

Méthodologie de l'extraction des hydrocarbures aromatiques polycycliques. Application à des sédiments de la lagune de Bizerte (Tunisie)

Nadia Mzoughi^{a,c}, Fayçal Hellal^b, Mohamed Dachraoui^{c,*}, Jean-Pierre Villeneuve^d, Chantal Cattini^d, Stephen J. de Mora^d, Amor El Abed^a

^a Laboratoire « Milieu marin », Institut national des sciences et technologie de la mer, 28, rue du 2-Mars-1934, 2025 Salammbô, Tunisie

^b Institut national des sciences appliquées et de technologie, BP 676, 1080 Tunis cedex, Tunisie

^c Laboratoire de chimie analytique et électrochimie, faculté des sciences de Tunis, campus universitaire, 1060 Tunis, Tunisie

^d Laboratoire de l'environnement marin, Agence internationale de l'énergie atomique, 4, quai Antoine-1^{er}, BP 800, 98012 Monaco

Reçu le 22 février 2001 ; accepté le 5 août 2002

Présenté par Andrée Marquet

Abstract – Methodology of extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons. Application to sediment from the Bizerte Lagoon (Tunisia). The marine environment is very complex, with several important chemical, biological, and sedimentological interactions. Sediments constitute a reservoir for numerous pollutants, including polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). PAHs are known by their mutagenic and/or carcinogenic effect. This study evaluates contamination levels in Bizerte Lagoon with respect to PAHs. The extraction efficiency of PAHs from sediment has been evaluated using Soxhlet or ultrasonic procedures, based on the recovery of an internal standard (9,10-dihydroanthracene). Several PAHs were found, including sixteen that are reported in the priority list of pollutants of the US Environmental Protection Agency (EPA). PAHs analysis was carried out by GC–FID and GC–MS for 16 samples sampled in two seasons : summer and winter. Results permit an assessment of PAHs pollution in the Bizerte Lagoon. *To cite this article: N. Mzoughi et al., C. R. Geoscience 334 (2002) 893–901.*

© 2002 Académie des sciences / Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS

PAHs / marine sediment / GC–FID / GC–MS / Soxhlet / sonication / Bizerte Lagoon / Tunisia

Résumé – Le milieu marin est très complexe et les interactions chimiques, biologiques ou sédimentologiques sont nombreuses. Les sédiments constituent un réservoir d'évacuation pour certains polluants et notamment les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP). Ces derniers font partie de la famille des composés réputés polluants de l'environnement et sont connus par leurs caractères cancérogènes et/ou mutagènes. Ce travail a été entrepris dans le but d'évaluer le niveau de contamination de la lagune de Bizerte par les hydrocarbures aromatiques polycycliques. Une première partie de cette étude concerne la comparaison des résultats d'extraction de 21 HAP en Soxhlet ou sous ultrasons, en se basant sur le rendement de récupération d'un étalon interne (9,10-dihydroanthracène), ajouté au début de l'extraction. Parmi les HAP analysés, seize font partie de la liste de l'Agence américaine de protection de l'environnement (EPA) et sont catalogués comme polluants prioritaires. L'analyse des HAP par GC–FID et GC–MS concerne 16 échantillons répartis sur deux lots (saison sèche et saison humide). Les sites de prélèvement choisis permettent une évaluation de l'état de la pollution par les hydrocarbures aromatiques polycycliques de l'ensemble de la lagune de Bizerte. *Pour citer cet article : N. Mzoughi et al., C. R. Geoscience 334 (2002) 893–901.*

© 2002 Académie des sciences / Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS

HAP / sédiment marin / CG–DIF / CG–SM / Soxhlet / ultrasons / lagune de Bizerte / Tunisie

* Correspondance et tirés à part.

Adresse e-mail : m.dachraoui@planet.tn (M. Dachraoui).

Abridged version

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are among the largest known class of chemical carcinogens and mutagens. This study evaluates contamination levels in Bizerte Lagoon with respect to PAHs. Ultrasonic procedures have been compared with the Soxhlet method for the extraction of PAHs, based on the recovery of an internal standard (9,10-dihydroanthracene). Otherwise, we compare the clean-up procedure to eliminate sulphur using mercury or activated copper. PAHs analysis was carried out by Gas Chromatography coupled with Flame Ionisation Detection (GC–FID) and Gas Chromatography coupled with Mass Spectrometry (GC–MS).

Extraction and purification parameters have been studied using a reference sediment IAEA-408 provided by the International Atomic Energy Agency in order to determine the optimal conditions for evaluation of 21 PAHs levels in marine sediment samples collected from the Bizerte Lagoon.

To study the variation of the extraction recovery as a function of time and of the nature of the solvent in the experimental fields presented in Tables 1 and 2 for the Soxhlet and ultrasonic procedure, respectively, we applied the mathematical model defined by Eq. (1):

$$\rho = b_0 + b_1 X_1 + b_2 X_2 + b_{12} X_1 X_2 + b_{11} X_1^2 \quad (1)$$

where ρ is the extraction recovery; b_0 is a constant; b_i represents the estimation of the main effects of the factor i ; b_{11} represents the estimation of the second order effects, b_{12} represents the estimation of the interaction between time of extraction and nature of solvent; X_1 and X_2 represent respectively the time of extraction and the nature of the solvent, in coded variable.

To estimate the coefficients of this model we establish an experimental design presented respectively in Tables 3 and 4 for the Soxhlet and ultrasonic extraction.

Calculation of coefficients of Eq. (1) is carried out through the least squares method by means of Eq. (2):

$$B = (X' X)^{-1} X' Y \quad (2)$$

where B is the vector of estimates of coefficients, X is the model matrix; $(X' X)$ is the information matrix; $(X' X)^{-1}$ is the dispersion matrix; Y is the vector of experimental results.

