Étude des interactions du Benzo(a)pyrène avec les trois fractions physiques de la matière organique du sol par matrices d'excitation et d'émission de fluorescence couplées à PARAFAC

Rawa El Fallah

▶ **To cite this version:**

Rawa El Fallah. Étude des interactions du Benzo(a)pyrène avec les trois fractions physiques de la matière organique du sol par matrices d'excitation et d'émission de fluorescence couplées à PARAFAC. Sciences agricoles. Université de Perpignan, 2017. Français. NNT : 2017PERP0034 . tel-01684218

HAL Id: tel-01684218

https://theses.hal.science/tel-01684218

Submitted on 15 Jan 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THÈSE

Pour obtenir le grade de

Docteur

Délivré par

UNIVERSITÉ DE PERPIGNAN VIA DOMITIA

Préparée au sein de l'école doctorale

Énergie Environnement ED 305

Et de l'unité de recherche

Biocapteurs-Analyse-Environnement (BAE) Laboratoire de Biodiversité et Biotechnologies Microbiennes (LBBM USR 3579)

Spécialité : Chimie

Présentée par **Rawa EL FALLAH**

Études des interactions du Benzo(a)pyrène avec les trois fractions physiques de la matière organique du sol par matrices d'excitation et d'émission de fluorescence couplées à PARAFAC

Soutenue le 15 décembre 2017 devant le jury composé de

Mme Madeleine GOUTX, Directrice de Recherche, CNRS, MIO, Université Aix-Marseille	Rapporteur
Mme Claire RICHARD, Directrice de Recherche, CNRS, ICCF, Université Clermont Auvergne	Rapporteur
M. Stéphane MOUNIER, Maître de Conférences-HDR, PROTEE, Université de Toulon	Examinateur
M. Roland REDON, Maître de Conférences, PROTEE, Université de Toulon	Examinateur
M. Régis ROUILLON, Professeur, BAE-LBBM, Université de Perpignan Via Domitia	Directeur de thèse
Mme Florence VOUVÉ, Maître de Conférences, BAE-LBBM, Université de Perpignan Via Domitia	Co-directeur de thèse

À ma famille et

à l'âme de mon papa Hassan El Fallah

Remerciements

Ce travail a été réalisé au sein du laboratoire BAE-LBBM. J'exprime ma reconnaissance au professeur Thierry Noguer pour la confiance qu'il m'a témoignée en m'accueillant au sein de son équipe pendant ces années de recherche.

Je remercie mes directeurs de thèse, Mme Florence Vouvé, pour sa sympathie, son esprit scientifique, ces conseils, ces remarques et le temps qu'elle a consacré à m'apprendre la photochimie, M. Régis Rouillon, pour sa disponibilité ainsi que pour l'intérêt porté à mon travail.

Je remercie les rapporteurs de ma thèse Mme Madeleine Goutx et Mme Claire Richard ainsi que les examinateurs M. Stéphane Mounier et M. Roland Redon, pour avoir accepté d'évaluer mon travail.

Un grand merci à Mr. Georges Istamboulié pour son aide avec les mesures d'HPLC et aux autres membres du labo BAE-LBBM pour leur gentillesse et leur amabilité. Merci à Mr. Christophe Canal pour les échantillons de sols brûlés.

Mes remerciements vont aussi au laboratoire PROTEE (Université de Toulon) pour m'avoir accueillie pour réaliser les mesures de durée de vie de fluorescence. Je remercie également M. Houssam Hajjoul, ingénieur de recherche à PROTEE, pour sa disponibilité et le temps consacré pour réaliser les manipulations. Un grand merci à M. Stéphane Mounier et M. Roland Redon pour les discussions, les échanges, les conseils ainsi que leur aide pour l'interprétation des résultats de durée de vie de fluorescence. Les formations suivies au sein du laboratoire PROTEE m'ont été très utiles pour maitriser les traitements de données. Un grand merci à M. Redon pour « progmeef » !

À tous les amis qui m'ont accompagnée durant ces trois années de thèse, Chemseddine Chohra, Kinda Alassaly, Alaa Numan, Rouba Houssami, Issam Karrat, Antonia Castro, Ahmad Awad, Félix Authier (la liste est grande, j'espère que j'ai oublié personne) merci pour votre amitié et pour votre présence. Des remerciements du cœur à Rafif Nheili, Hadjer Moussa, Anis Benallal, Jannine Marquez Lencina Avila (après trois ans j'ai pu enfin mémoriser ton nom entier) et Hughes De Lassus Saint-Geniès, avec qui j'ai partagé les « ups and downs », je vous dis merci pour les précieux souvenirs qu'on a créés ensemble et pour votre soutien. Un grand merci à Christine Beceiro Servantes, avec son sourire et sa gentillesse et ses encouragements quotidiens ; elle m'a donné l'espoir à la fin des longues journées de travail.

Je remercie le bureau du SURI de l'UPVD pour son support et orientation et surtout Mme. Brajou pour ses échanges et son amabilité.

Mes remerciements les plus sincères vont à Joanna El Husseini, mon amie d'enfance et ma confidente que j'aime beaucoup ; dont je tiens trop à sa présence dans ma vie, les retours de son propre expérience de thèse et ces conseils m'ont motivé à achever cette thèse. Mon amie Zeina Tlaiss, merci pour ton attention, tes encouragements les rires et la motivation, et tous les bons moments partagés entre Paris, Perpignan et Collioure ; je suis heureuse que nos chemins se soient croisés.

Amir Ragab, merci pour simplement TOUT.

Je ne pourrais terminer mes remerciements sans y associer ma famille, merci à ma mère Nadia Zakkour ; je sais que tu as discrètement partagé avec moi mes angoisses et les périodes de stress. Mes remerciements à mes sœurs Ghina El Fallah Yamani et Dima El Fallah Mneimneh, pour leur optimisme, et le support moral qu'elles me donnent chaque jour, à mes frères Ahmad El Fallah et Mourad El Fallah pour leur soutien dans les bons comme les mauvais moments ; merci pour ce que vous m'apportez au quotidien. Je vous aime fort.

Sommaire

Chapitre I. Introduction 1

Chapitre II. ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE 4

II.1. La pollution environnementale 4

II.1.1. La pollution des sols 5

II.1.2. Les hydrocarbures aromatiques polycycliques 7

II.1.3. Le devenir des HAP dans le sol 11

II.2. Le Benzo(a)pyrène 14

II.3. Les matières organiques 16

II.3.1. Définition de la matière organique naturelle 16

II.3.2. Rôle de la matière organique du sol (MOS) 19

II.3.3. Substances Humiques 20

II.3.4. Les Acides Fulviques (AF) et les Acides Humiques (AH) 21

II.3.5. Études des SH, AF, AH et du BaP par la technique de fluorescence 22

Chapitre III. Matériels et Méthodes 25

III.1. Extraction et fractionnement physique de la matière organique des échantillons de sol 25

III.1.1. Préparation des échantillons de sol 25

III.1.2. Extraction des substances humiques (SH) 25

III.1.3. Fractionnement physique des acides fulviques (AF) et des acides humiques (AH) 26

III.2. Le carbone organique dissous (COD) 27

III.3. Préparation de la solution de benzo(a)pyrène (BaP) 28

III.4. La spectroscopie de fluorescence 28

III.4.1. Le principe de la fluorescence 28

III.4.2. Matrices d'excitation et d'émission de fluorescence (MEEFs) 31

III.4.3. Facteurs influençant la fluorescence 33

III.5. Principe de l'algorithme Parallel Factor Analysis (PARAFAC) 35

III.6. Coefficient de similarité 38

III.7. La durée de vie de fluorescence 39

III.8. La chromatographie liquide haute pression/performance (HPLC) 41

III.9. Échantillons naturels de sol brûlé 43

Chapitre IV. Propriétés spectrales des fluorophores des fractions SH, AF et AH lors de l'addition de BaP pur en solution 44

IV.1. Préparation des échantillons de référence 44

IV.2. Préparation des expériences avec le BaP 44

IV.3. Analyses des MEEFs-3D et traitement PARAFAC 45

IV.3.1. Détermination et caractérisation des fluorophores présents dans les fractions de référence SH, AF et AH 45

IV.3.1.1. Comparaison de propriétés spectrales des fluorophores présents dans les fractions de référence SH, AF et AH 49

IV.3.2. Caractérisations spectrales des fluorophores après ajout du BaP dans les fractions SH_{BaP}, AF_{BaP} et AH_{BaP} 51

IV.3.3. Comparaison des fluorophores des fractions de référence avec ceux des fractions avec BaP 54

IV.4. Impact du BaP sur les concentrations des fluorophores présents dans les fractions du sol 57

IV.5. Expérience de durée de vie de fluorescence 64

Chapitre V. Devenir du BaP dans les fractions de sol SH, AF et AH au cours du temps 68

V.1. Préparation des expériences de cinétique 68

V.2. Caractérisations spectrales des fractions SH, AF et AH de référence 71

V.3. Expériences de mélange de BaP avec les fractions SH, AF et AH suivies dans le temps 73

V.4. Caractérisation des signatures de fluorescence des composants présents dans les différents groupes des mélanges SH, AF et AH avec BaP – Résultats des modèles PARAFAC à 3 composants 76

V.4.1. Groupe G1 76

V.4.1.1. Groupe G1 t1 76

V.4.1.2. Groupe G1 t2 80

V.4.1.3. Groupe G1 t3 82

V.4.1.4. Comparaison des groupes G1 t1, G1 t2 et G1 t3 85

V.4.2. Groupe G2 89

V.4.2.1. Groupe G2 t1 89

V.4.2.2. Groupe G2 t2 92

V.4.2.3. Groupe G2 t3 94

V.4.2.4. Comparaison des groupes G2 t1, G2 t2 et G2 t3 97

V.4.3. Groupe G3 100

V.4.3.1. Groupe G3 t1 100

V.4.3.2. Groupes G3 t2 et G3 t3 102

V.4.3.3. Comparaison des groupes G3 t1, G3 t2 et G3 t3 102

V.4.4. Variation de la concentration de BaP 105

V.4.4.1. Comparaison des groupes G1 t1, G2 t1 et G3 t1 - 24 h d'agitation 105

V.4.4.2. Comparaisons des groupes G1 t2, G2 t2 et G3 t2 – 48 h d'agitation 106

V.4.4.3. Comparaison des groupes G1 t3, G2 t3 et G3 t3 – 72 h d'agitation 107

V.5. Résultats des modèles PARAFAC à 4 composants 109

V.5.1. Groupe G1 109

V.5.1.1. Groupe G1 t1 109

V.5.1.2. Groupe G1 t2 110

V.5.1.3. Groupe G1 t3 112

V.5.1.4. Comparaison des groupes G1 t1 ; G1 t2 et G1 t3 113

V.5.1.5. Groupes G2 t1, G2 t2 et G2 t3 116

V.5.1.6. Groupe G3 t1, G3 t2 et G3 t3 119

V.5.1.7. Comparaison des deux modèles à 3 et 4 composants 121

Chapitre VI. Comparaison des concentrations du BaP obtenues par la méthode HPLC et par la méthode MEEFs-PARAFAC 124

VI.1. Quantification du BaP dans les mélanges SH, AF, AH avec BaP par HPLC 124

VI.1.1. Étalonnage du BaP pur en HPLC 124

VI.1.2. Analyses des mélanges SH, AF, AH avec le BaP par HPLC 125

VI.2. Comparaison des quantifications du BaP par les deux méthodes 126

Chapitre VII. Détection du BaP dans des sols incendiés (SH, AF, AH) 136

VII.1. Préparation et analyses des sols 136

VII.2. Caractéristiques spectrales des composants des sols témoins et incendiés…….. 136

VII.3. Comparaisons des pseudo-concentrations entre les trois stations..... 140

Conclusion 142

Perspectives 144

Annexe A 145

Annexe B 146

Annexe C 148

Annexe D 151

Annexe E 153

Annexe F 157

Annexe G 161

Références 163

Résumé 181

Abstract 181

Liste des Tableaux

Tableau II-1 Répartition des sites pollués par région (source : http://basol.developpement-durable.gouv.fr/ Basol, 2017). 6

Tableau II-2 Principaux polluants constatés (seuls ou en mélange) (Basol, 2017). 7

Tableau II-3 : Propriétés des 16 HAP (Mackay et al 1992). (* IARC, 1987, 2002) 2A probablement cancérigène pour l'homme ; 2B : peut-être cancérigène pour l'homme ; 3 : non classifiable comme cancérigène pour l'homme (possible mais insuffisamment étudié) ; n.e. non étudié. 10

