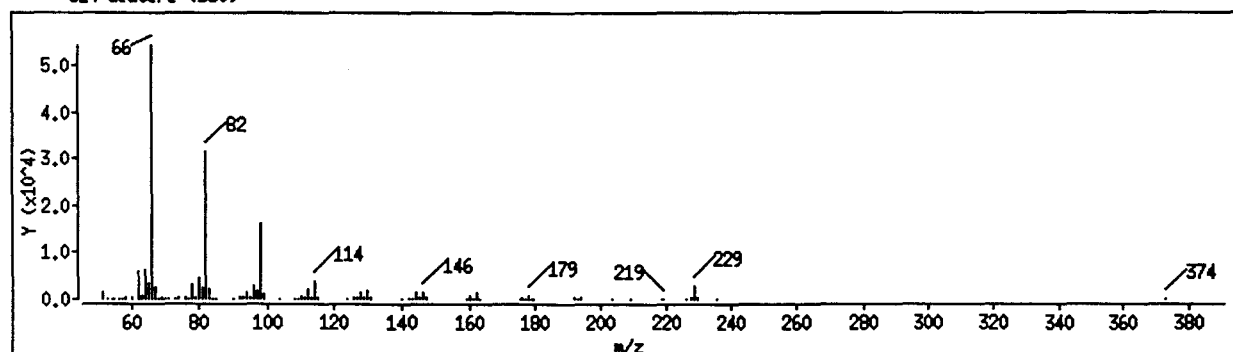
C10 deutere (D22)



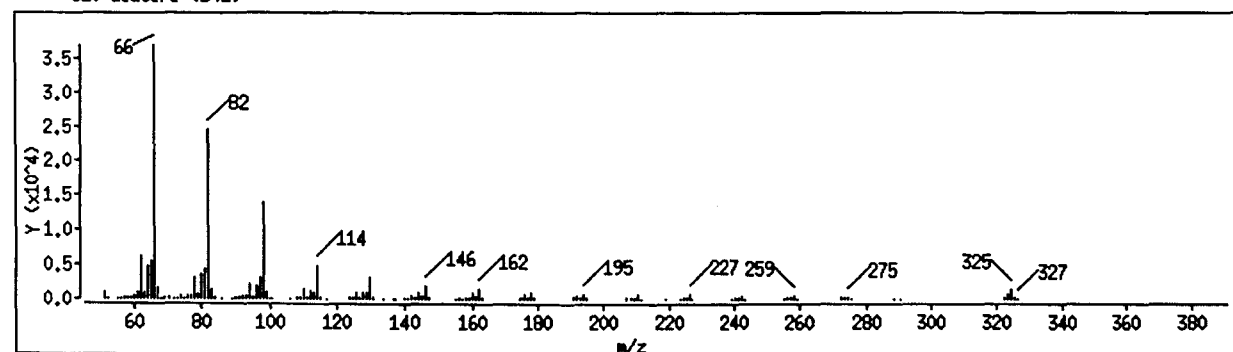
C12 deutere (D26)



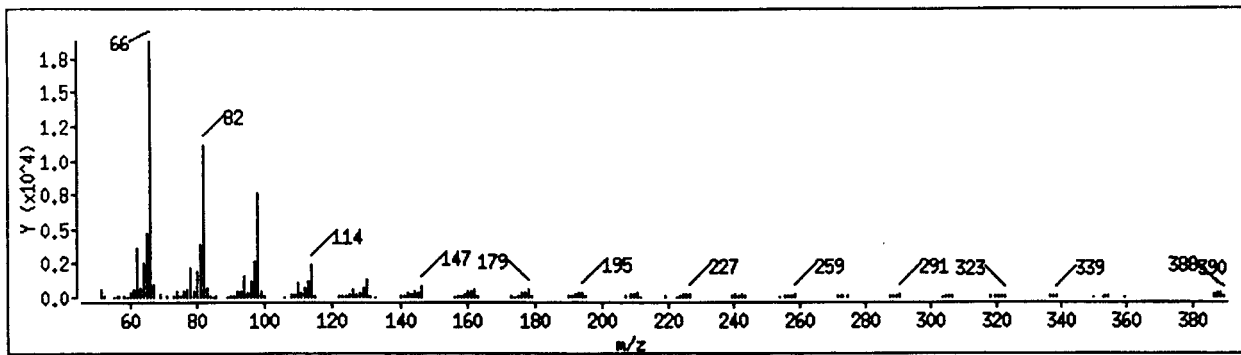
C14 deutere (D30)



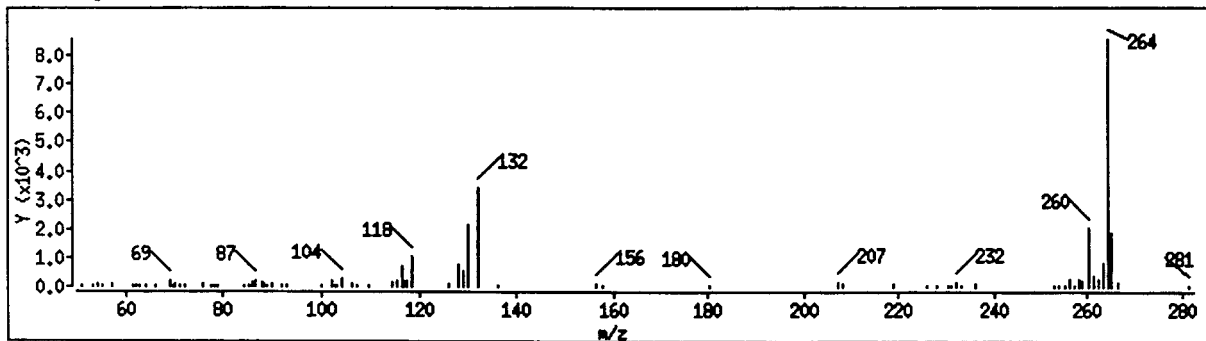
C20 deutere (D42)