Table 5 represents results of the recovery of extraction for every experience.

Application of Eq. (2) leads to get the coefficients of the model corresponding to Eq. (1) and permits to obtain the following Eq. (3):

$$\rho = 83.35 + 8.55 X_1 - 10.35 X_2 - 0.95 X_1 X_2 - 10.55 X_1^2 \quad (3)$$

The transformation of Box and Cox suggests the transformation of ρ to $1/\sqrt{\rho}$, which gives Eq. (4):

$$\frac{1}{\sqrt{\rho}} = 0.1104 - 0.0070 X_1 - 0.0079 X_2 + 0.0006 X_1 X_2 + 0.0083 X_1^2 \quad (4)$$

The maximum of the recovery is obtained with a period of 13 h 30 min and with solvent hexane/DCM. For a period of 12 h, the recovery was 95%, which was equivalent to the extraction recovery obtained with 13 h 30 minutes. For this reason, a period of 12 h was used for the extraction of PAHs.

Table 6 represents the recovery results obtained for every experience using the ultrasonic method. After application of Eq. (2), we obtain the following equation:

$$\rho = 56 + 2.175 X_1 + 7.683 X_2 + 2.825 X_1 X_2 - 0.475 X_1^2 \quad (5)$$

The best recovery (67.7%) is obtained for a period of 60 min, with a solvent hexane/DCM.

Figs. 2 and 3 show that the nature of the solvent has a more important influence on the recovery with ultrasonic procedure (87.38%) than with Soxhlet extractor (56.32%). The interaction between the nature of the solvent and the time of extraction is more important for the ultrasonic technique (7.88%) than for the Soxhlet extractor (insignificant 0.24%). Therefore, it seems more interesting to use the Soxhlet extractor than the ultrasonic method. Concentrations obtained for all PAHs with the Soxhlet extractor are equivalent to those recommended by IAEA for the reference material IAEA-408, whereas concentrations of the PAHs obtained after ultrasonic extraction are lower than the recommended concentrations (Table 7).

The clean-up procedures of two reference sediment IAEA-408 extracts, one with the activated copper and the other with mercury, give recovery rates varying between 93 and 96% for the copper and between 72 and 79% for mercury. As shown in Fig. 4, the loss is especially observed for the PAHs of high molecular weights when mercury was used. The elimination of sulphur with activated copper is more efficient than with the liquid mercury.

The lagoon of Bizerte, which is the second largest lagoon in Tunisia, is presented in Fig. 1 with the sampling sites. The lagoon is connected to the Mediterranean Sea by a straight channel, and is subject to important industrial activities (petrol refineries, food industries, ceramics, cements, metallurgy...).

To evaluate the concentration of PAHs, 16 samples from Bizerte lagoon were sampled during winter and summer seasons. Figs. 5 and 6 summarise the results of the PAHs analyses in sediments collected from the Bizerte Lagoon, using the optimal conditions of extraction: Soxhlet extraction during 12 h, with a mixture of solvent hexane/DCM (50:50).

The highest concentrations of hydrocarbons are observed along the channel that is frequented by boats, such as stations 2 and 4, especially in winter. It can be explained by the position of station 2, which is situated in the channel that joins the lagoon to the Mediterranean Sea and where the maritime traffic is important. Station 4 is also situated at the harbour of Menzel Bourguiba. Concentrations of PAHs in station 1 are lower than that obtained in station 2. It can be explained by the position of station 1, which is close to the sea; at this point, the exchanges are most important than

the position of station 2. Stations 3, 5, 6, 7 and 8 revealed very low concentrations of PAHs (ultratracés). Concentra-

tions found for all stations in summer are relatively low as compared to those found in winter.

1. Introduction

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) forment un important groupe de micropolluants organiques, de par leur distribution dans l'environnement (atmosphère, eau et sédiments marins) [1, 13, 18, 19]. Les HAP sont produits en petites quantités durant la combustion des combustibles fossiles, par les feux de forêt et aussi par des voies microbiologiques [12]. Ils sont connus par leurs caractères cancérogènes et/ou mutagènes [9, 16]. Parmi la liste des 21 HAP analysés, seize sont catalogués par l'Agence américaine de protection de l'environnement (EPA) comme polluants prioritaires [7, 10]. Ils sont, en effet, difficilement dégradables et peuvent s'accumuler dans différents compartiments de l'environnement. Les HAP analysés sont les suivants : naphthalène (Naph), 2-méthyl-naphthalène (2-menaph), 1-méthyl-naphthalène (1-menaph), acénaphthylène (Ac), acénaphthène (Ace), fluorène (Flu), phénanthrène (Phe), anthracène (Anth), 1-méthylphénanthrène (1-mephe), fluoranthène (Fluo), pyrène (Pyr), benz(a)anthracène (BaAn), chrysène (Chr), benzo(b)fluoranthène (BbFl), benzo(k)fluoranthène (BkFl), benzo(e)pyrène (BePy), benzo(a)pyrène (BaPy), perylène (Pe), indeno(1,2,3-cd)pyrène (InPy), dibenz(a,h)anthracène (DiAn), benzo(g,h,i)perylène (BePe).