Tableau II-4 Classement des sous-secteurs* les plus émetteurs d'HAP (le benzo(a)pyrène, le benzo(b)fluoranthène, le benzo(k)fluoranthène,l 'indeno(1,2,3-cd)pyrène,le benzo(g,h,i)pérylène, l'anthracène, le fluoranthène, le naphtalène) en 2015 (source ; www.citepa.org consulté le 11/04/2017). 15

Tableau II-5 : Couples de longueurs d'ondes d'excitation et d'émission de fluorescence λex/λem (nm) tirés de quelques travaux (liste non exhaustive) des fluorophores présents dans la MON dissoute (Hammou, 2012). 18

Tableau II-6 Caractéristiques des acides humiques et fulviques (Martin et al., 1998) 22

Tableau IV-1 Longueurs d'ondes des maxima d'excitation et d'émission des fluorophores résultants de PARAFAC présents dans les fractions SH, AF et AH de référence. Comparaison avec les résultats de la bibliographie. 48

Tableau V-1 : Concentrations en carbone organique dissous (mg/L) des fractions de référence préparées. 71

Tableau V-2 Classement des échantillons dans 9 groupes pour les traitements PARAFAC... 75

Tableau V-3 Valeur des coefficients de similarité r_c des spectres d'excitation et d'émission des fluorophores issus du groupe G1 t1 avec un modèle à 3 composants (C1 G1 t1, C2 G1 t2 et C1 G1 t3) et les composants de référence issus du modèle PARAFAC à deux composants (C1 ref et C2 ref) et ceux du BaP pur. 78

Tableau V-4 Valeur des coefficients de similarité r_c des spectres d'excitation et d'émission des fluorophores issus du groupe 2 avec un modèle PARAFAC à 3 composants (C1 G1 t2, C2 G1 t2 et C3 G1 t2) avec les composants de référence issus du modèle PARAFAC à deux composants (C1 ref et C2 ref) et ceux du BaP pur. 81

Tableau V-5 Valeur des coefficients de similarité r_c des spectres d'excitation et d'émission des fluorophores issus du groupe G1 t3 avec un modèle PARAFAC à 3 composants (C1 G1 t3, B : C2 G1 t3 et C : C3 G1 t3) avec les composants de référence issus du modèle PARAFAC à deux composants (C1 ref et C2 ref) et ceux du BaP pur. 83

Tableau V-6 Comparaison des longueurs d'ondes (λex/λem) des trois composants des groupes G1 à t1, t2 et t3. 86

Tableau V-7 Valeur des coefficients de similarité r_c des spectres d'excitation et d'émission des fluorophores issus du groupe G2 t1 avec un modèle PARAFAC à 3 composants (C1 G2 t1, C2 G2 t1 et C3 G2 t1) avec les composants de référence issus du modèle PARAFAC à deux composants (C1 ref et C2 ref) et ceux du BaP pur. 90

Tableau V-8 Valeur des coefficients de similarité r_c des spectres d'excitation et d'émission des fluorophores issus du groupe G2 t2 avec un modèle PARAFAC à 3 composants (C1 G2 t2, C2 G2 t2 et C3 G2 t2) avec les composants de référence issus du modèle PARAFAC à deux composants (C1 ref et C2 ref) et ceux du BaP pur. 93

Tableau V-9 Valeur des coefficients de similarité r_c des spectres d'excitation et d'émission des fluorophores issus du groupe 6 avec un modèle PARAFAC à 3 composants (C1, C2 et C3 du groupe G2 t3) avec les composants de référence issus du modèle PARAFAC à deux composants (C1 ref et C2 ref) et ceux du BaP pur. 96

Tableau V-10 Valeur des coefficients de similarité r_c des spectres d'excitation et d'émission des fluorophores issus du groupe G3 t1 avec un modèle PARAFAC à 3 composants (C1 G3 t1, C2 G3 t1 et C3 G3 t1) avec les composants de référence issus du modèle PARAFAC à deux composants (C1 ref et C2 ref) et ceux du BaP pur. 101

Tableau V-11. CorConDia et longueurs d'onde λex / λem des composants identifiés par des modèles PARAFAC à 4 composants des groupes G2 t1, G2 t2 et G2 t3. 116

Tableau V-12 CorConDia et longueurs d'ondes λex / λem des composants identifiés par des modèles PARAFAC à 4 composants de groupes G3 t1, G3 t2 et G3 t3. 119

Tableau V-13 Longueurs d'ondes λex /λem des composants C1 dans tous les groupes testés en fonction des modèles PARAFAC. 121

Tableau V-14 Longueurs d'ondes λex /λem des composants C2 dans tous les groupes testés en fonction des modèles PARAFAC. 122

Tableau V-15 Longueurs d'ondes λex /λem des composants C3 dans tous les groupes testés en fonction des modèles PARAFAC. 123

Tableau VI-1 Temps de rétention des pics observés par HPLC des groupes G1, G2 et G3 .. 125

Tableau VII-1. Valeur des coefficients de similarité r_c des spectres d'excitation et d'émission des fluorophores issus du modèle PARAFAC à 3 composants des échantillons DF et TB et les composants de issus du modèle PARAFAC à deux composants des échantillons du sol témoin et ceux du BaP pur. 139

Listes des Figures

Figure II-1 Comportement physique d'un contaminant dans le sol. (Source : Semple et al., 2003)..... 13

Figure II-2 Formule chimique du Benzo(a)pyrène (source: PubChem)..... 14

Figure III-1 Schéma adapté de l'extraction et du fractionnement de la MOS (Duchaufour et Jacquin, 1966 ; Ratsimbazafy, 1973) (en rouge les fraction analysées)..... 27

Figure III-2 Diagramme de Jablonski-Perrin (adapté de www.upload.wikimedio.org). 30

Figure III-3 Spectres d'absorption (en bleu : BaP 10^{-4} M) et d'émission de fluorescence (en rouge : BaP 5.10^{-8} M) du benzo(a)pyrène pur à l'excitation 365 nm. 31

Figure III-4 MEEFs du BaP 5.10^{-9} M dans l'eau 32

Figure III-5 Exemple de combinaison de MEEFs en cube à 3 dimensions (Stedmon et Bro, 2008)..... 35

Figure III-6 MEEF d'un échantillon de SH avant (A) et après (B) les corrections de diffusion. 37

Figure III-7 Diagramme résumant les différentes étapes nécessaires dans l'analyse PARAFAC-fluorescence (Stedmon et Bro, 2008). 38

Figure III-8. Schématisation du système utilisé pour la mesure de la durée de vie. 40

Figure III-9 Exemple d'une séquence temporelle d'acquisition de mesure de durée de vie.... 41

Figure III-10 Principe de la chromatographie liquide haute performance (source : http://www.hitachi-hightech.com). 42

Figure III-11 Carte présentant la zone du feu à Planèzes (Département des Pyrénées Orientales) (source SDIS 66) avec les prélèvements de sols. 43

Figure IV-1 : Représentation schématique des trois séries de mélanges de chaque fraction de sol (SH, AF ou AH) avec la solution de BaP pur à 10^{-5} M dans l'eau purifiée. 45

Figure IV-2 MEEFs et spectres d'excitation (tirets) et d'émission (ligne continue) de fluorescence des 2 fluorophores issus du traitement PARAFAC des fractions de référence SH, AF et AH. 47

Figure IV-3 Superposition des spectres d'excitation (tirets) et d'émission (ligne continue) de fluorescence des composants C_1 et C_2 issus des modèles PARAFAC à deux composants des échantillons de référence. 50

Figure IV-4 Superpositions des spectres d'excitation (tirets) et d'émission (ligne continue) des composants résultants de PARAFAC présents dans les fractions SH, AF et AH après ajouts de BaP. 53

Figure IV-5 Comparaison des spectres d'excitation (tiret) et d'émission (ligne continue) de fluorescence des fluorophores C_1 et C_2 des fractions de référence et des fractions contenant BaP. Les spectres du composant C_3 des fractions SH_{BaP}, AF_{BaP} et AH_{BaP} sont comparés à ceux des solutions de BaP pur dans l'eau purifiée. 56

Figure IV-6 Pseudo-concentrations des composants C_1, C_2 et C_3 des fractions SH_{BaP}, AF_{BaP} et AH_{BaP} en fonction du volume (µl) de BaP pure (10^{-5} M) ajouté. 58

Figure IV-7. Superposition des spectres d'excitation de fluorescence (tiret) des fluorophores C1 et C2 dans les fractions de référence SH (A), AF (B) et AH (C) et le spectre d'émission de fluorescence du BaP pur (ligne continue). 60

Figure IV-8 Superposition des spectres d'émission de fluorescence résultant de PARAFAC des fluorophores C1 et C2 dans les fractions de référence SH (A), AF (B) et AH (C) et le spectre d'excitation de fluorescence du BaP pur. 62

Figure IV-9 Variations des temps de vie τ (ns) mesurés dans les fractions SH_{BaP} ; AF_{BaP} et AH_{BaP} avec l'augmentation du volume de BaP pur ajouté. 67

Figure V-1 Montage pour la préparation des godets contenant le BaP par évaporation sous hotte. 69

Figure V-2 Spectres d'émission de fluorescence 2D de l'échantillon prélevé du godet $SH_{BaP10-5}$ après 2h (gauche) et 24h (droite) d'agitation rotative sans filtration (rouge) et avec filtration préalable aux mesures (bleu). Excitation à 365 nm. 70

Figure V-3 Superposition des spectres d'émission de fluorescence (λ_{ex} = 365 nm) des échantillons prélevés du godet contenant SHBaP10^{-5} M à différents intervalles de temps. 71

Figure V-4 Spectres d'excitation (tirets) et d'émission (ligne continue) de fluorescence des fluorophores obtenus dans les fractions de référence par une décomposition PARAFAC à deux composants ayant un CorConDia de 99% (voir Annexe A Figure A.A.1 pour les MEEFs des fluorophores et leur spectres). 72

Figure V-5 Spectres d'excitation (tirets) et d'émission (ligne continue) de fluorescence des fluorophores obtenus dans les fractions de référence par une décomposition PARAFAC à trois composants ayant un CorConDia de 65,56% (voir Annexe A Figure A.A.2 pour les MEEFs des fluorophores et leur spectres). 73

Figure V-6 Schéma présentant le protocole suivi pour la préparation des échantillons à tester (exemple avec SH1). 74

Figure V-7 Spectres d'excitation (tirets) et d'émission (ligne continue) de fluorescence des trois composants issus du traitement PARAFAC d'un modèle à trois composants du groupe G1 t1 (voir Annexe B figure A.B.1 pour les MEEFs des fluorophores). 77

Figure V-8 Superposition des spectres d'excitation (tirets) et d'émission (ligne continue) des trois composants (C1 G1 t1, C1 G1 t2 et C1 G1 t3) issus du modèle PARAFAC du groupe G1 t1 avec les spectres d'excitation et d'émission des composants du modèle PARAFAC à deux composants des fractions de référence (C1 ref et C2 ref) et celui du BaP pur. 77

Figure V-9 Pseudo-concentrations des fluorophores présents dans les échantillons SH, AF et AH du groupe G1 t1. 79

Figure V-10 Spectres d'excitation (tirets) et d'émission (ligne continue) de fluorescence des composés issus du modèle PARAFAC à 3 composants du groupe G1 t2 t1 (voir Annexe B figure A.B.2 pour les MEEFs des fluorophores). 80

Figure V-11 Superposition des spectres d'excitation (tirets) et d'émission (ligne continue) des trois composants (C1 G1 t2, C2 G1 t2 et C3 G1 t2) issus du modèle PARAFAC du groupe G1 t2 et les spectres d'excitation et d'émission des composants du modèle PARAFAC à deux composants des fractions de référence (C1 ref et C2 ref) et celui du BaP pur. 81

Figure V-12 Pseudo-concentrations des fluorophores présents dans les échantillons SH, AF et AH du groupe G1 t2. 82

Figure V-13 Spectres d'excitation (tirets) et d'émission (ligne continue) de fluorescence des composés issus du modèle PARAFAC à 3 composants du groupe G1 t3 t1 (voir Annexe B figure A.B.3 pour les MEEFs des fluorophores). 83