C24 deutere (D50)



Perylene-d12



ANNEXE 3

Programme relatif à la méthode d'optimisation Simplex à pas variable développée par Nelder & Mead. Il se présente sous forme de macro exploitable dans un tableur (type Excel).

Sub Simplex()

'SIMPLEX A PAS VARIABLE
'(Méthode Nelder & Mead)

' m -> Nb de paramètres expérimentaux
' r() -> Réponses relatives aux essais expérimentaux
' x() -> Coordonnées relatives aux essais expérimentaux
' xb(j) -> Coordonnées du Barycentre
' xs(j) -> Coordonnées du Symétrique
' rs -> Réponse du Symétrique
' r(z) -> Point du Simplex à éliminer
' xop(j) -> Coordonnées de l'opération en cours (Exp./C+/C-)
' rop -> Réponse pour l'opération en cours (Exp./C+/C-)
' c -> Compteur Essais
' q() -> N° de l'Essai
' qs -> N° d'Essai du Symétrique

Dim r(200)
Dim x(200, 200)
Dim xb(200)
Dim xs(200)
Dim xop(200)
Dim Simplex\$
Dim q(200)

' NOMBRE DE PARAMETRES : 5

m = 5
c = 0

' Construction matrice des valeurs de l'essai i pour les j paramètres

```
For i = 0 To m
  r(i) = Range("E8").Offset(0, i)
  c = c + 1
  q(i) = c
  For j = 1 To m
    x(i, j) = Range("S6").Offset(i, j - 1)
  Next j
Next i
```

start:

'nouveau SIMPLEX / Point à éliminer r(z)
z = 0

suivant:

' Elimination du point immédiatement voisin (plus grand) de celui à éliminer dans le SIMPLEX précédent
' → z non initialisé

' Classement par ordre croissant de r(i)

```
For i = 0 To m
  For k = i To m
    If r(i) > r(k) Then
      swap r(i), r(k)
      swap q(i), q(k)
```

```

    For j = 1 To m
        swap x(i, j), x(k, j)
    Next j
End If
Next k
Next i

' calcul du Simplex en cours
Simplex$ = q(0)
For i = 1 To m
    essai$ = q(i)
    Simplex$ = Simplex$ + "/" + essai$
Next i

' Barycentres
For j = 1 To m
    xs(j) = 0
    For i = 0 To m
        If i <> z Then
            xs(j) = xs(j) + x(i, j)
        End If
    Next i
    xb(j) = xs(j) / m
Rem calcul du symétrique
    xs(j) = 2 * xb(j) - x(z, j)
Next j

' Essai symétrique et examen du symétrique (SYMETRIE)
c = c + 1
qs = c
Range("D8").Offset(c - 6, 0) = Simplex$
For j = 1 To m
    Range("M8").Offset(c - 6, j - 1) = xs(j)
Next j
Range("C8").Offset(c - 6, 0) = "S"
Range("X11").Offset(c - 6, 0) = "S"

'Relecture du CO (r(i) est recalculé manuellement) de l'essai i pour les j paramètres
For i = 0 To m
    r(i) = Range("E8").Offset(c - 6, i)
    If r(i) = "" Then GoTo fin
Next i
'Lecture des paramètres réellement introduits
For j = 1 To m
    xs(j) = Range("S11").Offset(c - 6, j - 1)
    If xs(j) = "" Then GoTo fin
Next j

rs = Range("K8").Offset(c - 6, 0)
If rs = "" Then GoTo fin
If rs = "i" Or rs = "I" Then
' Symétrique IRREALISABLE!!"
    GoTo Cas4
End If
rs = CDbl(rs)
If rs > r(m) Then GoTo Cas1
If (rs < r(m) And rs > r(z + 1)) Or rs = r(m) Or rs = r(z + 1) Then GoTo Cas2
If (rs < r(z + 1) And rs >= r(z)) Then GoTo Cas3
If rs < r(z) Then GoTo Cas4
GoTo cas5