Les sédiments marins constituent un réservoir d'évacuation pour certains polluants, notamment les hydrocarbures aromatiques polycycliques. Leur analyse nécessite au préalable une extraction, une étape de purification et, finalement, leur quantification par chromatographie en phase gazeuse, couplée à la détection par ionisation de flamme (CG-DIF) et par chromatographie en phase gazeuse, couplée à la spectrométrie de masse (CG-SM). Plusieurs auteurs ont comparé leur extraction par l'extracteur de Soxhlet et par les ultrasons [5, 7, 21]. Dans cet article, nous avons d'abord optimisé les conditions d'extraction des HAP d'un sédiment de référence (solvant et durée d'extraction) et le rendement de récupération avec l'extracteur de Soxhlet [11] et les ultrasons [2, 4, 6, 23], d'un étalon interne (9,10-dihydroanthracène), ajouté à cette matrice. Nous avons ensuite comparé l'élimination du soufre avec le cuivre ou le mercure sur un échantillon de sédiment de référence. Enfin, nous avons effectué une application de l'extraction sur des échantillons de sédiments prélevés dans la lagune de Bizerte. L'analyse des HAP par CG-DIF et CG-SM concerne 16 échantillons, répartis en deux lots (saison hivernale et saison estivale) et considé-

rés comme représentatifs des sédiments de la lagune de Bizerte (Fig. 1). Cette dernière a fait l'objet de plusieurs travaux en vue de l'évaluation de son état de pollution [22].

2. Plans d'expérience utilisés pour la détermination des rendements d'extraction des HAP

Pour étudier les variations du rendement d'extraction en fonction du temps et de la nature du solvant dans le domaine expérimental, présentées dans les Tableaux 1 et 2 pour l'extraction en Soxhlet et sous ultrasons, respectivement, nous avons postulé le modèle mathématique suivant :

$$\rho = b_0 + b_1 X_1 + b_2 X_2 + b_{12} X_1 X_2 + b_{11} X_1^2 \quad (1)$$

où ρ est le rendement d'extraction, b_0 est une constante, b_1 et b_2 représentent respectivement les effets des durées et de la nature de solvant, b_{12} est l'interaction entre la durée de l'extraction et la nature de solvant et b_{11} correspond à l'écart dû à l'additivité, X_1 et X_2 représentent respectivement la durée et la nature de solvant, en variable codée.

Nous attendons de ce modèle qu'il soit à la fois explicatif et prévisionnel.

Pour estimer les coefficients de ce modèle, nous avons établi un plan d'expérimentation présenté dans les Tableaux 3 et 4 pour l'extraction en Soxhlet et sous ultrasons, respectivement.

Le calcul des coefficients du modèle correspondant à l'équation (1) est réalisé par la méthode des moindres carrés :

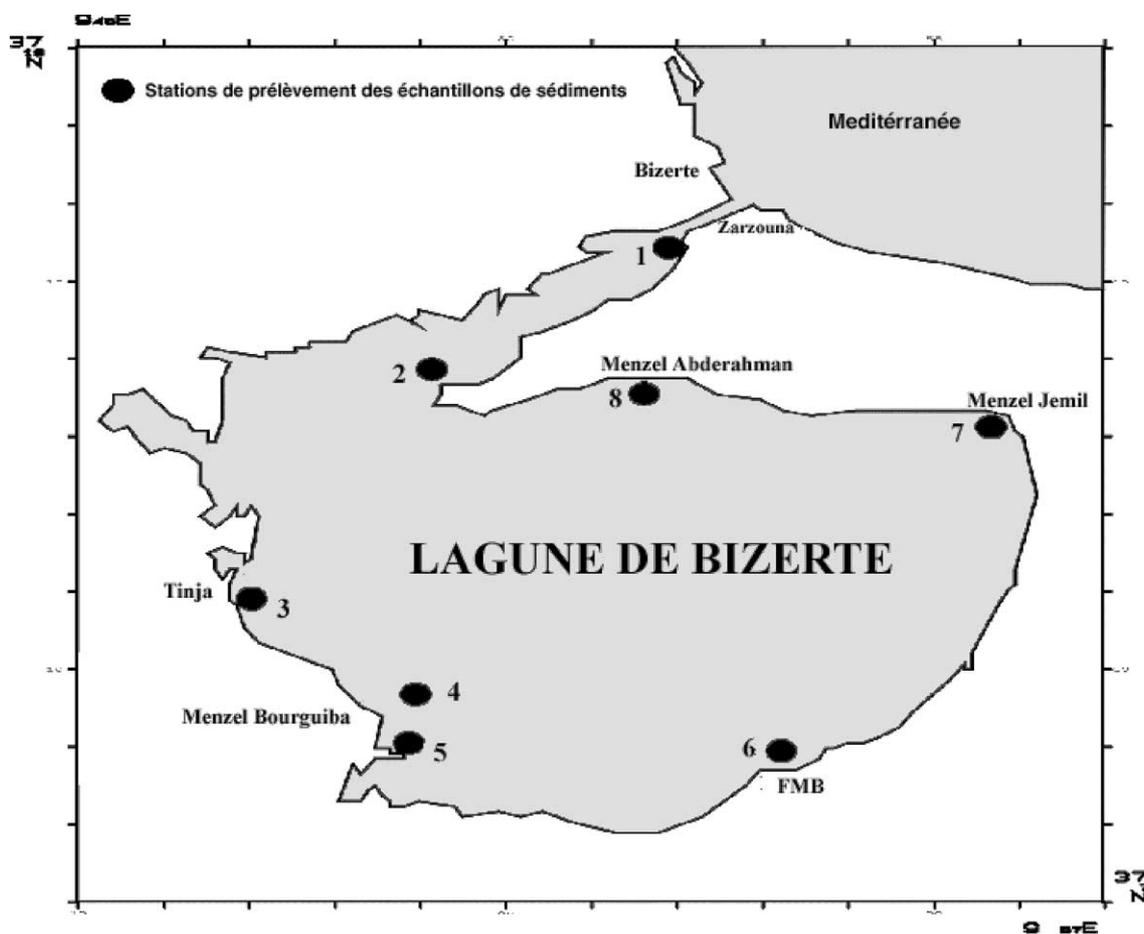
$$B = (X'X)^{-1} X'Y \quad (2)$$

où B est le vecteur des estimations des coefficients, $(X'X)$ est la matrice de dispersion, X' est la matrice transposée de la matrice du modèle X et Y est le vecteur des résultats expérimentaux.