Figure V-14 Superposition des spectres d'excitation (tirets) et d'émission (ligne continue) des trois composants (A : C1 G1 t3, B : C2 G1 t3 et C : C3 G1 t3) issus du modèle PARAFAC du groupe G1 t3 et les spectres d'excitation et d'émission des composants du modèle PARAFAC à deux composant des fractions de référence (C1 ref et C2 ref) et celui du BaP pur. 83

Figure V-15 Pseudo-concentrations des fluorophores présents dans les échantillons SH, AF et AH du groupe G1 t3. 84

Figure V-16 Superpositions des spectres d'excitation et d'émission de fluorescences issus de PARAFAC des composant C1, C2 et C3 des groupes G1 t1, G1 t2 et G1 t3. 85

Figure V-17 Comparaison des pseudo-concentrations des trois composants issus des modèles PARAFAC du groupe G1 à t1, t2 et t3. 88

Figure V-18 Spectres d'excitation (tirets) et d'émission (ligne continue) de fluorescence des composés issus du modèle PARAFAC à 3 composants du groupe G2 t1 t1 (voir Annexe B figure A.B.4 pour les MEEFs des fluorophores). 89

Figure V-19 Superposition des spectres d'excitation (tirets) et d'émission (ligne continue) des trois composants (A : C1 G2 t1, B : C2 G2 t1 et C : C3 G2 t1) issus du modèle PARAFAC du groupe G2 t1 et les spectres d'excitation et d'émission des composants du modèle PARAFAC à deux composants des fractions de référence (C1 ref et C2 ref) et celui du BaP pur. 90

Figure V-20 Pseudo-concentrations des fluorophores présents dans les échantillons du groupe G2 t1. 91

Figure V-21 Spectres d'excitation (tirets) et d'émission (ligne continue) de fluorescence des composés issus du modèle PARAFAC à 3 composants du groupe G2 t2 t1 (voir Annexe B figure A.B.5 pour les MEEFs des fluorophores). 92

Figure V-22 Superposition des spectres d'excitation (tirets) et d'émission (ligne continue) des trois composants (A : C1 G2 t2, B : C2 G2 t2 et C : C3 G2 t2) issus du modèle PARAFAC du groupe G2 t2 et les spectres d'excitation et d'émission des composants du modèle PARAFAC à deux composants des fractions de référence (C1 ref et C2 ref) et celui du BaP pur. 93

Figure V-23 Pseudo-concentrations des fluorophores présents dans les échantillons du groupe G2 t2. 94

Figure V-24 Spectres d'excitation (tirets) et d'émission (ligne continue) de fluorescence des composés issus du modèle PARAFAC à 3 composants du groupe G2 t3 t1 (voir Annexe B figure A.B.6 pour les MEEFs des fluorophores). 95

Figure V-25 Superposition des spectres d'excitation (tirets) et d'émission (ligne continue) des trois composants (C1 G2 t3, C2 G2 t3 et C3 G2 t3) issus du modèle PARAFAC du groupe G2 t3 et les spectres d'excitation et d'émission des composants du modèle PARAFAC à deux composants des fractions de référence (C1 ref et C2 ref) et celui du BaP pur. 96

Figure V-26 Pseudo-concentrations des fluorophores présents dans les échantillons du groupe G2 t3. 97

Figure V-27 Superposition des spectres d'excitation et d'émission des composants C1, C2 et C3 des groupes G2 t1, G2 t2 et G2 t3. 98

Figure V-28 Comparaison des pseudo-concentrations des trois composants issus des modèles PARAFAC des groupes G2 t1, G2 t2 et G2 t3. 99

Figure V-29 Spectres d'excitation (tirets) et d'émission (ligne continue) de fluorescence des composés issus du modèle PARAFAC à 3 composants du groupe G3 t1 t1 (voir Annexe B figure A.B.7 pour les MEEFs des fluorophores). 100

Figure V-30 Superposition des spectres d'excitation (tirets) et d'émission (ligne continue) des trois composants (C1 G3 t1, C2 G3 t1 et C3 G3 t1) issus du modèle PARAFAC du groupe G3 t1 et les spectres d'excitation et d'émission des composants du modèle PARAFAC à deux composants des fractions de référence (C1 ref et C2 ref) et celui du BaP pur. 101

Figure V-31 Pseudo-concentrations des fluorophores présents dans les échantillons du groupe G3 t1. 102

Figure V-32 Superposition des spectres d'excitation et d'émission des composants C1, C2 et C3 des groupes G3 t1, G3 t2 et G3 t3. 103

Figure V-33 Comparaison des pseudo-concentrations des trois composants issus des modèles PARAFAC des groupes G3 t1, G3 t2 et G3 t3..... 104

Figure V-34 Superposition des spectres d'excitation et d'émission de fluorescence des composants résultants de PARAFAC des groupes G1 t1, G2 t1 et G3 t1..... 106

Figure V-35 Superposition des spectres d'excitation et d'émission de fluorescence des composants résultants de PARAFAC des groupes G1 t2, G2 t2 et G3 t2..... 107

Figure V-36 Superposition des spectres d'excitation et d'émission de fluorescence des composants résultants de PARAFAC des groupes G1 t3, G2 t3 et G3 t3..... 108

Figure V-37 Spectres d'excitation (tirets) et d'émission (ligne continue) de fluorescence des composés issus du modèle PARAFAC à 4 composants du groupe G1 t1. 110

Figure V-38 Superposition des spectres d'excitation (tiret) et d'émission (ligne continue) des quatre composants (A :C1 G1 t1, B : C2 G1 t1, C : C3 G1 t1 et D : C4 G1 t1) issus du modèle PARAFAC du groupe G1 t1 et les spectres d'excitation et d'émission des composants du modèle PARAFAC à trois composant des fractions de référence (C1 ref et C2 ref et C3 ref) et celui du BaP pur. 110

Figure V-39 Spectres d'excitation (tirets) et d'émission (ligne continue) de fluorescence des composés issus du modèle PARAFAC à 4 composants du groupe G1 t2. 111

Figure V-40 Superposition des spectres d'excitation (tirets) et d'émission (ligne continue) des quatre composants (C1, C2, C3 et C4) issus du modèle PARAFAC du groupe G1 t2 et les spectres d'excitation et d'émission des composants du modèle PARAFAC à trois composant des fractions de référence (C1 ref et C2 ref et C3 ref) et celui du BaP pur..... 112

Figure V-41 Spectres d'excitation (tiret) et d'émission (ligne continue) de fluorescence des composés issus du modèle PARAFAC à 4 composants du groupe G1 t3. 113

Figure V-42 Superposition des spectres d'excitation et d'émission des composants C1, C2, C3 et C4 des groupes G1 t1, G1 t2 et G1 t3 résultants des modèles PARAFAC à 4 composants. 114

Figure V-43 Comparaison des pseudo-concentrations des composants issus des modèles PARAFAC à 4 composants des groupes G1 t1, G1 t2 et G1 t3. 115

Figure V-44 Superposition des spectres d'excitation et d'émission de fluorescence des quatre composants résultants du modèle PARAFAC du groupe G2 t1 (exemple). 116

Figure V-45 Comparaison des spectres d'excitation et d'émission de fluorescence des 4 composants résultants des modèles PARAFAC des groupes G2 t1, G2 t2 et G2 t3. 117

Figure V-46 Comparaison des pseudo-concentrations des composants issus des modèles PARAFAC à 4 composants des groupes G2 t1, G2 t2 et G2 t3. 118

Figure V-47 Comparaison des pseudo-concentrations des composants issus des modèles PARAFAC à 4 composants des groupes G3 t1, G3 t2 et G3 t3. 120

Figure VI-1 Gamme d'étalonnage du BaP pur dans l'eau purifiée par HPLC 124

Figure VI-2 Comparaison des concentrations du BaP dans les échantillons des groupes G1 t1, G1 t2 et G1 t3 obtenues par HPLC et par les modèles à 3 composants de la méthode MEEFs-PARAFAC. La taille des marqueurs est proportionnelle à la concentration de la MOD (mg COD/l). 126

Figure VI-3 Comparaison des concentrations du BaP dans les échantillons des groupes G1 t1, G1 t2 et G1 t3 obtenues par HPLC et par les modèles à 4 composants de la méthode MEEFs-PARAFAC. La taille des marqueurs est proportionnelle à la concentration de la MOD (mg COD/l). 127

Figure VI-4 Comparaison des concentrations du BaP obtenus par les modèles PARAFAC à 3 et à 4 composants et par HPLC des groupes G1 t1, G1 t2 et G1 t3. 129

Figure VI-5 Comparaison des concentrations du BaP dans les échantillons des groupes G2 t1, G2 t2 et G2 t3 obtenues par HPLC et par les modèles à 3 composants de la méthode MEEFs-PARAFAC. La taille des marqueurs est proportionnelle à la concentration de la MOD (mg COD/l). 130

Figure VI-6 Comparaison des concentrations du BaP dans les échantillons des groupes G2 t1, G2 t2 et G2 t3 obtenues par HPLC et par les modèles à 4 composants de la méthode MEEFs-

PARAFAC. (La taille des marqueurs est proportionnelle à la concentration de la MOD (mg COD/l). 130

Figure VI-7 Comparaison des concentrations du BaP obtenues par les modèles PARAFAC à 3 et à 4 composants et par HPLC des groupes G2 t1, G2 t2 et G2 t3. 132

Figure VI-8 Comparaison des concentrations du BaP dans les échantillons des groupes G3 t1, G3 t2 et G3 t3 obtenues par HPLC et par les modèles à 3 composants de la méthode MEEFs-PARAFAC. La taille des marqueurs est proportionnelle à la concentration de la MOD (mg COD/l). 133

Figure VI-9 Comparaison des concentrations du BaP dans les échantillons des groupes G3 t1, G3 t2 et G3 t3 obtenues par HPLC et par les modèles à 4 composants de la méthode MEEFs-PARAFAC. La taille des marqueurs est proportionnelle à la concentration de la MOD (mg COD/l). 133

Figure VI-10. Comparaison des concentrations du BaP obtenues par les modèles PARAFAC à 3 et à 4 composants et par HPLC des groupes G3 t1, G3 t2 et G3 t3. 135

Figure VII-1 MEEFs et spectres d'excitation et d'émission de fluorescence des trois composants présents dans les échantillons des SH, AF et AH du sol témoin. 137

Figure VII-2 MEEFs et spectres d'excitation (tirets) et d'émission (ligne continue) de fluorescence des trois composants présents dans les échantillons des SH, AF et AH du sol brulé. 138

Figure VII-3 Superposition des spectres d'excitation (tirets) et d'émission (ligne continue) de fluorescence des trois composants obtenus par MEEF-PARAFAC sur échantillons de sols brulés avec ceux du sol témoin et du BaP pur. 139

Figure VII-4 Pseudo-concentrations des composants C1, C2 et C3 dans le sol témoin et les sols incendiés. 140

Figure VII-5 Concentration du BaP dans les fractions SH, AF et AH des échantillons DF et TB. 141

Chapitre I. Introduction

La matière organique du sol (MOS) joue un rôle important dans la qualité du sol. Elle est composée principalement de substances humiques (SH) et de substances non-humiques (Stevenson, 1994 ; Zech et al., 1997). Les SH peuvent être fractionnées en humine de couleur noire insoluble dans l'eau à n'importe quel pH, en acide humique (AH) de couleur brune soluble en milieu basique et insoluble en milieu acide (pH < 2) et en acide fulvique (AF) de couleur jaunâtre soluble dans l'eau à n'importe quel pH (Kononova, 2013). Des études ont montré que la MOS est le sorbant principal des composés organiques peu solubles et donc elle joue un rôle important dans le transport, la réactivité et la biodisponibilité des polluants organiques dans la colonne du sol. La MOS présente une structure interne de nanopores qui constitue des sites de sorption spécifiques aux composés organiques quelle que soit leur polarité (Pignatello, 1998). Il a été également montré que les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) s'associaient aux régions hydrophobes de la matière organique du sol parce qu'ils présentaient une faible solubilité dans l'eau (Qiu et al., 1994). L'affinité de liaison des HAP a été trouvée corrélée avec l'aromaticité de la matière organique (McCarthy et al., 1989). Ainsi, l'hydrophobicité du polluant et la qualité de la MOS déterminent la nature des interactions qui se produisent entre polluants et MOS et définissent le degré de biodisponibilité et de toxicité du polluant (Landrum et al., 1987 ; Haitzer et al., 1999). Étant donné que la MOS a une structure complexe difficile à caractériser, des études ont utilisé les propriétés physico-chimiques telles que les propriétés spectrales pour caractériser et définir les SH, AF, AH (Chen et al., 2002) et en particulier la spectroscopie de fluorescence (Ohno et Bro, 2006).