```

```

Cas1:
' Essai expansion (car symétrique meilleur que r(m)) (EXPANSION)
c = c + 1
qop = c
For j = 1 To m
  xop(j) = 3 * xb(j) - 2 * x(z, j)
  Range("M8").Offset(c - 6, j - 1) = xop(j)
Next j

' Examen expansion
Range("C8").Offset(c - 6, 0) = "Exp."
Range("X11").Offset(c - 6, 0) = "Exp."

'Relecture du CO (r(i) est recalculé manuellement) de l'essai i pour les j paramètres
For i = 0 To m
  r(i) = Range("E8").Offset(c - 6, i)
  If r(i) = "" Then GoTo fin
Next i
rs = Range("K8").Offset(c - 6, 0)
rop = Range("18").Offset(c - 6, 0)
'Lecture des paramètres réellement introduits
For j = 1 To m
  xop(j) = Range("S11").Offset(c - 6, j - 1)
  If xop(j) = "" Then GoTo fin
Next j

If rop = "" Or rs = "" Then GoTo fin
If rop = "i" Or rop = "I" Then
' Expansion NON RETENUE
  r(z) = rs
  q(z) = qs
  For j = 1 To m
    x(z, j) = xs(j)
  Next j
  GoTo start
End If

rop = CDBl(rop)
If rop > rs Then
' Expansion RETENUE
  r(z) = rop
  q(z) = qop
  For j = 1 To m
    x(z, j) = xop(j)
  Next j
  GoTo start
End If

Cas2:
' Symétrie choisie
r(z) = rs
q(z) = qs
' Symétrie RETENUE
For j = 1 To m
  x(z, j) = xs(j)
Next j
GoTo start

Cas3:

```



```

' Essai CONTRACTION+
c = c + 1
qop = c
For j = 1 To m
  xop(j) = (3 * xb(j) - x(z, j)) / 2
  Range("M8").Offset(c - 6, j - 1) = xop(j)
Next j
' Examen contraction+ : on prend le meilleur de S ou de C+
Range("C8").Offset(c - 6, 0) = "C+"
Range("X11").Offset(c - 6, 0) = "C+"

'Relecture du CO (r(i) est recalculé manuellement) de l'essai i pour les j paramètres
For i = 0 To m
  r(i) = Range("E8").Offset(c - 6, i)
  If r(i) = "" Then GoTo fin
Next i
rs = Range("K8").Offset(c - 6, 0)
rop = Range("I8").Offset(c - 6, 0)
'Lecture des paramètres réellement introduits
For j = 1 To m
  xop(j) = Range("S11").Offset(c - 6, j - 1)
  If xop(j) = "" Then GoTo fin
Next j

If rop = "" Or rs = "" Then GoTo fin
rop = CDBl(rop)

If rop >= r(z + 1) Then
' Contraction+ RETENUE
  r(z) = rop
  q(z) = qop
  For j = 1 To m
    x(z, j) = xop(j)
  Next j
  GoTo start
End If

If (rop < r(z + 1) And rop >= rs) Then
' Contraction+ RETENUE (avec changement de direction)
  r(z) = rop
  q(z) = qop
  For j = 1 To m
    x(z, j) = xop(j)
  Next j
  z = z + 1
  GoTo suivant
End If

' Contraction+ NON RETENUE (avec changement de direction)
  r(z) = rs
  q(z) = qs
  For j = 1 To m
    x(z, j) = xs(j)
  Next j
  z = z + 1
  GoTo suivant

Cas4:
' Essai CONTRACTION-
c = c + 1

```

```

qop = c
For j = 1 To m
  xop(j) = (xb(j) + x(z, j)) / 2
  Range("M8").Offset(c - 6, j - 1) = xop(j)
Next j
' Examen contraction-
Range("C8").Offset(c - 6, 0) = "C-"
Range("X11").Offset(c - 6, 0) = "C-"

'Relecture du CO (r(i) est recalculé manuellement) de l'essai i pour les j paramètres
For i = 0 To m
  r(i) = Range("E8").Offset(c - 6, i)
  If r(i) = "" Then GoTo fin
Next i
rs = Range("K8").Offset(c - 6, 0)
rop = Range("l8").Offset(c - 6, 0)
' Lecture des paramètres réellement introduits
For j = 1 To m
  xop(j) = Range("S11").Offset(c - 6, j - 1)
  If xop(j) = "" Then GoTo fin
Next j

If rop = "" Or rs = "" Then GoTo fin
rop = CDBl(rop)
If rop >= r(z + 1) Then
' Contraction- RETENUE
  r(z) = rop
  q(z) = qop
  For j = 1 To m
    x(z, j) = xop(j)
  Next j
  GoTo start
End If
If (rop < r(z + 1) And rop >= r(z)) Then
' Contraction- RETENUE (avec changement de direction)
  r(z) = rop
  q(z) = qop
  For j = 1 To m
    x(z, j) = xop(j)
  Next j
  z = z + 1
  GoTo suivant
End If
If rop < r(z) Then
' Contraction- NON RETENUE / Simplex INCHANGE (avec changement de direction)
  z = z + 1
  GoTo suivant
End If

cas5:
MsgBox ("Format de la réponse incorrect")

fin:
End Sub

Function swap(x, y)
z = x
x = y
y = z
End Function

```

ANNEXE 4

Calculs des coordonnées du point de symétrie en coordonnées réduites et réelles :

Soient :

- $x_{i,j}$: la coordonnée réelle x_j du point i ,
- $x_{o,j}$: la coordonnée réelle x_j du point origine,
- $x_{sym,j}$: la coordonnée réelle x_j du point symétrique,
- $X_{sym,j}$: la coordonnée réduite X_j du point symétrique,
- $X_{z,j}$: la coordonnée réduite X_j du point Z à éliminer,
- $X_{i,j}$: la coordonnée réduite X_j du point i ,
- Δx_j : le pas de variation en coordonnée réelle pour la coordonnée j ,

Les coordonnées réelles sont liées aux coordonnées réduites par la relation :

$$X_{i,j} = \frac{x_{i,j} - x_{o,j}}{\Delta x_j} \quad (1)$$

La formule de calcul des coordonnées du symétrique en coordonnées réduites est définie comme suit :

$$X_{sym,j} = \left(\frac{2}{k} \sum_{i=1}^{k+1} X_{i,j} \right) - X_{z,j} \quad (2)$$

avec $i \neq z$ et $j = 1$ à k .