3. Partie expérimentale

3.1. Échantillonnage : site et prétraitement

La lagune de Bizerte est considérée comme étant la deuxième lagune de Tunisie par sa surface [14]. Elle est située au sud-ouest de la ville de Bizerte et à l'Extrême-Nord de la Tunisie. Cette lagune est utilisée pour un élevage expérimental d'huîtres et d'autres



FMB : Ferme privée des mollusques bivalves.
 Bizerte : Ville de Bizerte.

Figure 1. Localisation des stations de prélèvement des échantillons de sédiments.

Figure 1. Location of sediment sampling stations.

Tableau 1. Domaine expérimental d'extraction par Soxhlet.

Table 1. Experimental field using the Soxhlet extractor.

Variable codée X_i	-1	+1
Facteur 1 : durée	8	16
Facteur 2 : nature du solvant	ACN/MeOH	hexane/DCM

Tableau 2. Domaine expérimental d'extraction sous ultrasons.

Table 2. Experimental field using ultrasonic method.

Variable codée X_i	-1	+1
Facteur 1 : durée	30	60
Facteur 2 : nature du solvant	ACN/MeOH	hexane/DCM

coquillages ; elle représente aussi une zone importante de pêche. Comme sources de pollution au voisinage de la lagune (Fig. 1), on rencontre des ports, une raffinerie de pétrole (au niveau de la sortie du canal vers la Méditerranée), une cimenterie proche de la ville de Bizerte et une aciérie à Menzel Bourguiba. Deux campagnes d'échantillonnage des sédiments ont été

effectuées respectivement en août 1999 et en janvier 2000. Les stations de prélèvement des sédiments ont été choisies de manière à couvrir l'ensemble de la lagune (Fig. 1). L'échantillonnage des sédiments a été réalisé sur les vingt premiers centimètres de sédiment où s'effectuent des transferts d'éléments entre les sédiments et l'eau surnageante [8]. Les échantillons collectés ont été conservés à une température de 4 °C. Avant de les analyser, les échantillons ont été lyophilisés, puis broyés.

3.2. Solvants et réactifs utilisés

L'hexane, le dichlorométhane (DCM), le méthanol (MeOH) et l'acétonitrile (ACN) ont été utilisés comme solvants de haute pureté (marque Burdick and Jackson). Le sulfate de sodium Na_2SO_4 anhydre, le cuivre en poudre (granulométrie < 63 μm), le mercure liquide, l'oxyde d'aluminium 90 activé neutre pour chromatographie sur colonne (70–230 mesh), le gel de silice 60 pour chromatographie sur colonne (230–400 mesh) et HCl 32% pour analyse, tous com-

Tableau 3. Plan d'expérimentation pour l'extraction avec l'extracteur Soxhlet.

Table 3. Experimental design using Soxhlet extractor.

Durée (h)	Solvant
8	hexane/DCM
12	hexane/DCM
16	hexane/DCM
8	ACN/MeOH
12	ACN/MeOH
16	ACN/MeOH

Tableau 4. Plan d'expérimentation pour l'extraction sous ultrasons.

Table 4. Experimental design using ultrasonic method.

Durée (min)	Solvant
30	hexane/DCM
45	hexane/DCM
60	hexane/DCM
30	ACN/MeOH
45	ACN/MeOH
60	ACN/MeOH

mercialisés par Merck, ont été utilisés pour les analyses spécifiques. Le gel de silice et l'oxyde d'aluminium ont été nettoyés dans un extracteur Soxhlet, pendant 16 h, avec le mélange de solvant d'extraction (hexane/DCM ou MeOH/ACN), puis activés pendant 4 h à 200 °C et désactivés avec 5% d'eau distillée, préalablement extraite avec de l'hexane. Les étalons provenant du National Institute of Standards and Technology (NIST) aux États-Unis ont été utilisés dans les analyses en CG–DIF et en CG–SM. Ils contiennent 21 HAP, à des concentrations respectives variant entre 1 ng µl⁻¹ et 10 ng µl⁻¹. Les standards deutérés anthracène d₁₀, chrysène d₁₂, pyrène d₁₀, perylène d₁₀ ont été achetés auprès de Cambridge Isotopes. Le 9,10-dihydroanthracène a été utilisé comme étalon interne [24]. L'échantillon de référence du sédiment IAEA-408 provient de l'Agence internationale de l'énergie atomique.

3.3. Procédure d'extraction

3.3.1. Soxhlet

7 g de sédiment lyophilisé ont été placés dans une cartouche en cellulose, préalablement nettoyée avec le mélange de solvants hexane/DCM ou ACN/MeOH. Les sédiments sont extraits avec 200 ml de l'un des deux mélanges de solvants pendant 8, 12 et 16 h, en suivant le plan d'expérimentation présenté dans le Tableau 3. Avant de commencer l'extraction, 50 µl d'étalon interne (9,10-dihydroanthracène) sont ajoutés au sédiment. L'extrait est concentré et ensuite purifié.

3.3.2. Ultrasons

À 7 g de sédiment lyophilisé, on ajoute 50 µl d'étalon interne (9,10-dihydroanthracène) et 200 ml du mélange hexane/DCM ou ACN/MeOH, ajouté en deux fois, la seconde à mi-temps, pendant des durées totales de 30, 45 et 60 min. Le plan d'expérimentation pour l'extraction sous ultrasons est présenté dans le Tableau 4. L'extrait est ensuite filtré et concentré pour être purifié.