La spectroscopie de fluorescence, en particulier le développement de matrices d'excitation et d'émission fluorescentes (MEEF) (Coble et al., 1990 ; Coble, 1996), a été largement utilisée au cours de la dernière décennie pour obtenir des informations sur les caractéristiques fluorescentes de la matière organique, pour déterminer son origine et pour évaluer sa qualité dans différents écosystèmes (Marhaba et al., 2000 ; Baker, 2001 ; Chen et al., 2003). La popularité de cette méthode est due au fait qu'il s'agit d'une méthode hautement sensible et non destructrice qui nécessite peu de temps de préparation, l'acquisition rapide des données qui apporte une grande quantité d'informations sur la structure moléculaire et les propriétés chimiques des produits organiques naturels (Chen et al., 2002 ; Sierra et al., 2005 ; Holbrook et al., 2006 ; Spencer et al., 2007 ; Gao et al., 2017). Cependant, afin d'interpréter et

de décomposer les MEEFs, des algorithmes chimiométriques tels que PARAllel FACtor analysis (CP / PARAFAC) sont fréquemment utilisés (Beltrán et al., 1998 ; Jiji et al., 1999 ; Ferretto et al., 2014 ; Santos et al., 2015 ; Tadini et al., 2015). PARAFAC est une technique statistique multivariée (Harshman, 1970) qui a été utilisée dans le domaine de la chimie analytique et environnementale. Elle est souvent employée pour l'analyse des ensembles de données tels que ceux résultant des MEEFs (Bro et Kiers, 2003 ; Stedmon et Markager, 2005 ; Stedmon et Bro, 2008). PARAFAC peut identifier et quantifier les composants d'un système à multicomposants et peut extraire leurs concentrations relatives et leurs spectres purs d'excitation et d'émission (Bro, 1997 ; Andersen et Bro, 2003). La combinaison des MEEFs avec l'algorithme PARAFAC est largement utilisée pour caractériser la matière organique d'origine terrestre (Ohno et Bro, 2006 ; Santos et al. ; 2015 ; Tadini et al., 2017), ou d'origine aquatique (Stedmon et Markager, 2005 ; Holbrook et al., 2006 ; Guo et al., 2011). Plusieurs auteurs ont également prouvé l'efficacité de cette méthode pour détecter les HAP dans des solutions pures (Jiji et al., 1999), dans des échantillons d'eau de robinet (Beltrán et al., 1998), dans des extraits aqueux d'huile moteur et des lixiviats d'asphalte (Beltrán et al., 1998 ; Jiji et al., 1999 ; Nahorniak et Booksh, 2006). Cette technique permet d'observer les changements qualitatifs dans la matière organique dissoute et les différents fluorophores présents dans les échantillons testés et de détecter les variations de leurs intensités de fluorescence (Stedmon et Markager, 2005). Actuellement, il n'existe aucune information disponible dans la littérature concernant l'effet du benzo(a)pyrène sur les caractéristiques spectrales des fluorophores présents dans chaque fraction physique de la MOS. Dans cette étude, nous avons combiné MEEFs et PARAFAC pour déterminer les caractéristiques spectrales des fluorophores présents dans les fractions physiques de la MOS en présence de BaP. Définir les changements spectraux des composants fluorescents de la matière organique en présence du benzo(a)pyrène aideront lieux à dépicter la présence de celui dans le sol et par le traitement PARAFAC, on pourra quantifier le BaP à l'aide d'un gamme d'étalonnage du BaP pur par spectroscopie de fluorescence. Le chapitre II présentera une synthèse bibliographique sur l'état de l'art des études portant sur la matière organique, les effets de la pollution sur le sol et une présentation du BaP. Le chapitre III développera les différents principes et méthodes utilisés ainsi qu'une description des protocoles suivis. Les modifications des caractéristiques spectrales des composants fluorescents dans les trois fractions de la MOS en présence du BaP seront étudiées : 1) dans le chapitre IV, lors d'expérimentations faisant varier les quantités de solution pure de BaP ajoutées à chaque fraction ayant une concentration fixe en matière organique ; 2) dans le chapitre V, lors d'un suivi au cours du temps sur différentes quantités

de matières organiques auxquelles sont ajoutées des concentrations fixes de BaP pur. A la fin du chapitre V, une discussion sera menée sur les paramètres de validation du nombre de composants pour le choix des modèles de PARAFAC. Dans le chapitre VI sera présenté le test de validation de la méthode en fluorescence (MEEF-PARAFAC) par la méthode de chromatographie liquide (HPLC). Enfin, dans le chapitre VII, une étude de terrain sera présentée sur des sols incendiés contenant potentiellement du BaP.

Chapitre II. ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE

II.1. La pollution environnementale

Depuis la révolution industrielle au XIX^{e} siècle jusqu'à nos jours, l'homme participe à la dégradation de l'environnement. La destruction de l'écosystème est souvent irréversible, ce qui met en danger la vie de tout être vivant sur la planète. La pollution se définit par l'introduction de polluants dans un environnement à un seuil au-delà duquel leurs effets deviennent nuisibles aux êtres vivants (humains, animaux, végétaux) et à l'environnement global. L'impact néfaste de la pollution touche tous les compartiments environnementaux. Les effets de la pollution sont divers : augmentation des maladies et des mortalités humaines et animales, dégradations et mutations des végétaux, destruction de l'habitat naturel, détérioration des conditions de vie etc... La pollution d'origine humaine, directe ou indirecte est la cause de nombreuses maladies et se trouve responsable chez certaines espèces de leur migration voire même de leur extinction si elles s'avèrent incapables à s'adapter aux nouvelles conditions environnementales. Plusieurs types de pollutions existent selon l'origine des polluants : chimique, sonore, lumineuse, etc.

Selon leurs propriétés physico-chimiques, des polluants sont capables de parcourir des distances importantes et atteindre des écosystèmes sensibles. Certains polluants transportés dans l'atmosphère tels que le dioxyde d'azote et le dioxyde de soufre issus des rejets industriels et des rejets liés aux transports peuvent être à l'origine des pluies acides qui altèrent les sols et les cours d'eau.

La pollution chimique est due à la présence en grande concentration d'une substance chimique anthropogène qui normalement est absente ou présente en faible concentration dans un compartiment environnemental donné. Il existe des seuils pour chaque substance chimique au-delà desquels la présence de cette substance est nocif pour le compartiment environnemental donné. La pollution chimique intéresse plusieurs compartiments : eau, sol, air. La communauté internationale a mis en place des normes concernant les teneurs de résidus dans les aliments et les eaux (CEE,1980), alors que pour le sol ces normes n'existent pas mais on trouve seulement des valeurs guides pour la gestion des sols contaminés (Gourdon et al, 1994).

Il existe également des pollutions d'origine naturelle, qui sont moins fréquentes et qui ont souvent des conséquences plus ou moins négligeables. Une pollution de l'air, par exemple, peut être due aux éruptions volcaniques, ou aux feux de forêts. D'autres sources naturelles de pollution peuvent être liées aux érosions, aux pluies acides, à l'altération de la roche-mère, etc.

II.1.1.La pollution des sols

Le sol constitue une interface d'échange entre l'atmosphère, l'hydrosphère et la lithosphère. Il joue un rôle très important dans le cycle de l'eau et il constitue une réserve de carbone et d'azote provenant de la dégradation de la matière organique. Il héberge des végétaux et divers organismes qui maintiennent sa fertilité, règlent le cycle de l'eau, luttent contre l'érosion et participent à la décontamination. Le sol participe donc à la diminution ou l'élimination des impacts des polluants et en conséquence il constitue un filtre physique et chimique pour les eaux s'y infiltrant.

Tout type de sol (agricole, urbain etc.) peut être pollué de manière directe ou indirecte et, à son tour, peut lui-même constituer une source de pollution. Les causes directes sont liées aux rejets directs ou accidentels de polluants issus de l'agriculture, des rejets industriels et des déchets ménagers. Les causes indirectes sont dues aux conséquences de la pollution atmosphérique et de la pollution des eaux : infiltration d'une décharge, infiltration d'eau polluée, infiltration des déchets solides, déversement ou fuites de déchets et d'hydrocarbures, retombées atmosphériques, etc.

Le comportement des polluants va définir leur dispersion vers d'autres compartiments (Barriuso et al., 1996). Des polluants présents dans un sol peuvent soit diffuser dans l'environnement par l'intermédiaire de l'eau, des envols de poussières, des émanations gazeuses ou soit entrer dans la chaîne trophique par bioaccumulation dans les organismes qui vivent dans le sol. Le sol peut constituer un vrai milieu de stockage de polluants. Un sol pollué met en danger les végétaux, les animaux et les humains (DalCorso et al., 2008). Le sort des polluants est largement contrôlé par leurs interactions avec la matière organique du sol (Ahangar et al., 2008). Les interactions des polluants hydrophobes avec les substances humiques pourraient changer leur sort dans l'environnement (Caron et al., 1985). Ils peuvent affecter la biodisponibilité et la toxicité vis-à-vis des organismes vivants (Landrum et al., 1987) dont la végétation (Dell' Agnola et al., 1981).

En France, la base de données BASOL (2017) recense les sites et les sols pollués ou potentiellement pollués pour lesquels l'état prend des mesures à titre préventif ou curatif. Le tableau II-1 présente la répartition par région des sites et sols pollués en France au 20 Octobre 2017. Le tableau II-2 présente les principaux polluants présents dans les sols pollués en France.

Tableau II-1 Répartition (%) des sites pollués par région (source : http://basol.developpement-durable.gouv.fr/ Basol, 2017).

Région	**Nombre**	**Pourcentage**
Alsace	1041	15,76 %
Aquitaine	741	11,22 %
Auvergne	1194	18,08 %
Bourgogne	282	4,27 %
Basse-Normandie	471	7,13 %
Bretagne	90	1,36 %
Centre	349	5,28 %
Champagne-Ardenne	1041	15,76 %
Corse	8	0,12 %
Franche-Comte	282	4,27 %
Guadeloupe	25	0,38 %
Guyane	8	0,12 %
Haute-Normandie	471	7,13 %
Ile-de-France	589	8,92 %
Limousin	741	11,22 %
Lorraine	1041	15,76 %
Languedoc-Roussillon	307	4,65 %
Martinique	46	0,70 %
Mayotte	0	0,00 %
Midi-Pyrénées	307	4,65 %
Nord-Pas-de-Calais	923	13,97 %
Provence-Alpes-Côte-d'Azur	233	3,53 %
Pays de la Loire	252	3,82 %
Picardie	923	13,97 %
Poitou-Charentes	741	11,22 %
La Réunion	43	0,65 %
Rhône-Alpes	1194	18,08 %
Saint-Martin	3	0,05 %
St-Pierre-et-Miquelon	0	0,00 %
Total	**6605**	**100,00 %**

Tableau II-2 Principaux polluants constatés (seuls ou en mélange) (Basol, 2017).

Arsenic (As)	5,03 %
Baryum (Ba)	0,98 %
Cadmium (Cd)	2,39 %
Cobalt (Co)	0,24 %
Chrome (Cr)	5,25 %
Cuivre (Cu)	5,10 %
Mercure (Hg)	2,10 %
Molybdène (Mo)	0,24 %
Nickel (Ni)	3,83 %
Plomb (Pb)	6,87 %
Sélénium (Se)	0,17 %
Zinc (Zn)	4,00 %
Sulfates	0,12 %
Chlorures	0,08 %
Ammonium	0,29 %
BTEX	1,29 %
TCE	0,44 %
Hydrocarbures	14,08 %
H.A.P.	6,63 %
Cyanures	2,01 %
PCB-PCT	2,01 %
Solvants halogénés	5,06 %
Solvants non halogénés	1,41 %
Pesticides	0,55 %

II.1.2.Les hydrocarbures aromatiques polycycliques

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) représentent une classe importante de polluants. Ces composés sont constitués d'atomes d'hydrogène et de carbone et possèdent au moins deux anneaux de benzène. Ce sont des polluants environnementaux d'importance majeure car certains d'entre eux sont cancérogènes et mutagènes (Harvey, 1997 ; Lee, 2012). Seize HAP ont été considérés comme polluants prioritaires par United State- Environmental Protection Agency (US-EPA) (Tableau II-3). Les HAP peuvent avoir des origines naturelles ou anthropiques. Ils proviennent principalement de l'utilisation des énergies fossiles (pétrole, charbon) et de la combustion incomplète de matières organiques (feux de forêts, éruption volcanique etc.). En milieu urbain les sources principales de l'émission des HAP correspondent à la combustion des carburants des véhicules, au chauffage et aux rejets industriels. Ils sont très présents dans les sites des usines à gaz, les sites de

cokéfaction et de carbochimie. Les HAP sont divisés en deux catégories : les composés à faible masse moléculaire (jusqu'à trois cycles benzéniques) et les composés à masse moléculaire élevée (au-delà de trois cycles).