Des équations (1) et (2), nous déduisons :

$$X_{sym,j} = \left(\frac{2}{k} \sum_{i=1}^{k+1} \frac{x_{i,j} - x_{o,j}}{\Delta x_j} \right) - \frac{x_{z,j} - x_{o,j}}{\Delta x_j} \quad (3)$$

$$X_{sym,j} = \frac{2}{k} \left(\frac{\sum_{i=1}^{k+1} x_{i,j} - \sum_{i=1}^{k+1} x_{o,j}}{\Delta x_j} \right) - \frac{x_{z,j} - x_{o,j}}{\Delta x_j} \quad (4)$$

$$X_{sym,j} = \frac{\frac{2}{k} \sum_{i=1}^{k+1} x_{i,j} - \frac{2}{k} \sum_{i=1}^{k+1} x_{o,j} - x_{z,j} + x_{o,j}}{\Delta x_j} \quad (5)$$

Or :

$$\sum_{i=1}^{k+1} x_{o,j} = k \times x_{o,j} \quad (6)$$

En effet, i varie de 1 à $k+1$ mais $i \neq z$, donc il ne reste plus que k fois $x_{o,j}$ (et non pas $k+1$).

Par conséquent, nous avons :

$$X_{\text{sym},j} = \frac{\frac{2}{k} \sum_{i=1}^{k+1} x_{i,j} - x_{z,j} - 2 \times x_{o,j} + x_{o,j}}{\Delta x_j} \quad (7)$$

$$X_{\text{sym},j} = \frac{\frac{2}{k} \sum_{i=1}^{k+1} x_{i,j} - x_{z,j} - x_{o,j}}{\Delta x_j} \quad (8)$$

D'autre part, nous pouvons écrire d'après l'équation (1) :

$$X_{\text{sym},j} = \frac{x_{\text{sym},j} - x_{o,j}}{\Delta x_j} \quad (9)$$

Ainsi, en comparant les équations (8) et (9), il apparaît que :

$$x_{\text{sym},j} = \frac{2}{k} \sum_{i=1}^{k+1} x_{i,j} - x_{z,j} \quad (10)$$

Cette dernière relation correspond à l'équation (2) exprimée en coordonnées réelles.

Le calcul des coordonnées du symétrique peut être réalisé en coordonnées réelles avec la même formule que celle employée en coordonnées réduites.

De manière plus générale, nous pouvons appliquer directement aux coordonnées réelles, les formules génériques établies pour les calculs en coordonnées réduites.

ANNEXE 5

Calcul du nombre de composés extraits (critère N) pour la détermination du coefficient d'optimisation (CO).

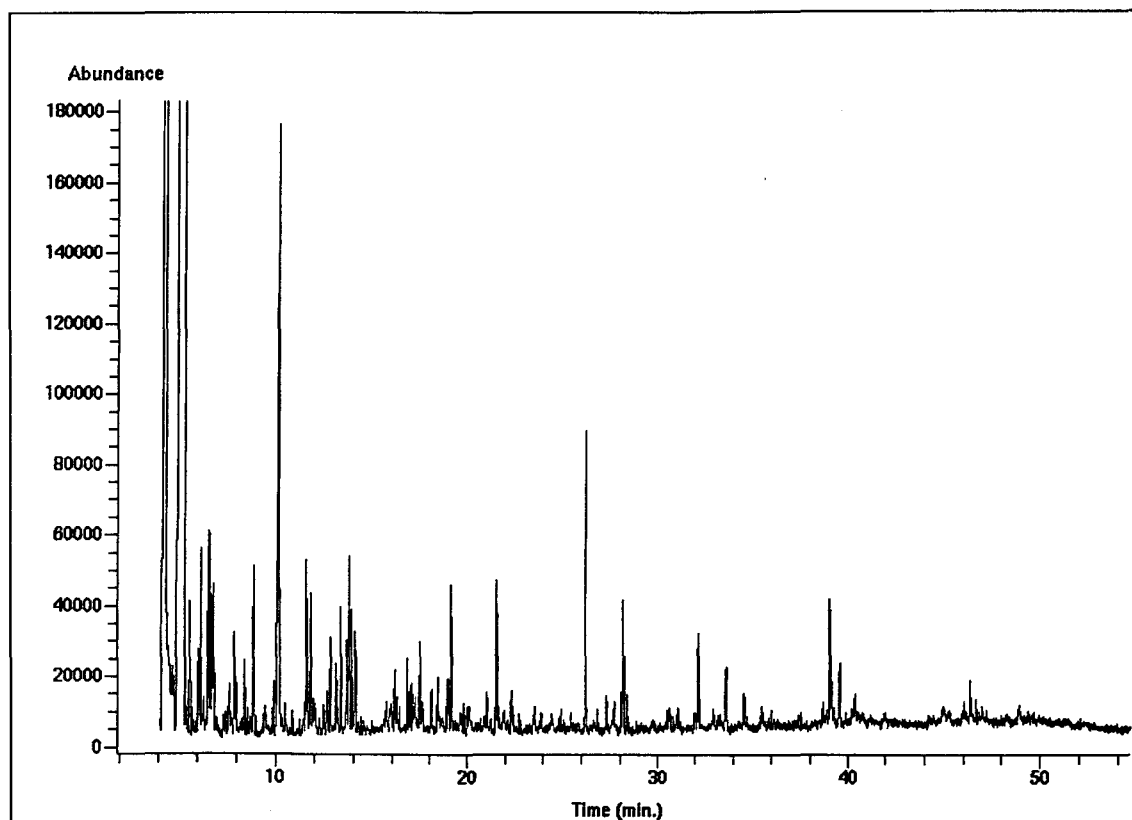
Le tableau suivant regroupe les composés identifiés et leur facteur de qualité (en %), déterminés pour chaque essai lors de l'extraction de sol réellement contaminé. La détermination de N tient compte uniquement des facteurs de qualité $\geq 85\%$.