3.3.3. Purification

Pour choisir la meilleure méthode à adopter afin d'éliminer le soufre du sédiment, nous avons utilisé deux échantillons identiques de sédiment de référence, que nous avons extraits, puis traités afin d'en éliminer le soufre en utilisant, soit le mercure, soit le cuivre. La désulfuration avec le mercure a été réalisée en ajoutant à l'extrait quelques gouttes de mercure liquide et en agitant avec un agitateur vortex, puis en centrifugeant et en transvasant le surnageant dans un autre tube. On a répété cette opération plusieurs fois, jusqu'à ce qu'il n'y eût plus de dépôt noir témoignant de la formation de HgS. Avant son utilisation, le cuivre a été traité à l'acide chlorhydrique (32%), puis rincé à l'eau jusqu'à l'obtention d'un pH neutre, avec de l'acétone et finalement avec de l'hexane. On ajoute en excès le cuivre activé à l'extrait de sédiment, on laisse le mélange reposer une nuit, puis on transvase le surnageant dans un autre ballon pour le concentrer à l'évaporateur rotatif.

3.3.4. Séparation par chromatographie d'adsorption

La pré-séparation entre les hydrocarbures aliphatiques et les hydrocarbures aromatiques est effectuée par chromatographie d'adsorption. Elle est réalisée sur une colonne remplie de 5 g de silice, 10 g d'alumine et 1 g de Na₂SO₄. L'extrait concentré à 1 ml est transféré dans la colonne. Une première élution est réalisée avec 20 ml d'hexane (F1) et renferme les hydrocarbures aliphatiques. Les hydrocarbures insaturés ainsi que les aromatiques sont élués ensuite par 30 ml d'un mélange contenant 90% d'hexane et 10% de dichlorométhane, puis par 20 ml du mélange hexane/DCM (50/50).

3.3.5. Analyse

L'analyse a été réalisée en CG–DIF (chromatographe en phase gazeuse «Fisons série 8000» avec détecteur à ionisation de flamme) et en CG–SM (chromatographe en phase gazeuse «de type HP 5890 series II» couplé à un spectromètre de masse).

Tableau 5. Rendement obtenu lors de l'extraction avec l'extracteur Soxhlet.

Durée (h)	Solvant	Rendement (%)
8	hexane/DCM	73,1
12	hexane/DCM	95,1
16	hexane/DCM	92,1
8	ACN/MeOH	55,5
12	ACN/MeOH	71,7
16	ACN/MeOH	70,7

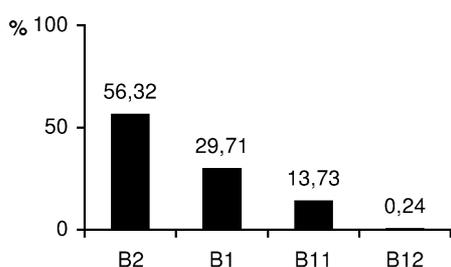


Figure 2. Analyse graphique des effets, selon Pareto [20]. B₁ (B₂) représente le pourcentage d'influence du terme X₁ (X₂) sur la variation du rendement de l'extraction. B₁₁ représente le pourcentage d'influence du terme X₁² sur la variation du rendement de l'extraction. B₁₂ représente le pourcentage d'influence du terme X₁X₂ sur la variation du rendement de l'extraction.

Figure 2. Pareto analysis [20]. B_i represent the percentage effect of the term X_i on the extraction recovery.

4. Résultats et discussions

Les deux paramètres étudiés, à savoir l'extraction et la purification, seront discutés séparément.

4.1. Étude du rendement d'extraction

4.1.1. Soxhlet

Le Tableau 5 représente les résultats du rendement obtenu pour chaque expérience. L'application de l'équation (2), conduit à obtenir les coefficients du modèle correspondant à l'équation (1) et permet d'avoir l'équation suivante :

$$\rho = 83,35 + 8,55 X_1 - 10,35 X_2 - 0,95 X_1 X_2 - 10,55 X_1^2 \quad (3)$$

L'étude des transformations de Box et Cox [3] révèle l'utilité de transformer ρ en $1/\sqrt{\rho}$, ce qui conduit à :

$$\frac{1}{\sqrt{\rho}} = 0,1104 - 0,0070 X_1 - 0,0079 X_2 + 0,0006 X_1 X_2 + 0,0083 X_1^2 \quad (4)$$

L'analyse graphique des effets selon la méthode Pareto [20], nous permet de constater, d'après la Fig. 2, que l'effet le plus important sur le rendement est dû à

Tableau 6. Rendement obtenu lors de l'extraction sous ultrasons.

Table 6. Recovery obtained using ultrasonic method.

Durée (min)	Solvant	Rendement (%)
30	hexane/DCM	57,7
45	hexane/DCM	64,7
60	hexane/DCM	67,7
30	ACN/MeOH	49,1
45	ACN/MeOH	47,3
60	ACN/MeOH	47,7

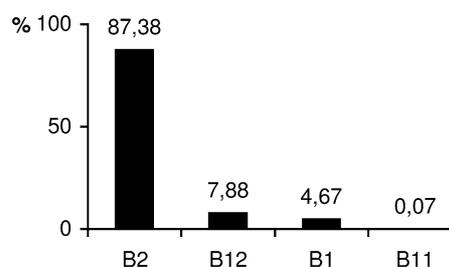


Figure 3. Analyse graphique des effets, selon Pareto [20]. B₁ (B₂) représente le pourcentage d'influence du terme X₁ (X₂) sur la variation du rendement de l'extraction. B₁₁ représente le pourcentage d'influence du terme X₁² sur la variation du rendement de l'extraction. B₁₂ représente le pourcentage d'influence du terme X₁X₂ sur la variation du rendement de l'extraction.

Figure 3. Pareto analysis [20]. B_i represent the percentage effect of the term X_i on the extraction recovery.

la nature du solvant (B₂ = 56,32%). Il faut noter que chaque histogramme représente l'influence des termes du modèle (1) sur la variation du rendement de l'extraction.

Le maximum du rendement est obtenu, d'après l'équation (4), avec une durée de 13 h 30 min et avec le solvant hexane/DCM. Pour une durée de 12 h, le rendement est de 95%, proche du rendement obtenu à 13 h 30 min. Pour ces raisons, nous avons décidé de retenir une durée de 12 h.