Les propriétés physico-chimiques des HAP sont très importantes pour prédire leur transport, leur répartition et leur évolution dans l'environnement. Elles varient selon leur masse moléculaire et leur structure (Tableau II-3). Elles dépendent largement du nombre de cycles benzéniques. Avec l'augmentation du nombre de cycles benzénique, la résistance à la biodégradation augmente (demi-vie), la persistance dans l'environnement augmente, la volatilité diminue et l'hydrophobicité augmente. Cette hydrophobicité leur confère la tendance à la sorption sur les composés solides présents. Les HAP passeront de l'état solubilisé à celui d'absorbé ou d'adsorbé sur un solide tel que la matière organique environnante ou les tissus lipidiques des organismes vivants. La majorité des HAP sont très peu solubles dans l'eau (Edwards, 1983) ; leur solubilité a été trouvé inversement proportionnelle au nombre de cycles benzéniques (Haseeler, 1998), par contre les HAP sont solubles dans de nombreux solvants organiques.

La toxicité des HAP peut être faible, modérée ou aigue selon le composé considéré. Les HAP sont des molécules biologiquement actives pouvant s'accumuler dans les tissus organiques et subir des réactions de transformation en métabolites qui, en se liant aux protéines des acides nucléiques (ADN et ARN) engendrent des dysfonctionnements cellulaires et causent des mutations. D'après le centre international de recherche sur le cancer (CIRC, 2008), le benzo(a)pyrène, qui trouve dans de nombreux mélanges de HAP en pourcentage relativement constant (10%) est un cancérogène avéré. La classification de la toxicité des 16-HAP classés prioritaires est présentée dans le tableau II-3.

Les HAP sont généralement analysés par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-SM) ou par chromatographie liquide à haute pression (HPLC) couplée à des détecteurs d'absorption UV-Vis ou de fluorescence (Poster et al., 2006). Les HAP sont capables d'absorber les ultraviolets (UV) et de donner des spectres de fluorescence caractéristiques. Ces méthodes présentent un coût élevé, un travail relativement long car elles nécessitent des traitements préalables aux analyses, ce qui rend leur utilisation comme analyse de routine compliquée. Pour cela de nouvelles méthodes analytiques plus simples dans la préparation des échantillons, moins coûteuses et plus sensibles sont mises en place pour remplacer les méthodes conventionnelles d'analyse des HAP. La spectroscopie de

fluorescence se présente alors comme une méthode alternative qui, grâce aux propriétés d'aromaticité des HAP, peut être utilisée pour détecter et quantifier les HAP (Elcoroaristizabal et al., 2014).

Tableau II-3 : Propriétés des 16 HAP (Mackay et al 1992). (* IARC, 1987, 2002) 2A probablement cancérigène pour l'homme ; 2B : peut-être cancérigène pour l'homme ; 3 : non classifiable comme cancérigène pour l'homme (possible mais insuffisamment étudié) ; n.e. non étudié.

HAP	Nombres de cycles	Masse Molaire (g/mol)	Formule	Solubilité dans l'eau à 20°C (mg/l)	Coefficient de partage octanol-eau (logKow)	Demi-vie dans les sols (j: jours a : ans)	Toxicité *
Naphtalène	2	128,2	$C_{10}H_8$	31	3,40	16j-48j	2B
Acénaphthylène	3	152,2	$C_{12}H_8$	3,93	4,07	ne	ne
Acénaphtène	3	154,2	$C_{12}H_{10}$	1,93	3,98	ne	ne
Fluorène	3	166,2	$C_{13}H_{10}$	1,85	4,18	32j-60j	3
Anthracène	3	178,2	$C_{14}H_{10}$	0,076	4,45	50j-1.3a	3
Phénanthrène	3	178,2	$C_{14}H_{10}$	1,20	4,45	16j-200j	3
Fluoranthène	4	202,3	$C_{16}H_{10}$	0,23	4,90	140j-1.2a	3
Pyrène	4	202,3	$C_{16}H_{10}$	0,077	4,88	210j-5.2a	3
Benzo(a)anthracène	4	228,3	$C_{18}H_{12}$	0,01	5,61	102j-1.9a	2A
Chrysène	4	228,3	$C_{18}H_{12}$	0,0028	5,16	1a-2.7a	3
Benzo(a)pyrene	5	252,3	$C_{20}H_{12}$	0,0023	6,04	57j-1.5a	2A
Benzo(b)fluoranthène	5	252,3	$C_{20}H_{12}$	0,0012	6,06	360j-1.7a	2B
Benzo(k)fluoranthène	5	252,3	$C_{20}H_{12}$	0,00076	6,06	2,5a-5.9a	2B
Benzo(ghi)pérylène	6	276,3	$C_{22}H_{12}$	0,00026	6,05	91j-1.8a	3
Indéno(123-cd)pyrene	6	276,3	$C_{22}H_{12}$	0,062	6,58	1,6a-2a	2B
Dibenz(ah)anthracène	5	278,4	$C_{22}H_{14}$	0,0005	6,84	361j-2.6a	2A

II.1.3.Le devenir des HAP dans le sol

Wild et Jones (1995) considèrent que 90% des HAP émis dans l'environnement sont stockés dans les sols (sans prendre en considération ceux des sites industriels). En effet, les HAP présents dans l'atmosphère se déposent sur les sols. Certains proviennent de sources proches, telles que les gaz d'échappement des véhicules. D'autres proviennent de sources plus éloignées et ont été transportés dans l'air. Les HAP les plus légers comme le naphtalène sont susceptibles à la volatilisation depuis le sol, et, à long terme, les sols sont capables de désorber les HAP dans l'eau souterraine, l'eau de surface et l'air (Wang et al., 1997). Les HAP peuvent être transportés du sol vers un autre compartiment par l'érosion, le lessivage de sol, le vent etc... (Joner et al., 2002). Les HAP peuvent être emmenés vers les couches profondes du sol après lessivage ou lixiviation (Wild et Jones, 1995 ; Wilcke, 2000) et atteindre les eaux souterraines surtout quand ces polluants sont accompagnés de solvants organiques mobiles ou quand le sol contient des canaux (Bedient et al., 1984).

Les végétaux sont capables d'accumuler dans leurs feuilles, les HAP semi-volatils en phase gazeuse et en phase particulaire. Suite à un faible transfert à l'intérieur de la plante (Edwards, 1986), les HAP vont se maintenir dans les feuilles qui participeront à la formation d'une litière après leur dépôt à la surface des sols et vont contaminer le sol.

À leur arrivée dans le sol, les contaminants ont des comportements et un devenir différents selon leurs propriétés physico-chimiques et celles du sol (Reid et al. 2000). Ils peuvent être perdus par biodégradation, lixiviation ou volatilisation, ou s'accumuler dans le compartiment biotique du sol ou être retenus ou séquestrés dans les fractions minérales et organiques du sol (Okere et Semple, 2011). Selon Jones et al. (1996) les contaminants peuvent être retirés du sol à des taux variables et à différentes ampleurs. Si les HAP présents dans le sol ne sont pas perdus par volatilisation, dégradation ou lixiviation, des interactions avec les composants du sol ont lieu (Okere et Semple, 2011). Les HAP s'associent aux régions hydrophobes de la matière organique du sol car ils sont peu solubles dans l'eau (Qiu et al., 1994). De ce fait, ils sont moins disponibles pour le transfert et la dégradation (Shann et Boyle, 1994).

Il s'est avéré suite à plusieurs études que les interactions du sol avec les polluants organiques type HAP sont influencées par : la quantité de matière organique (Hatzinger et Alexander, 1995), la nature de la matière organique (Piatt et Brusseau, 1998), le contenu inorganique (Ball et Roberts, 1991 ; Mader et al., 1997), la taille et la structure de la porosité du sol (Nam et Alexander, 1998), l'activité microbienne (Guthrie et Pfaender, 1998) et la concentration du contaminant (Divincenzo et Sparks, 1997).

Des études ont montré que la sorption des HAP dans les sols se déroule en deux étapes. La première, qui est le plus souvent réversible, est rapide et tend vers un équilibre relatif ou les HAP s'adsorbent aux sites en surface des macromolécules organiques. La deuxième étape consiste à la diffusion progressive des HAP dans la matière organique qui est lente et peut durer plusieurs années (Rao, 1990 ; Hatzinger et Alexander, 1995 ; Pignatello et Xing, 1996 ; White et al., 1999). La première étape se déroule dès le premier contact entre le polluant et la surface du sol et elle est généralement réalisée par des mécanismes de liaisons hydrogène et van der Waals (Dec et Bollag, 1997 ; Gevao et al. 2000). La deuxième étape a été décrite par Pignatello et Xing (1996) et Cornelissen et al., (1998). Ils proposent que la matière organique est composée de deux phases, une « extensible » et une « condensée » (présentant des cavités plus rigides) contenant des sites de dissolution où les contaminants vont être séquestrés dans la matière organique. De plus, ils proposent que la diffusion du contaminant à travers les pores du sol soit retardée par la sorption de celui-ci aux surfaces des nano et micropores dans le sol contenant de la matière organique. Ce processus dépend de la taille des particules du sol et de la taille des pores. Selon Alexander (1995), les contaminants présents dans des sols dont les diamètres des pores sont ≤ 20 nm ne sont pas biodisponibles car des pores aussi petits ne permettent pas l'entrée des bactéries (1 µm), des protozoaires (10 µm) et des poils radiculaires (7 µm). La séquestration des polluants dans le sol réduit alors leur biodisponibilité. Cette séquestration est présentée dans la figure II-1.

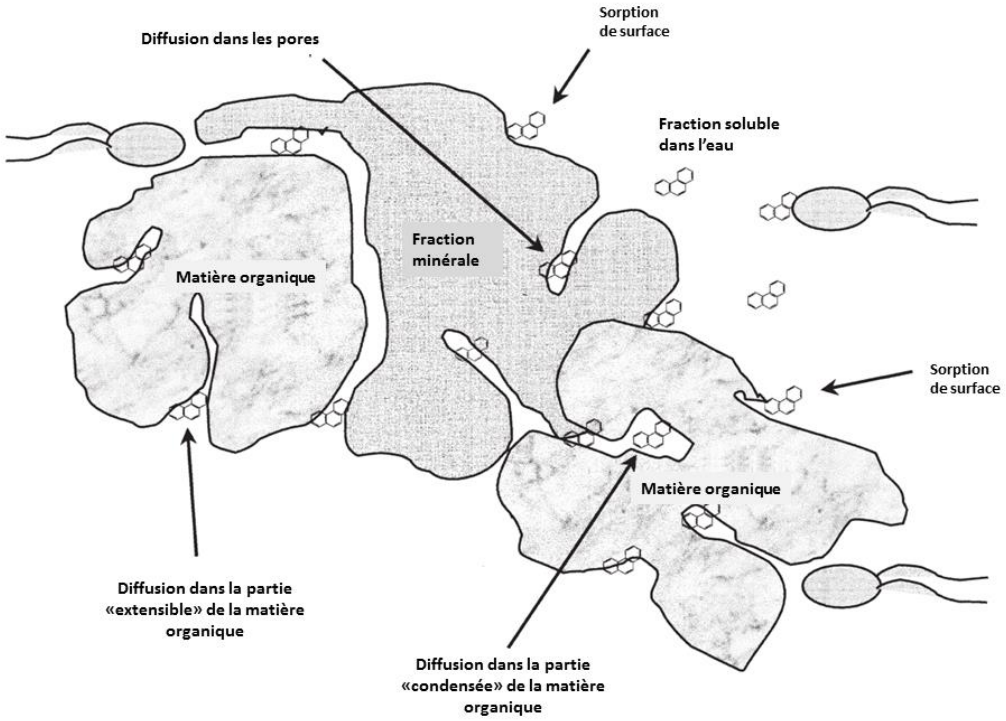


Figure II-1 Comportement physique d'un contaminant dans le sol. (Source : Semple et al., 2003)

Les concentrations de contaminants dans le sol ne sont donc pas constantes dans le temps ; elles sont dépendantes des conditions du milieu (température, pH, humidité etc.), des transformations que subissent les polluants et des éventuelles interactions avec les constituants du sol. La toxicité des polluants n'est pas constante non plus car leur dégradation entraîne des modifications structurales qui peuvent altérer le comportement et la toxicité des métabolites par rapport à la molécule initiale (Schiavon, 1988). Des études ont montré que la biodisponibilité des HAP vis-à-vis des organismes benthiques est très inférieure à celle d'autres substances possédant des propriétés physico-chimiques similaires comme des pesticides (Petry et al., 1996). D'autres auteurs lient cette faible biodisponibilité à la rétention des HAP dans la matière organique sédimentaire (Kraaij et al., 2001 ; Van Hoof et al., 2001).