Composé \ Essai	1	2	3	4	5	6	8	9	10	12	14	16	18
1,4-diméthylbenzène	88	92	96	93	95	92	97			95			
Styrène	93		96	92	90	89	96	97	97	94	96	94	96
Benzaldéhyde			96				89	88	78	87	94	90	96
1,2,3-Triméthylbenzène			89				93	92	89	92	92	88	85
Indène			94			83	79	89	92	88	89	87	86
1-phényl-éthanone			93				73	92	93	80	90	87	73
2-méthyl Naphtalène		93	96	87	91	88	93	96	95	89	90	88	89
2-phényl Heptane		64	92	89	87	87	92	92	87	89	94	89	90
1-méthyl Naphtalène		87	89		50	73	91	89	90	37	87	73	85
Cyclohexylbenzène	95	91	97	94	95	85	97	98	95	95	95	95	94
1,2-diméthyl Naphtalène			86					91	93		95		
Dibenzofurane			94				90	91	91	64	90	92	86
1,1-bis(p-tolyl)Ethane	89	87	89	89	91	91	89	94	89	87	91	91	87
9H-fluorèn-9-one			92			87	87	95	93	48	93	89	87
N-butyl-Benzènesulfamide	89		93	90	92	88		97	93	35	41	87	51
2-méthyl Anthracène		50	89	46	87	67	87	90	90	67	78	87	87
Méthyl Anthracène			90	53	86	73	71	94	94	76	89	94	90
p-Benzylidiphénylméthane	91	64		86	62	72	87	89	74	67	80	59	76
Méthylbis(phénylméthyl)Benzène	90	88	89	91	74	89	90	89	89	69	88	90	91
Benzo(e)Pyrène	88	93	87	93	91	90	91	96	93	92	95	94	95
N (qualité $\geq 85\%$)	8	7	19	10	10	10	15	19	17	10	16	16	15