4.1.2. Traitement par les ultrasons

Le Tableau 6 représente les résultats du rendement obtenu pour chaque expérience.

Après avoir appliqué l'équation (2), nous obtenons l'équation suivante :

$$\rho = 56 + 2,175 X_1 + 7,683 X_2 + 2,825 X_1 X_2 - 0,475 X_1^2 \quad (5)$$

D'après le Tableau 6, le meilleur rendement (67,7%) est obtenu pour une durée de 60 min avec le solvant hexane/DCM.

L'analyse graphique des effets selon Pareto [20], nous permet de constater (Fig. 3), que la nature du solvant est très influente sur le rendement d'extraction (87,38%).

4.1.3. Comparaison des deux techniques d'extraction, en Soxhlet et sous ultrasons

La nature du solvant a une influence plus importante sur le rendement sous ultrasons (87,38%) qu'avec l'extracteur Soxhlet (56,32%). L'interaction entre la nature du solvant et la durée d'extraction est plus importante pour la technique utilisant les ultrasons (7,88%) que pour l'extracteur Soxhlet (influence presque négligeable, 0,24%). Il semble donc plus intéressant d'utiliser l'extracteur Soxhlet que les ultrasons, puisque, pour tous les HAP, les concentrations trouvées dans l'extraction avec le Soxhlet sont proches des concentrations recommandées par l'IAEA pour l'échantillon de référence IAEA-408, alors que les concentrations des HAP trouvées après extraction sous ultrasons sont inférieures aux concentrations recommandées (Tableau 7).

4.2. Efficacité de la procédure de désulfuration

La purification de deux extraits du sédiment de référence IAEA-408, l'une avec le cuivre activé et l'autre avec le mercure, a donné des rendements variant de 93 à 96% pour le cuivre et de 72 à 79% pour le mercure. Comme le montre la Fig. 4, la perte est observée surtout dans le cas des composés lourds lors de la désulfuration par le mercure.

4.3. Application

Dans le but d'évaluer les concentrations des HAP, 16 échantillons (huit en saison hivernale et huit en saison estivale) ont été prélevés dans la lagune de Bizerte. Les Figs. 5 et 6 résument les résultats des analyses des HAP dans les sédiments de la lagune de Bizerte. Il est à noter que ces résultats proviennent de l'analyse des échantillons totaux en utilisant l'extracteur de Soxhlet pendant 12 h avec le mélange hexane/DCM (50:50).

Les teneurs les plus élevées en hydrocarbures sont enregistrées le long du chenal (entre le goulet et l'ar-

Tableau 7. Comparaison des concentrations des HAP (ng g⁻¹) dans l'échantillon de référence de sédiment dans les conditions optimales obtenues pour l'extracteur de Soxhlet et les ultrasons.

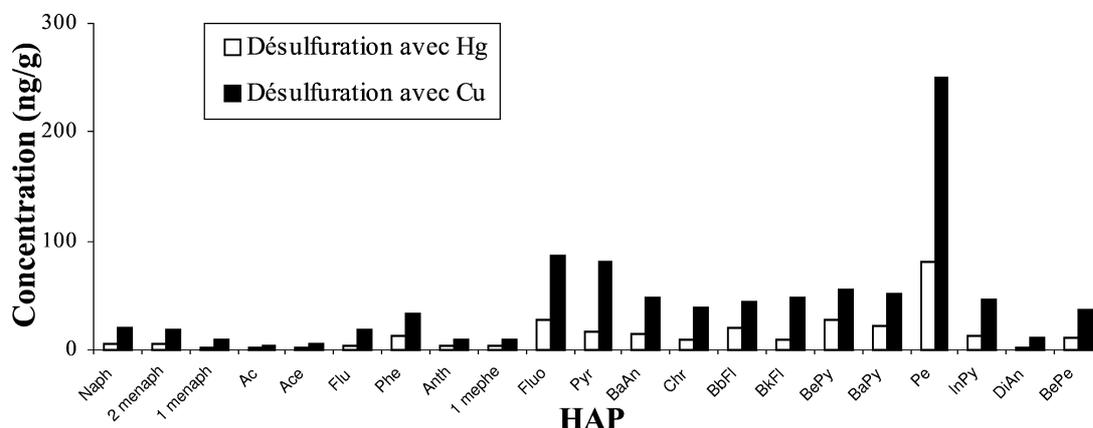
Table 7. Comparison of PAHs concentrations (ng g⁻¹) in a standard reference material in the optimal conditions of extraction, using Soxhlet and ultrasonic methods.

Composés	IAEA-408	Soxhlet	Ultrasons
Naphtalène	27	20,64	7,53
2-Méthylnaphtalène	14	17,88	6,43
1-Méthylnaphtalène	7,5	9,68	3,29
Acenaphthylène	3,6	3,96	1,13
Acenaphthène	3,3	5,39	1,70
Fluorène	6,7	19,13	3,06
Phénanthrène	35	33,24	20,63
Anthracène	9,8	8,33	5,22
1-Méthylphénanthrène	10	9,66	7,77
Fluoranthène	84	85,86	20,55
Pyrène	77	81,90	38,73
Benz(a)anthracène	53	47,78	30,01
Chrysène	35	38,57	34,74
Benzo(b)fluoranthène	46	44,30	20,95
Benzo(k)fluoranthène	46	47,12	20,68
Benzo(e)pyrène	55	55,51	38,83
Benzo(a)pyrène	48	50,73	20,07
Pérylène	320	350,37	95,95
Indeno(1,2,3-cd)pyrène	51	46,59	20,76
Dibenzo(a,h)anthracène	11	10,83	3,01
Benzo(g,h,i)perylène	38	36,97	9,69

senal de Menzel Bourguiba), chemin le plus fréquenté par les bateaux ; ces teneurs se rapprochent des valeurs trouvées par Soussi [22]. Les concentrations les plus élevées sont constatées pour les stations 2 et 4, en saison hivernale. Ceci peut être expliqué par le fait que la station 2 est située à l'embouchure du canal qui relie la lagune à la mer Méditerranée, là où le trafic maritime est important. La station 4 est située, elle aussi, à l'entrée du port de Menzel Bourguiba. La station 1 se situe, elle aussi, sur le canal qui relie la lagune à la mer Méditerranée, mais nous avons constaté que les concentrations en HAP sont inférieures à celles obtenues

Figure 4. Comparaison de deux méthodes d'élimination de soufre (Hg et Cu).