Une attention particulière a été accordée aux HAP de masse moléculaire élevée, comme le benzo(a)pyrène (BaP), pour leur aspect toxicologique (Armstrong et al., 1994 ; Wilson et al., 2016). Le BaP a été signalé comme un indicateur de la présence d'autres HAP dans différents compartiments environnementaux (eau, sol, sédiments) (García Falcón et al., 1999). Il est persistant dans l'environnement, en partie en raison de sa faible biodisponibilité

et surtout en raison de sa forte adsorption sur la matière organique du sol (MOS) (Luo et al., 2008). Cette forte interaction avec la MOS le rend indisponible et non dégradable ce qui entraîne des problèmes de contamination du sol.

II.2. Le Benzo(a)pyrène

Le benzo(a)pyrène (BaP), de masse molaire 252,31 g/mol, appartient à la famille des hydrocarbures aromatique polycycliques (HAP). Il est composé uniquement de carbone et d'hydrogène et renferme cinq cycles benzéniques (Figure II-2). L'effet cancérigène du BaP a été mis en évidence en 1933 (Cook et al., 1933). L'Union Européenne classe le BaP en catégorie 2 c'est-à-dire qu'il est une substance cancérogène pour l'homme (JOCE, 2004). Le CIRC-IARC(1987) le classe en groupe 2A étant probablement cancérogène pour l'homme et le US EPA (1994) le considère classe B comme étant probablement cancérogène pour l'homme. Le BaP est la molécule de référence des HAP du fait de sa cancérogénicité et sa présence au sein des différents HAP est particulièrement contrôlée dans l'atmosphère. Les estimations des risques cancérigènes des HAP sont généralement déterminées par rapport aux taux définis pour le BaP (Butler et al., 1993) mais il n'existe pas de rapport quantitatif entre le BaP mesuré et la teneur en un autre HAP.

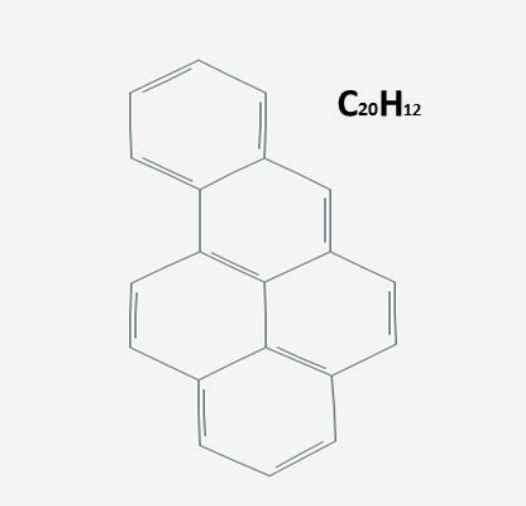


Figure II-2 Formule chimique du Benzo(a)pyrène (source: PubChem).

Le benzo(a)pyrène représente moins de 5 % des émissions de HAP (INERIS, 2003). Le BaP est produit en très petite quantité, par distillation fractionnée de charbons bitumineux renfermant des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HSDB, 2000). C'est une substance omniprésente dans l'environnement car elle se forme lors de la combustion incomplète des matières organiques. Plusieurs activités industrielles associées à la production du BaP sont présentées dans le Tableau II-4.

Tableau II-4 Classement des sous-secteurs* les plus émetteurs d'HAP (le benzo(a)pyrène, le benzo(b)fluoranthène, le benzo(k)fluoranthène,l 'indeno(1,2,3-cd)pyrène,le benzo(g,h,i)pérylène, l'anthracène, le fluoranthène, le naphtalène) en 2015 (source ; www.citepa.org consulté le 11/04/2017).

Classement	Sous-secteur	Part du sous-secteur dans les émissions nationales de la France métropolitaine
1	Résidentiel dont : *Combustion des appareils de chauffage (chaudières, inserts, foyers fermés et ouverts, cuisinières, etc.)* *Feux ouverts de déchets verts et autres (feux de véhicules, etc.)*	64% dont : *59%* *4,9%*
2	Voitures particulières diesel	8,1%
3	Culture	6,7%
4	Transformation des CMS - sidérurgie	6,1%
5	Autres sources de l'agriculture ((installations de combustion et engins mobiles non routiers)	2,7%

** : un secteur (au nombre de six au total : transformation de l'énergie, industrie manufacturière, résidentiel/tertiaire, agriculture/sylviculture, transport routier ou autres transports) est désagrégé en différents sous-secteurs.*

Les propriétés physico-chimiques du BaP sont présentées dans le tableau II-3 (page 10). C'est une substance stable jusqu'à de très hautes températures et en solution, elle s'oxyde sous l'influence de la lumière, de l'air et de la chaleur (EPA, 1987). Le BaP se présente sous forme de cristaux jaunes inodores. C'est un composé hydrophobe, apolaire, semi-volatil et liposoluble, ce qui lui permet de persister longtemps dans l'environnement en s'associant sur les matrices (solides ou dissoutes) et notamment les matières organiques.

La présence du BaP dans les matrices environnementales met en danger les organismes vivants. Il peut être incorporé par les plantes via les racines dans le cas d'un sol pollué ou via les feuilles dans le cas d'une pollution atmosphérique (Edwards, 1983). Il peut aussi s'accumuler dans les tissus végétaux (Fritz, 1983). Plusieurs recherches ont prouvé la présence du BaP dans des échantillons de sol (Shabad et Dikun, 1959 ; Blumer, 1961 ; Mallet

et Héros, 1962). Sa concentration ubiquitaire dans le sol est de 2µg/kg (HSDB, 2000). Konig et al. (1991) ont étudié la répartition des teneurs des sols en BaP en fonction de leur localisation rurale ou périurbaine. Ils ont trouvé que 85% des échantillons provenant du milieu rural avaient une teneur en BaP inférieure à 5.10^{-6} g/kg alors que tous ceux qui provenaient du milieu périurbain présentaient des concentrations supérieures à 0,05 mg kg^{-1} dont 15% supérieurs à 1500 g/kg. La contamination des sols diminue exponentiellement en s'éloignant de la source d'émission (Crépineau et al., 2003).

Plusieurs travaux de recherche dans différentes disciplines ont étudié la fluorescence du BaP (Berrueta et al., 1991 ; Kumke et al., 1995 ; Hua et al., 2006). En 1971, Lloyd a développé l'application de la spectrométrie de luminescence synchrone pour la détermination du BaP. Il est parvenu à obtenir des signaux de luminescence en balayant les longueurs d'ondes d'excitation et d'émission de fluorescence tout en gardant entre ceux-ci une différence de longueur d'onde constante. Cette méthode a été utilisée par Kerkhoff et al. (1985) pour une solution alcaline à basse température contenant plusieurs composants, ainsi que par Capitán-Vallvey et al. (1993) pour la détermination des HAP en phase solide absorbée sur gel Sephadex. La liaison des hydrocarbures aromatiques polycycliques aux substances humiques dissoutes a été examinée par McCarthy et Jimenez (1985) en utilisant des techniques de dialyse et de fluorescence. Ils ont défini une relation directe entre l'hydrophobie du BaP et l'affinité pour se lier aux substances humiques ; celle-ci diminue légèrement à mesure que la concentration des substances humiques augmente. Cette liaison était réversible et indépendante du temps de sorption. La vitesse de liaison du BaP aux substances humiques, mesurée par la méthode de quenching de fluorescence du BaP, a été très rapide et a été achevée après 5 à 10 min. En 1999, Jiji et al. ont quantifié des HAP dont le benzo(a)pyrène par la méthode de matrices d'excitation et d'émission de fluorescence couplée à PARAFAC.

II.3. Les matières organiques

II.3.1. Définition de la matière organique naturelle

La matière organique naturelle (MON) est définie comme l'ensemble des macromolécules d'origine animale ou végétale des composés organiques issus de déchets et des débris environnementaux naturels. On peut donc trouver diverses molécules organiques ; protéines, lipides et glucides, de compositions et de concentrations différentes (Aiken et al.,

1985 ; Suffet et MacCarthy, 1988). Comme la matière organique est synthétisée à partir de plusieurs sources, on y trouve également des mélanges diversifiés, qui dépendent de facteurs spatio-temporels et environnementaux. La MON varie considérablement en fonction de son origine, de son âge et des conditions environnementales (Aiken et al., 1985 ; Chin et al., 1994 ; Gu et al., 1995 ; Chin et al., 1997). Les principaux constituants de la MON sont le carbone, l'oxygène, l'azote, le soufre et l'hydrogène. 25% à 50% de la MON dissoute comprennent les acides humiques et les acides fulviques et le reste est constitué par les protéines, les polysaccarides et les acides organiques hydrophiles (Grasso et al., 1990) qui jouent un rôle important dans l'absorption et la désorption d'anions acides et dans la lixiviation ionique (Magill et Aber, 2000). La MON a des propriétés physico-chimiques lui permettant l'absorption de la lumière, la liaison aux protons, aux métaux et aux contaminants organiques. La spectroscopie de fluorescence a été utilisée dans plusieurs travaux pour caractériser la MON des eaux de mer, des eaux de surface et des sols (Coble, 1996 ; Mounier et al., 1999 ; Hudson et al., 2007 ; Baker et al, 2008). En 1996, Coble a distingué 4 principales régions de fluorescence qui correspondent aux pics des acides humiques et fulviques (longueur d'onde d'émission de 420 à 450 nm), de la tyrosine et du tryptophane (longueur d'onde d'émission de 310 à 350 nm).

Le tableau II-5 présente les couples de longueurs d'onde d'excitation et d'émission de fluorescence de quelques travaux. Il faut noter que le nombre de composants fluorescents de la MON dissoute identifiés varie d'une étude à l'autre (2 à 8 composants).

Tableau II-5 : Couples de longueurs d'ondes d'excitation et d'émission de fluorescence λex/λem (nm) tirés de quelques travaux (liste non exhaustive) des fluorophores présents dans la MON dissoute (Hammou, 2012).

Auteurs	λex (nm)	λem (nm)
Coble (1996) : fluorophore A	250	425
Fluorophore C (humique, terrestre)	340	448
Fluorophore M (humique, marin)	340	438
Del Castillo et al. (1999) : fluorophore A	250	425
Fluorophore H (variable entre fluo, C et M)	310	428
Parlanti et al., 2000 : pic "α" : Humic-like (C)	330-350	420-480
pic "α" : Humic-like (A)	250-260	380-480
pic "β" : Marine H-like (M)	310-320	380-420
Chen et al., (2003) : Humic-like	240-260	420-445
Nagao et al., (2003) : Fulvic like	Composant 1 : 305	430
Fulvic-like	Composant 2 : 320	430
Humic-like	Composant 3 : 320	510
Humic-like	Composant 4 : 460	520
Holbrook et al., 2006 : Humic-like	Composant 1 : 245-340	456
id. : Fulvic-like	Composant 2 : 240-305	390
Spencer et al., (2007)	Pic A (Fulvic-like) : 320-350	400-450
	Pic B (Humic-like) : 340-390	440/500
	Pic C (Tryptophan-like) : 270-285	340/360
Vouvé et al., (2009)	Fluorophore 1 (AH) : 260-320 et 330-390	440-500
	Fluorophore 2 (AF) : 300-360	410
Wang et al., (2009)	Pic A : UV Fulvic-like : 230-255	424-462
	Vis Fulvic-like : 300-305	424-442
He et al., (2011)	Pic C ; Humic acid-like : <250	> 380
	Fulvic acid-like, associé à Humic acid-like : 240 et 270	320
De Laurentiis et al. (2012)	Pic A, Humic-like : 250-275	400-480
	Pic C, Humic-like : 305-330	410-450

La matière organique peut avoir des interactions avec des composés organiques qui dépendent de la nature de la MON d'une part et du composé organique d'autre part**.** En 1999, Doll et al. ont décrit les interactions entre la MON dissoute et les contaminants hydrophobes comme étant des mécanismes d'association non spécifiques avec les parties hydrophobes de la matière organique. Les interactions peuvent également être spécifiques et orientées (interactions π-π), souvent réversibles ; elles dépendent des conditions physico-chimiques (McCarthy et Jimenez, 1985 ; Kopinke et al., 2001). La force ionique, le pH et la concentration en ions métalliques modifient la conformation spatiale des macromolécules. De

ce fait, il y a création ou suppression des sites favorables à l'association avec les contaminants (Pan et al., 2007). Dans leur étude sur la MON dissoute de lac et de rivière, Thacker et al (2008) ont démontré qu'il n'existait pas de variations significatives de fixation du BaP par la MON dissoute entre les différents échantillons naturels étudiés.