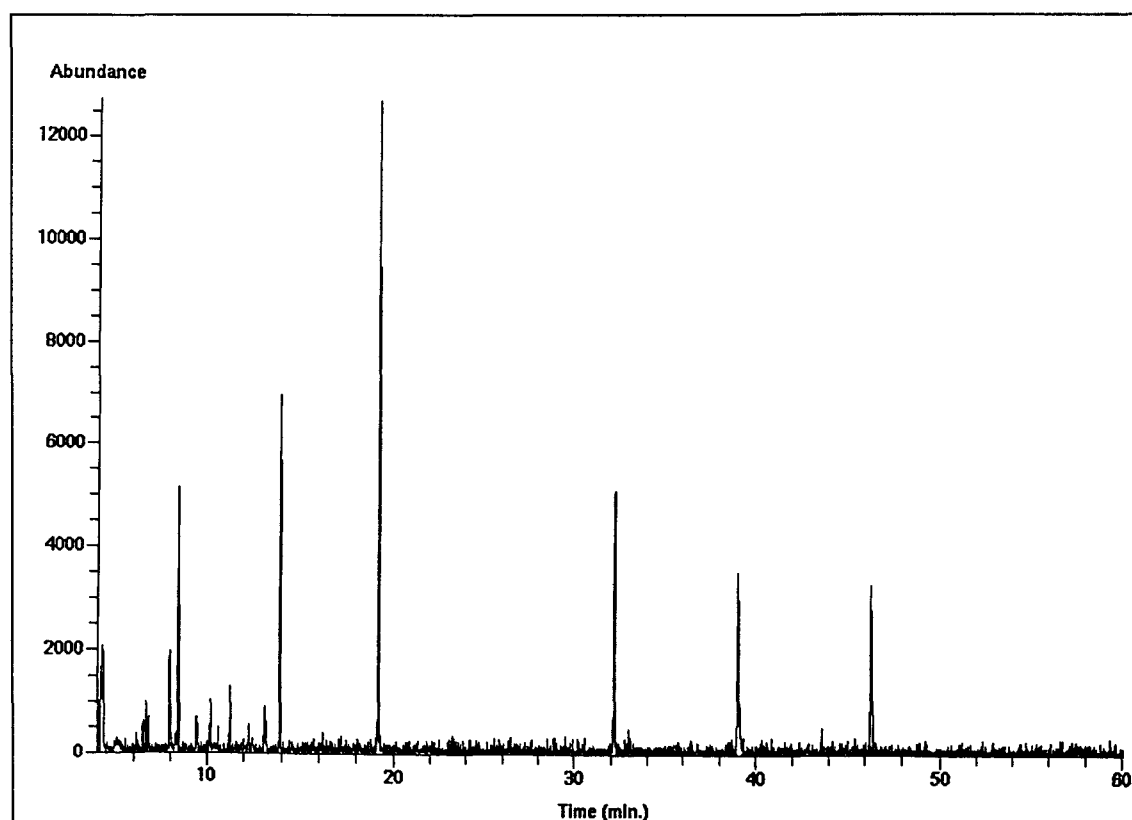
Composé \ Essai	20	22	24	25	27	28	30	32	33	34	35	36	38
1,4-diméthylbenzène	95	97	92	95	96	91	95		95	94	93	97	94
Styrène	95	96	95	97	96	96	94	96	94	96	93	96	94
Benzaldéhyde	90	90	60	93	90	91	91	87	55	89	95	92	88
1,2,3-Triméthylbenzène	93	92	88	94	87	90	93	87		92	93	89	93
Indène	89	85	67	92	85	86	87	87	80	89	90	91	85
1-phényl-éthanone	65	90	87	93	94	90	77	87	91	85	50	90	86
2-méthyl Naphtalène	89	96	90	93	92	90	92	90	91	89	95	94	93
2-phényl Heptane	87	92	87	89	85	87	89	87	85	87	90	87	87
1-méthyl Naphtalène	85	89	87	89	91	87	90	93		87	70	91	89
Cyclohexylbenzène	97	96	96	97	94	93	94	94	91	96	97	94	93
1,2-diméthyl Naphtalène	34	62	58	91	90	89	92	46	91	54		92	65
Dibenzofurane	87	89	92	96	91	88	87	88	92	94	85	90	91
1,1-bis(p-tolyl)Ethane	89	89	89	89	89	89	87	89	89	87	87	89	89
9H-fluorèn-9-one	87	90	92	93	92	92	93	86	91	90		87	90
N-butyl-Benzènesulfamide		64		94	92			90	95	87		94	88
2-méthyl Anthracène	86	73	76	90	89	90	90	85	92	82	85	87	83
Méthyl Anthracène	87	86	90	95	95	90	87	89	94	89	85	95	92
p-Benzylidiphénylméthane	80	55		61		43	44				52	49	
Méthylbis(phénylméthyl)Benzène	93	43	86	86	90	90	85	91	89	89	93	73	88
Benzo(e)Pyrène	90	92	92	92	85	90	89	88	95	92	89	88	87
N (qualité $\geq 85\%$)	16	15	14	19	19	18	17	17	15	17	14	18	17

ANNEXE 6

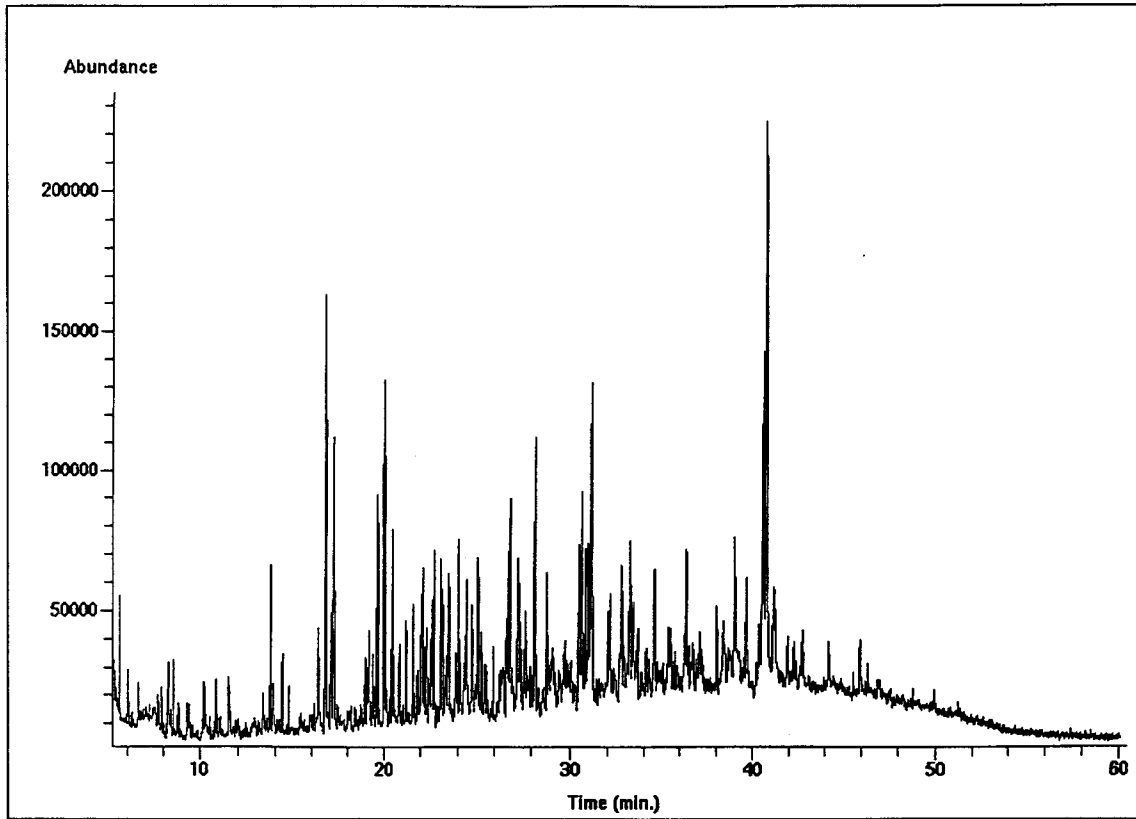
Chromatogramme TIC issu de l'analyse de l'échantillon de sol n°3.