Figure 4. Comparison of two methods of sulphur elimination (Hg et Cu).



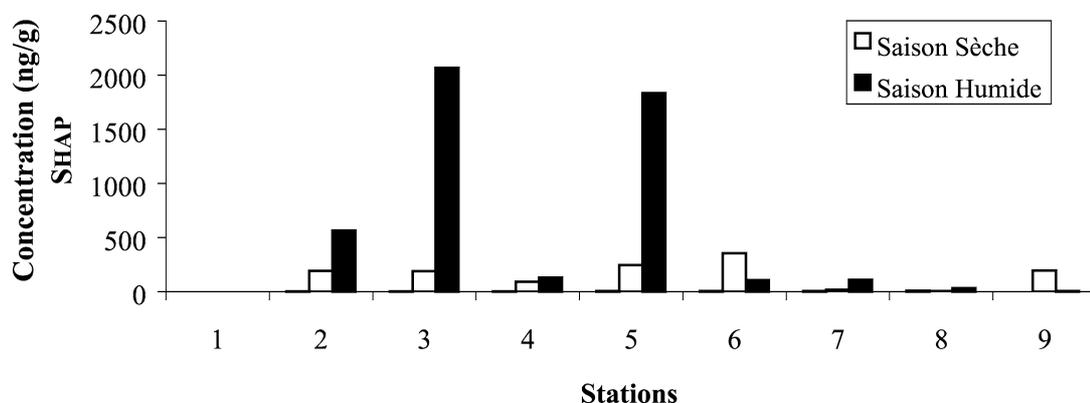


Figure 5. Somme des HAP dans les différentes stations.

Figure 5. Sum of PAHs in the different stations.

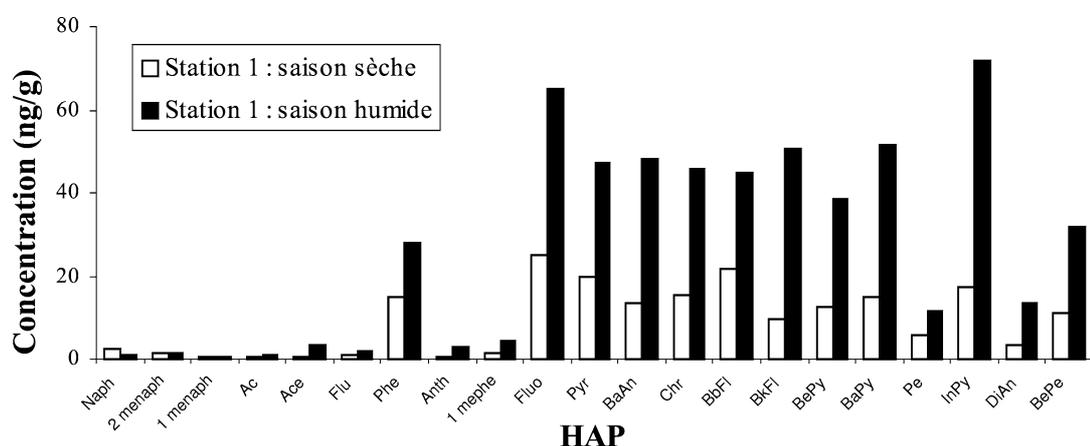


Figure 6. Teneurs en HAP mesurées dans la station 1.

Figure 6. Concentration of PAHs measured in station 1.

nues dans la station 2. Ceci peut être expliqué par la position de la station 1, qui est proche de la mer, là où les échanges sont les plus importants. Néanmoins, ces teneurs restent toutes faibles et ne causent aucun danger dans la chaîne trophique. Les concentrations trouvées pour toutes les stations en saison estivale sont relativement faibles par rapport à celles trouvées en saison hivernale. Ce résultat est convergent avec ceux de Mille et al. [17], qui ont montré que l'analyse de sédiment superficiel de la lagune de Brusac, en France, révèle des concentrations en HAP plus importantes en hiver que pendant les autres saisons de l'année.

Les stations 3, 5, 6, 7 et 8 ont révélé des teneurs très faibles (à l'état d'ultraces) en HAP.

5. Conclusion

Les paramètres d'extraction et de purification ont été étudiés sur un sédiment de référence, afin d'être

appliqués à la mesure de la concentration de 21 HAP dans des sédiments marins prélevés dans la lagune de Bizerte. L'extraction avec l'extracteur de Soxhlet donne un meilleur rendement que la méthode mettant en œuvre les ultrasons. Le mélange hexane/DCM, utilisé pendant une durée de 12 h, semble être plus efficace pour l'extraction des HAP que le mélange ACN/MeOH, utilisé, lui aussi, pendant une durée de 12 h. La désulfuration avec le cuivre en poudre activé est plus efficace qu'avec le mercure liquide, surtout pour les HAP de hauts poids moléculaires. L'analyse des HAP dans des échantillons prélevés dans la lagune de Bizerte ne montre aucune contamination, bien que les stations 2 et 4 révèlent en saison hivernale des valeurs plus élevées que celles obtenues pour les autres stations, mais ces valeurs ($0,01 \mu\text{g g}^{-1}$ et $2,5 \mu\text{g g}^{-1}$) restent inférieures à la valeur de $45 \mu\text{g g}^{-1}$, considérée comme la norme à ne pas dépasser pour des sédiments marins [15].