Le pH est un paramètre qui peut avoir une grande influence sur les interactions entre la MON et les contaminants hydrophobes apolaires. L'augmentation du pH ou de la force ionique entraine une augmentation de l'association entre les composés apolaires et la matière organique (Lee et Farmer, 1989). L'augmentation de pH va ioniser les groupements acides des substances humiques, qui vont devenir plus polaires, diminuant ainsi les interactions hydrophobes avec les contaminants apolaires.

II.3.2.Rôle de la matière organique du sol (MOS)

La MOS en solution, après filtration sur des filtres de porosité de 0,4 à 0,6µm, est appelée matière organique du sol dissoute (McFee et al., 1995). La MOS constitue généralement 1 à 5% de la masse du sol, avec la moitié de cette masse correspondant au carbone (58%) (Jain et al., 1997 ; Périé et Ouimet, 2008). La quantification de la MOS se fait par la mesure de la concentration en carbone organique. La MOS joue un rôle très important dans les processus écologiques. Elle sert de niche et constitue un réservoir d'éléments nutritifs aux microorganismes du sol. Sa capacité d'échange cationique permet de retenir ou restituer les éléments nutritifs en assurant le stockage, après minéralisation par les microorganismes du sol des éléments dont les plantes ont besoin. Elle affecte aussi la structure du sol en jouant un rôle important dans la rétention de l'eau et dans la protection contre l'érosion et dans la fertilité en étant un réservoir d'ions utiles pour les plantes. La MOS a un rôle environnemental très important. Plusieurs études ont démontré son importance dans le transport et le devenir des contaminants présents dans le sol (Kalbitz et Kaiser, 2003). Les HAP qui se trouvent dans les couches superficielles du sol peuvent être emmenés aux couches profondes par l'intermédiaire de la MOS dissoute (Wild et Jones, 1995 ; Wilcke, 2000). Les caractéristiques de la MOS dissoute sont influencées par la dégradation microbienne qui est en relation avec les propriétés physico-chimiques et la composition structurale de la MOS dissoute (Saadi et al., 2006).

La MOS contrôle principalement la sorption des composés organiques hydrophobes dans le sol. Des études ont montré que la sorption des polluants tel les HAP est linéaire sauf

dans les sols riches en matières organiques (Pignatello, 1998). Cependant, en raison de la présence de multi-domaines de sorption dans la MOS, la sorption des composés organiques hydrophobes est non linéaire (Weber et Huang, 1996). Cette non-linéarité dépend de la séquestration des HAP sur des sites d'adsorption spécifiques ou dans des nanopores (Weber et al., 1992 ; Xing et Pignatello, 1997). Certaines études ont montré que la sorption des composés organiques hydrophobes par la MOS était contrôlée par le cycle aromatique (Chin et al., 1997 ; Perminova et al., 1999). D'autres travaux ont montré que celle-ci est contrôlée par le carbone aliphatique (Chefetz et al., 2000 ; Simpson et al., 2003). En outre, la polarité de la MOS est un facteur régulateur de la sorption (Kang et Xing, 2005). Il semble alors que chaque propriété de la MOS contribue au comportement vis-à-vis des composés organiques hydrophobes et les conclusions explicites sont difficiles (Pan et al., 2007). Selon Schaumann (2006), la propriété de sorption de la MOS change avec la température sans modification de la composition chimique (passage de MO condensé à MO élastique). Des études ont suggéré que les molécules sorbées pouvaient réorganiser la matrice de la MOS (Kan et al., 1998 ; Lu et Pignatello, 2002) ; les pores (ou micropores) de celle-ci peuvent être forcés à se dilater à cause du mouvement thermique des molécules sorbées y entrant, créant ainsi une nouvelle surface interne pendant le processus de sorption. Des molécules peuvent même forcer leur chemin dans des pores qui étaient initialement trop petits pour les accommoder (Yu et al., 2010).

II.3.3.Substances Humiques

Les substances humiques (SH) sont principalement produites lors du processus de dégradation et de transformation des matières organiques sous l'action microbienne par des réactions secondaires de synthèse (condensation) (Senesi et Loffredo, 1999). Les SH constituent la partie hydrophobe de la matière organique ce qui leur donne la propriété de sorption des polluants organiques hydrophobes tels les hydrocarbures aromatiques polycycliques (Caron et Suffet, 1988). Selon certaines études, les macromolécules humiques sont des ensembles de type supramoléculaire formés de petites molécules chimiquement différentes ayant des liaisons hydrogène ou des liaisons hydrophobes entre elles (Piccolo, 2001 ; Simpson et al., 2002). Wershaw (1999) propose que les zones hydrophiles et hydrophobes des substances humiques aient une forme micellaire. La formation de telles pseudo-micelles joue un rôle important dans la réactivité des substances humiques avec les

contaminants qui, selon leur polarité vont avoir une affinité à se fixer sur différente régions des substances humiques.

Les substances humiques peuvent être fractionnées en trois fractions différentes sur critères de masse et de solubilité : les humines insolubles à tous les pH, les Acides Fulviques (AF) solubles à tous les pH et les Acides Humiques (AH) solubles sauf à pH acide (Thurman, 2013). Ici seules les fractions qui peuvent être solubilisées seront prises en compte : Acides fulviques et Acides humiques.

Des recherches étudiant les interactions des HAP dont le BaP avec le matériel humique par la dialyse à l'équilibre et la technique de fluorescence ont trouvé qu'il y a une relation directe entre l'hydrophobicité des HAP et la tendance à se fixer aux substance humiques dissoutes ; cette affinité diminue légèrement avec l'augmentation de la concentration des SH dissoutes. L'association du BaP aux SH dissoutes dans ces études était réversible indépendamment du temps de sorption. Le taux de cette association, mesuré par quenching de fluorescence, fut rapide et achevé dès 5 à 10 minutes (McCarthy et Jimenez, 1985).

II.3.4.Les Acides Fulviques (AF) et les Acides Humiques (AH)

Les acides humiques et les acides fulviques peuvent être différenciés par leurs propriétés chimiques (Tableau II-6). Les acides humiques sont seulement solubles dans une solution alcaline diluée alors que les AF sont solubles quel que soit le pH. Les acides humiques ne sont pas composés d'un seul type d'acide mais d'un mélange d'acide contenant des groupes carboxyle et phénolate. Ils peuvent former des complexes avec les ions qui se trouvent dans l'environnement pour former des colloïdes humiques. Les acides humiques sont des quenchers car ils sont capables de diminuer l'intensité de fluorescence des HAP (Jin et al., 2009). En comparant les propriétés spectrales des AF et AH provenant d'un même sol, Senesi et al. (1991) ont trouvé que les AF fluorescent de 2 à 20 fois plus que les AH et qu'ils possèdent leur maximum à des longueurs d'ondes plus courtes que les AH. D'autres études, portant sur la liaison du pyrène aux acides humiques a prouvé que le poids moléculaire et l'aromaticité de ces derniers influencent l'affinité des molécules aromatiques à s'y fixer (Chin et al., 1997).

Tableau II-6 Caractéristiques des acides humiques et fulviques (Martin et al., 1998)

Composant	Unité	Acide humique	Acide fulvique
C	%	41,6	30,8
O	%	38,8	55,5
H	%	5,7	5,1
N	%	13,8	8,5
COOH	me/g	3,6	2,0
Phénolique OH	me/g	1,6	7,0
masse molaire	Da	10 000-50 000	500-700

II.3.5.Études des SH, AF, AH et du BaP par la technique de fluorescence

La méthode de la spectroscopie de fluorescence est rapide à mettre en œuvre, nécessite peu de préparation d'échantillon et elle est très sensible. Elle est utile pour détecter la présence d'un composé en exploitant une paire de longueurs d'ondes d'excitation et d'émission spécifiques de ce composé (Chen, 1999). Les matrices d'excitation et d'émission de fluorescence ont permis d'augmenter le nombre de fluorophores détectés dans les échantillons. Dans cette technique, l'émission est scannée sur une gamme de longueurs d'ondes pour différentes longueurs d'onde d'excitation fixées. Le résultat est un scan linéaire, dans lequel le choix de la longueur d'onde d'excitation détermine les molécules susceptibles d'être identifiées. Les matrices d'excitation et d'émission de fluorescence (MEEF) ont été largement utilisées durant la dernière décennie pour obtenir des informations sur les caractéristiques de la matière organique dissoute d'origines diverses (terrestre, marine, etc.…) et pour évaluer sa qualité dans les différents compartiments (eau, sédiments et sols) (Marhaba et al., 2000 ; Baker, 2001 ; Chen et al., 2003). Les détails du principe de la fluorescence d'une part et des MEEFs d'autre part seront expliqués dans le chapitre 2. Brièvement, des scans d'excitation, d'émission et d'intensité de fluorescence sont réalisés simultanément sur une gamme de longueurs d'ondes données. Le résultat correspond à une image 3D de fluorescence qui permet de localiser les fluorophores présents selon leur position en longueurs d'ondes d'excitation et d'émission dans la matrice et leur intensité de fluorescence. En comparaison avec la méthode traditionnelle à spectre unique, les MEEFs-3D contiennent plus d'informations (Spencer et al., 2007). Plusieurs techniques ont été mises en place pour interpréter les MEEFs. Au départ, Coble (1996) et McKnight et al. (2001), ont identifié et quantifié les fluorophores par la méthode visuelle. Ils ont utilisé cette technique pour caractériser les fractions optiques actives de la MOD nommées « coloured dissolved organic

matter (CDOM) ». Coble (1996) a utilisé cette technique pour différencier entre CDOM d'origine terrestre et d'origine marine en trouvant que ces derniers ont des maxima de fluorescence à des longueurs d'ondes plus courtes que ceux des CDOM d'origine terrestre. Depuis, des techniques d'analyses de données multi-variées ont été mises en place pour analyser les MEEFs : par exemple Analysis of Variance (ANOVA) (Jaffé et al., 2004), Parallel Factor Analysis (PARAFAC) (Bro, 1997 ; Andersen et Bro, 2003 ; Bro et Kiers, 2003 ; Stedmon et al., 2003) et Partial Least Squares regression (Ferrer et al., 1998 ; Bengraïne et Marhaba, 2004).

La combinaison des MEEFs à l'algorithme PARAFAC est largement utilisée pour caractériser la MOS dissoute et évaluer une éventuelle contamination dans les différents compartiments environnementaux comme la MOD terrestre (Ohno et Bro, 2006), dans des rivières (Guo et al., 2011), des réservoirs d'eau potable (Holbrook et al., 2006), des estuaires (Stedmon et Markager, 2005) et en milieu marin (Ferretto et al., 2017). La popularité de cette méthode est due au fait qu'elle est simple à mettre en œuvre, ne nécessite pas un large temps de préparation ; elle a une rapidité d'acquisition des données et une grande quantité d'informations peut être tirée d'une seule matrice (Holbrook et al., 2006). Elle permet aussi d'observer les changements qualitatifs de la MOS dissoutes et des différents fluorophores présents dans l'échantillon testé et de détecter les changements de leur intensité de fluorescence (Stedmon et Markager, 2005).