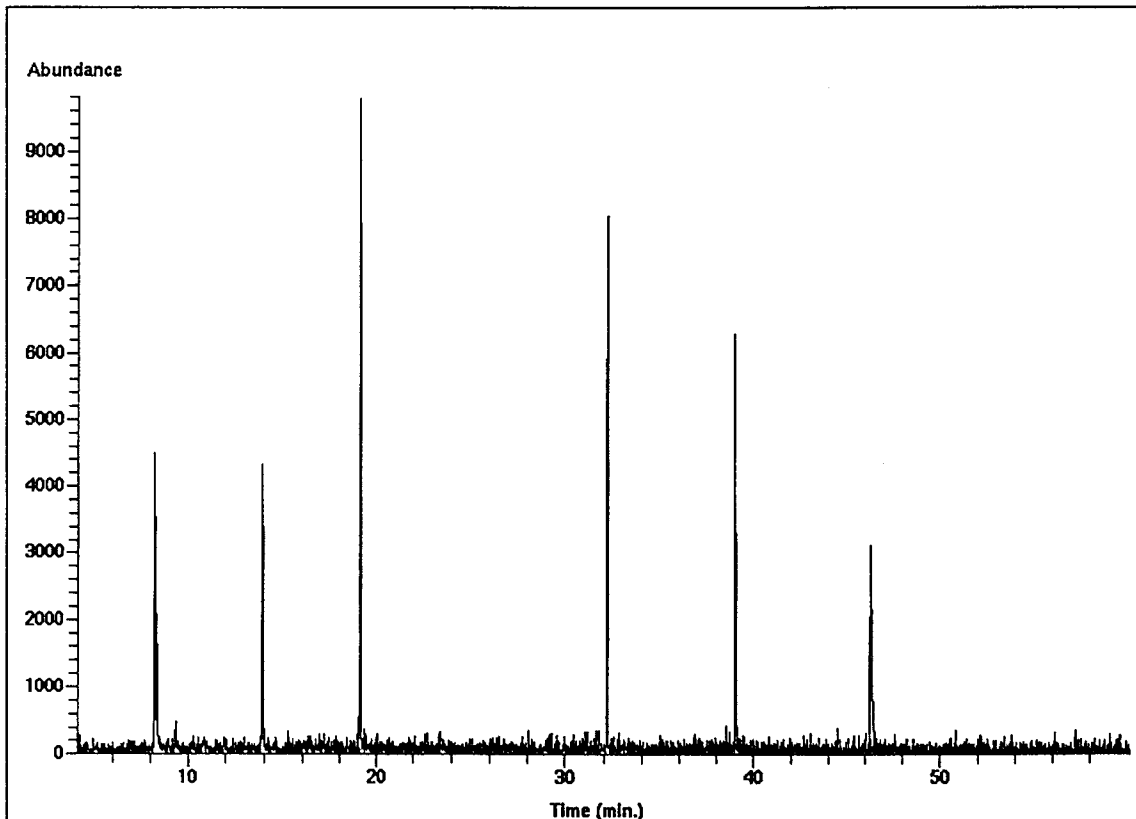
Chromatogramme obtenu lors de l'examen des étalons internes (ions 66 et 264 - sol n°3).



Chromatogramme TIC issu de l'analyse de l'échantillon de sol n°5.



Chromatogramme obtenu lors de l'examen des étalons internes (ions 66 et 264 - sol n°5).