Remerciements. Les auteurs remercient le Département de la coopération technique de l'Agence internationale de l'énergie atomique (IAEA) pour le support financier apporté au présent travail.

Références

- [1] J.D. Berset, R. Holzer, Organic micropollutants in Swiss agriculture: distribution of polynuclear aromatic hydrocarbons (PAH) and polychlorinated biphenyls (PCB) in soil, liquid manure, sewage sludge and compost samples; a comparative study, *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 59 (1995) 145–165.
- [2] J.D. Berset, M. Ejem, R. Holzer, P. Lischer, Comparison of different drying, extraction and detection techniques for the determination of priority polycyclic aromatic hydrocarbons in background contaminated soil samples, *Anal. Chim. Acta* 383 (1999) 263–275.
- [3] G.E.P. Box, D.R. Cox, *J. R. Stat. Soc. Series B* 26 (1964) 211.
- [4] G.M. Brilis, P.J. Mardsen, Comparative evaluation of Soxhlet and sonication extraction in the determination of polynuclear aromatic hydrocarbons in soil, *Chemosphere* 21 (1990) 91.
- [5] Draft International Standard ISO/DIS 13877, Qualité du sol – dosage des hydrocarbures aromatiques polycycliques – méthode par chromatographie en phase liquide à haute performance, 1995.
- [6] S. Dridi, Étude chromatographique en phase gazeuse, en phase liquide et par spectrométrie de masse des HAP. Application à divers milieux, thèse, faculté des sciences de Tunis, 2000.
- [7] S. Dupeyron, P.M. Dudermeil, D. Couturier, P. Guarini, J.-M. Delattre, Extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from soils: a comparison between focused microwave assisted extraction, supercritical fluid extraction, subcritical solvent extraction, sonication and Soxhlet techniques, *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 73 (1999) 191–210.
- [8] P. Garrigues, H.H. Soclo, M.P. Marniesse, M. Ewald, Origin of polycyclic aromatic hydrocarbons in recent sediments, *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 28 (1988) 121.
- [9] G. Grimmer, J. Jacob, K.W. Naujack, Profile of the polycyclic aromatic hydrocarbons from lubricating oils: inventory by GC/MS-PAH in environmental materials, Part I, *Fresenius J. Anal. Chem.* 306 (1981) 347.
- [10] T.F. Guerin, The extraction of aged polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) residues from a clay soil using sonication and Soxhlet procedure: a comparative study, *J. Environ. Monit.* 1 (1999) 63–67.
- [11] S.B. Howerton, J.V. Goodpaster, V.L. McGuffin, Characterization of polycyclic aromatic hydrocarbons in environmental samples by selective fluorescence quenching, *Anal. Chim. Acta* 459 (2002) 61–73.
- [12] J. Jacob, W. Karcher, P.J. Wagstaffe, Polycyclic aromatic compounds of environmental and occupational importance – their occurrence, toxicity and development of high-purity certified reference material, Part I, *Fresenius Z. Anal. Chem.* 317 (1984) 101–114.
- [13] J. Jacob, G. Grimmer, A. Hildebrandt, The use of passive samples for monitoring polyaromatic hydrocarbons in ambient air, *Sci. Total Environ.* 139–140 (1993) 307.
- [14] J. Kamens, O. Pilkey, P. Whreling, Étude sédimentologique des lacs de Bizerte et de Tunis, Notes du service géologique de Tunisie n° 49, 1984.
- [15] E.R. Long, D.D. MacDonald, S.L. Smith, F.D. Calder, Incidence of adverse biological effects within ranges of chemical concentrations in marine and estuarine sediments, *Environ. Manag.* 19 (1995) 81.
- [16] D. Mazzera, T. Hayes, D. Lowenthal, B. Zielinska, Quantification of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil at McMurdo station, Antarctica, *Sci. Total Environ.* 229 (1999) 65.
- [17] G. Mille, Y.Y. Chen, H. Dou, hydrocarbures présents dans des sédiments superficiels méditerranéens (zone côtière Fos-sur-Mer-Monaco), in : 6^{es} journées d'étude des pollutions, Cannes, CIESM, 1982, p. 197.
- [18] J.S. Miller, Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons by spectrofluorimetry, *Anal. Chim. Acta* 388 (1999) 27–34.
- [19] F.O. Onuska, in : B.K. Afghan, A.S. Chau (Eds.), *Analysis of Trace Organics in the Aquatic Environment*, CRC Press, Boca Raton, 1989.
- [20] D. Perry Haaland, *Experimental Design in Biotechnology*, Marcel Dekker, Inc., New York, Basel, 1989.
- [21] M. Richards, R.M. Campbell, Comparison of supercritical fluid extraction, Soxhlet, and sonication methods for the determination of priority pollutants in soil, *LC-GC Int.* 4 (1990) 33–35.
- [22] N. Soussi, Mécanismes de la sédimentation et évolution paléogéographique de la lagune de Bizerte (Tunisie) durant le Quaternaire récent, thèse, université Paul-Sabatier, Toulouse, 1981.
- [23] F. Sun, D. Littlejohn, M.D. Gibson, Ultrasonication extraction and solid phase extraction clean-up for determination of US EPA 16 priority pollutant polycyclic aromatic hydrocarbons in soils by reversed-phase liquid chromatography with ultraviolet absorption detection, *Anal. Chim. Acta* 364 (1998) 1–11.
- [24] UNEP/IOC/IAEA, Determination of petroleum hydrocarbons in sediments, Reference Methods for Marine Pollution Studies n° 20, UNEP, 1992.