LISTE DES ABREVIATIONS

%OC	Teneur en carbone organique dans le sol
μ	Moment dipolaire
1/n	Indice d'affinité de l'analyte pour le sol
a/d	Paramètre représentant le nombre de fois que l'abondance d'une masse particulière est mesurée avant de passer à la suivante
AF	Acides fulviques
AH	Acides humiques
A_i	Aire du pic du composé i
amu	Atomic mass unit (unité de masse atomique)
C-	Opération de contraction négative
C+	Opération de contraction positive
$C_{lim.}$	Concentration limite
CO	Coefficient d'optimisation
CPG	Chromatographie en Phase Gazeuse (voir GC)
CPS	Chromatographie en Phase Supercritique
C_s	Concentration de l'analyte adsorbé sur la phase solide
C_w	Concentration à l'équilibre de l'analyte en solution
d	Durée d'extraction
D22	Décane deutéré
D26	Dodécane deutéré
D30	Tétradécane deutéré
D42	Eicosane deutéré
D50	Tétracosane deutéré
D62	Tricontane deutéré
DCM	Dichlorométhane
E	Opération d'expansion
E_T^N	Energie de transition $\pi \rightarrow \pi^*$ normalisée de la bétaine
E°	Amplitude du champ électrique alternatif
ECD	Electron capture detector (détecteur à capture d'électrons)
ED	Eau Déionisée
EF	Facteur d'estimation
EI	Electron ionisation (ionisation par impact électronique)
ELISA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (test immuno-enzymatique)
EPA	Environmental Protection Agency
EPS	Extraction en Phase Supercritique
ESS	Extraction Subcritique par Solvant
EtI	Etalon interne
FID	Flame Ionisation Detection (détection à ionisation de flamme)
Fluo	Fluorescence Detection (détection fluorescence)
FS	Fluide supercritique
GC	Gas Chromatography (voir CPG)
H	Coefficient d'Henri
H_{ION}^{EI}	Hauteur du pic de l'ion de quantification de l'étalon interne dans l'extrait d'échantillon
H_{ION}^{CONNU}	Hauteur du pic de l'ion de quantification du connu dans l'extrait d'échantillon

HC	Hydrocarbures paraffiniques
H_i	Hauteur du pic du composé i
HPA	Hydrocarbure Polycyclique Aromatique
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (chromatographie liquide haute performance)
i.d.	Inside diameter (diamètre interne)
ICC	Interférents chromatographiques co-élués
I_p	Indice de rétention de Kováts
k	Constante de Boltzmann
k_{ION}^{Et}	Facteur de réponse lié à l'ion de quantification de l'étalon interne
k_{ION}^{CONNU}	Facteur de réponse lié à l'ion de quantification du composé connu et déterminé à partir de sa droite d'étalonnage
K_F	Constante de sorption
K_i ou k_i	Facteur de réponse du composé i
K_{oc}	Coefficient de partage normalisé
K_{ow}	Coefficient de partition octanol-eau
K_p	Constante de partition solide-liquide
LD	Limite de détection
LI	Limite d'identification
LQ	Limite de quantification
M	Essai du Simplex associé à la plus mauvaise réponse
m	Nombre de paramètres expérimentaux
m^{CONNU}	Quantité du composé connu dans l'extrait d'échantillon
m^{Et}	Quantité d'étalon interne dans l'extrait d'échantillon
$m_{ESTIMEE}^{INCONNU}$	Valeur estimée de la quantité injectée du composé inconnu
$m_{FINALE}^{INCONNU}$	Quantité finale estimée du composé inconnu
m/z	Rapport de la masse de l'ion par sa charge
M1	Minéralisation primaire
M2	Minéralisation secondaire
m_i	Quantité du composé i
MO	Matière organique
MOF	Micro-Ondes Focalisées
MS	Mass Spectrometry (spectrométrie de masse)
N	Nombre de composés extraits
P_c	Pression critique
PCB	Polychlorobiphényle
PCP	Pentachlorophénol
pm	Poids moléculaire
r(i)	Réponse de l'essai i
r.i.	Réseau initial
RDT	Rendement d'extraction
RDTR	Rendement Relatif
RF	Response Factor (voir K_i)
RF_{TIC}^{CONNU}	Facteur de réponse lié au TIC du connu
rop	Réponse associée aux opérations E ou C+ ou C-
RR	Règlement des Radiocommunications
RRA	Réponse relative calculée par rapport à l'étalon interne à partir des aires
RRH	Réponse relative calculée par rapport à l'étalon interne à partir des hauteurs
rs	Réponse associée à l'opération de symétrie

RSD	Relative Standard Deviation (écart-type relatif)
RSD5	Nombre de composés présentant une RSD < 5 %
rxop(j)	Valeur du paramètre expérimental j de l'opération (C-/C+/Expansion)
S	Opération de symétrie
SIM	Selected Ion Monitoring (Recherche d'ions spécifiques)
T _C	Température critique
TIC	Total Ion Current (courant d'ions total)
t _R	Temps de rétention
T _{R(i)}	Température de sortie du soluté i
t _{REI}	Temps de rétention relatif de l'étalon interne
t _{RR}	Temps de rétention relatif
t _{stat.}	Durée de l'étape statique
UA	Unité Arbitraire
UV	UltraViolet
Vol _{dyn.}	Volume du solvant d'extraction utilisé lors de l'étape dynamique
V _{total}	Volume total de solvant utilisé
x(i, j)	Valeur du paramètre expérimental j de l'essai i
xb(j)	Valeur du paramètre expérimental j associé au barycentre
xs(j)	Coordonnées du point de symétrie pour le paramètre expérimental j
Z	Essai du Simplex à éliminer
ΔX	Pas de variation
α _d	Polarisabilité dipolaire
δ	Paramètre de solubilité de Hildebrand
ε	Constante diélectrique
ε _r '	Facteur de dispersion
ε _r "	Facteur de dissipation
ε _r (ν)	Permittivité relative
ν	Fréquence du champ électrique
ρ	Masse volumique
τ	Temps de relaxation
ω	Pulsation du champ électrique alternatif