La majorité des méthodes conventionnelles de détermination des HAP citées précédemment implique généralement une étape d'extraction, suivie d'un nettoyage et enfin d'une analyse chromatographique. La spectroscopie de fluorescence qui est une méthode analytique utilisée pour la détection et la quantification de différents polluants organiques tels les HAP, correspond à une méthode alternative aux méthodes conventionnelles qui elles, sont coûteuses, et nécessitent un temps de préparation important. Mais, plusieurs études ont montré qu'il existe des chevauchements entre les spectres d'excitation et d'émission des HAP entre eux et avec les autres composants présents dans les matrices étudiées ce qui nécessite un traitement mathématique des données.

Récemment, comme pour la MOD, les MEEFs-3D couplés à PARAFAC ont permis la détection directe des HAP (Beltrán et al., 1998 ; Nahorniak and Booksh, 2006 ; Elcoroaristizabal et al., 2014). Ainsi, l'efficacité de coupler les MEEFs-3D à l'algorithme PARAFAC pour la détection et la quantification des HAP a été prouvée dans plusieurs études

(Beltrán et al., 1998; Jiji et al., 1999). Bortolato et al, (2008) ont déterminé simultanément la présence du dibenzo(a,h,)anthracène et du benzo(a)pyrène malgré les interférences d'autres HAP dans des échantillons aqueux (Bortolato et al., 2008). Cette méthode a été aussi validée pour la détection des HAP dans des matrices complexes comme les huiles végétales (Alarcón et al., 2013) et des échantillons d'eau de mer (Ferretto et al., 2014).

Dans notre étude, on utilisera les MEEFs-3D couplés à l'algorithme PARAFAC pour déterminer simultanément les signatures de fluorescence des fluorophores composants la MOS dissoute et du BaP présent dans les matrices d'échantillons de sols. Nous étudierons aussi l'effet du BaP sur les propriétés spectrales des différents fluorophores présents dans les trois fractions du sol à savoir SH, AF et AH. La description des propriétés spectrales de chaque fluorophore présent dans les fractions nous aidera à déterminer quel fluorophore est le plus influencé par le BaP, et comment ceci se traduit sur la concentration relative du composant de la MOS d'une part et celle du BaP d'autre part.

Chapitre III. Matériels et Méthodes

III.1. Extraction et fractionnement physique de la matière organique des échantillons de sol

III.1.1. Préparation des échantillons de sol

Le sol utilisé dans ces travaux de thèse a été prélevé entre 5-20 centimètres de profondeur près du village de la Llagonne dans une région de haute montagne située dans le département des Pyrénées Orientales au sud de la France (42,52649 ° N ; 2,12305 ° E ; altitude 1657 m). Le sol est brun, acide et ne présente aucune trace de pollution (Hammou, 2012). Le sol a été séché dans une étuve à 105°C durant 24 heures. Après refroidissement, il a été broyé dans un mortier puis, dans le but de garder uniquement la fraction fine humifiée liée aux éléments minéraux les plus fins, il a été tamisé (diamètre des mailles : 2 mm) afin d'éliminer les graviers, les sables, et les gros débris végétaux (Hammou, 2012). Dans la suite de ce travail, seule la fraction fine du sol contenant la matière organique sera étudiée.

III.1.2. Extraction des substances humiques (SH)

Les substances humiques (SH) du sol ont étés extraites de la fraction fine du sol dans des conditions alcalines suivant le protocole de Duchaufour et Jacquin (1966) complété plus tard par Ratsimbazafy (1973) (Figure III-1). À 10 grammes d'échantillon de sol sont ajoutés 120 ml de $Na_4P_2O_7$ (pyrophosphate de sodium) 0,1 M et 80 ml de NaOH (hydroxyde de sodium) 0,1 M dans une bouteille en polytéréphtalate d'éthylène (PETE). Dans cette solution le pH doit être voisin de 13. Le mélange soude-pyrophosphate de sodium permet l'extraction de la matière organique liée aux particules du sol (Hammou, 2012). Le mélange est placé dans un agitateur rotatif à l'obscurité durant 24 heures pour obtenir une bonne homogénéisation. Ensuite, la solution est centrifugée à 3600 g durant 20 minutes. Le surnageant ainsi obtenu représente la fraction « substances humiques » (SH). Le pH de cette fraction est ajusté à 7,5 ± 0,1 ; ensuite la fraction SH est filtrée sur un filtre en fibre de verre (ø 0,7 µm). Le culot correspond à l'humine ; c'est la fraction insoluble dans l'eau. Cette fraction ne sera pas étudiée dans ces travaux.

III.1.3. Fractionnement physique des acides fulviques (AF) et des acides humiques (AH)

La solution de SH préalablement préparée est séparée en deux parties : une partie servira à l'analyse en spectroscopie et l'autre partie servira au fractionnement. Pour obtenir les fractions AF et AH, la solution de SH est ramenée à un pH inférieur à 2 à l'aide d'acide chlorhydrique concentré et on laisse reposer cette solution 24 heures à l'obscurité. Après le délai de 24 heures un précipité est apparu. On centrifuge la solution dans les mêmes conditions de centrifugation citées précédemment. On obtient ainsi le culot qui constitue la fraction AH et le surnageant qui correspond à la fraction AF. Les deux phases sont séparées. Le pH des AF est ajusté à 7,5 ± 0,1 alors que les AH sont stockés à l'obscurité. Les AH seront mis en solution juste avant les analyses dans l'eau purifiée tout en s'assurant que le pH soit à 7,5 ± 0,1. On procède ainsi car les propriétés spectrales des AH se modifient quand ils sont longtemps en solution. Le pH des trois fractions est toujours ajusté à 7,5 ± 0,1 pour assurer la solubilisation des colloïdes humiques (Wershaw et Pinckney, 1971) et réaliser des mesures de fluorescence toujours dans les mêmes conditions.

Le schéma de la figure III-1 représente les différentes étapes citées ci-dessus.

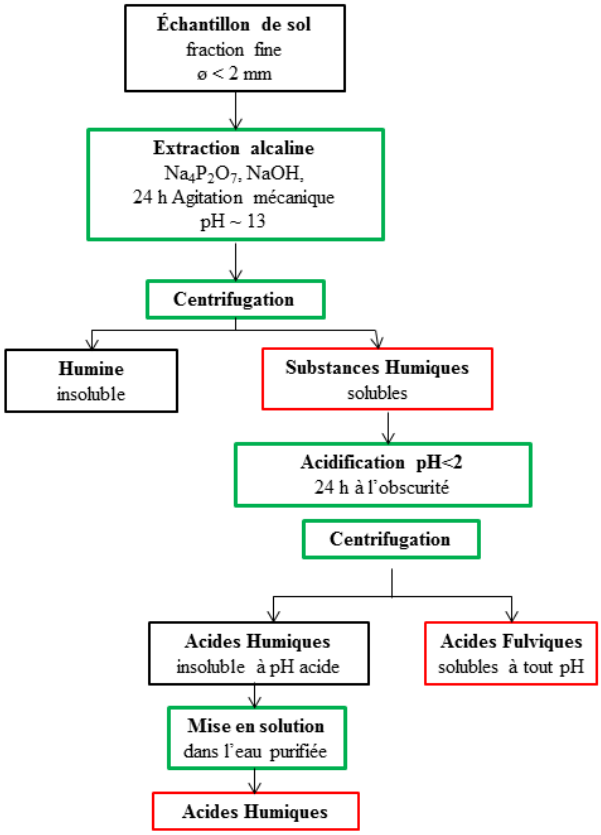


Figure III-1 Schéma adapté de l'extraction et du fractionnement de la MOS (Duchaufour et Jacquin, 1966 ; Ratsimbazafy, 1973) (en rouge les fraction analysées).

III.2. Le carbone organique dissous (COD)

La structure moléculaire des matières organiques n'étant pas définie précisément (Ishii and Boyer, 2012), il est impossible d'obtenir leurs concentrations directement. Pour quantifier ces matières organiques dans les trois fractions définies précédemment, la mesure du COD est réalisée (Servais et al., 2005). Les concentrations du COD ont été déterminées à l'aide de l'appareil Shimadzu analyseur TOC V_{CSN} (Shimadzu Corp., Kyoto, Japon) par la méthode NPOC (Non puregeable organic carbon) suivant la méthode d'oxydation par combustion catalytique avec un catalyseur à base de platine sous flux d'oxygène ultra-pur. Le COD a été mesuré par la méthode de détection Infra Rouge Non Dispersif (NDIR). La moyenne de deux à trois injections, de 50 µl chacune, a été obtenue pour chaque échantillon avec un coefficient de variation < 2 % pour chaque réplica d'injection. La limite de détection du COD par cette méthode a été de 0,1 mg/l.

III.3. Préparation de la solution de benzo(a)pyrène (BaP)

Le BaP est un produit Sigma-Aldrich (pureté ≥ 96%) et il a été utilisé avec des précautions de sécurité (masque, gant, sous hotte). Tous les solvants organiques correspondent à des produits Carlo Erba HPLC grade. Une solution mère de BaP pur (10^{-4} M) a été préparée en pesant la quantité appropriée de BaP solide et en la dissolvant dans l'acétate d'éthyle pour maximiser sa solubilité. Cette solution mère a été maintenue dans l'obscurité à 4 °C. La verrerie a été lavée à l'HCl (0,1 M) puis à l'eau purifiée.

Dans le chapitre IV, une gamme d'étalon (10^{-9} M ; 2.10^{-9} M et 5.10^{-9}M) et une solution de BaP 10^{-5} M ont été préparés dans l'eau à partir de la solution mère en passant par une solution intermédiaire dans l'éthanol. Pour les expériences du chapitre V, trois concentrations de BaP de 10^{-4} ; 10^{-5} et 10^{-7} M dans l'acétate d'éthyle ont été préparées à partir de la solution mère et une gamme d'étalon a été préparée dans l'eau et comprend les concentrations suivantes : 5.10^{-9} ; 10^{-8} ; 3.10^{-8} et 5.10^{-8} M. Et enfin, pour le chapitre VII, une gamme étalon a été préparée dans l'eau à partir de la solution mère en passant par une solution intermédiaire dans l'éthanol avec les concentrations suivantes 5.10^{-9} ; 10^{-8} ; $2{,}5.10^{-8}$; 5.10^{-8} ; 10^{-7} M.

III.4. La spectroscopie de fluorescence

Durant ces vingt dernières années, l'utilisation de la fluorescence dans les sciences biologiques, chimiques, physiques et biotechnologiques a augmenté considérablement et cette technique se trouve impliquée dans plusieurs domaines (analyses environnementales, chimie analytique, médecine etc…) (Beltrán et al., 1998 ; Jiji et al., 1999 ; Nahorniak et Booksh, 2006 ; Shahzad et al., 2009). La détection par fluorescence est très sensible, ne nécessite pas de préparation compliquée des échantillons et a un coût moins important que les autres méthodes analytiques.

III.4.1. Le principe de la fluorescence

La luminescence est un phénomène physique défini comme étant l'émission de lumière d'une substance quelconque suite à une excitation. Selon la nature de l'état excité, la

luminescence est divisée en deux catégories ; fluorescence et phosphorescence (Lakowicz, 2010). Cette émission de lumière s'effectue sans dégagement de chaleur. Ici nous considérons seulement le phénomène de fluorescence. Les molécules fluorescentes sont des molécules ayant la propriété d'absorber un rayonnement lumineux et de réémettre l'énergie absorbée sous forme de lumière. La molécule à l'obscurité se trouve dans un état stable, appelé aussi état fondamental et noté S_0. Suite à l'absorption de photons de fréquence *v* et de longueur d'onde donnée (spécifique à chaque molécule), un apport d'énergie se produit et excite alors les électrons. Les électrons excités vont ainsi passer à un niveau d'énergie plus élevé (S_1, S_2 Figure III-2). La molécule est dans un état énergétique supérieur et instable ; on dit que la molécule est excitée. Sur les niveaux excités, la durée de vie d'un électron est très courte, de l'ordre de quelques nanosecondes. La molécule peut subir plusieurs réactions avant son retour à l'état fondamental. Il existe deux processus qui permettent à la molécule excitée de perdre son énergie : le processus de désactivation non radiative (conversion interne) et le processus de désactivation radiative (fluorescence). La fluorescence correspond à la désactivation radiative spontanée de l'état électroniquement excité S_1 (selon une transition entre un état singulet excité) vers l'état fondamental S_0 (Figure III-2). Durant cette transition, l'électron va restituer une partie de l'énergie qu'il a absorbé sous forme de lumière ; cette énergie est toujours inférieure (dans un liquide) à celle qui a permis l'excitation de la molécule à cause des conversions internes (Valeur et Berberan-Santos, 2012).

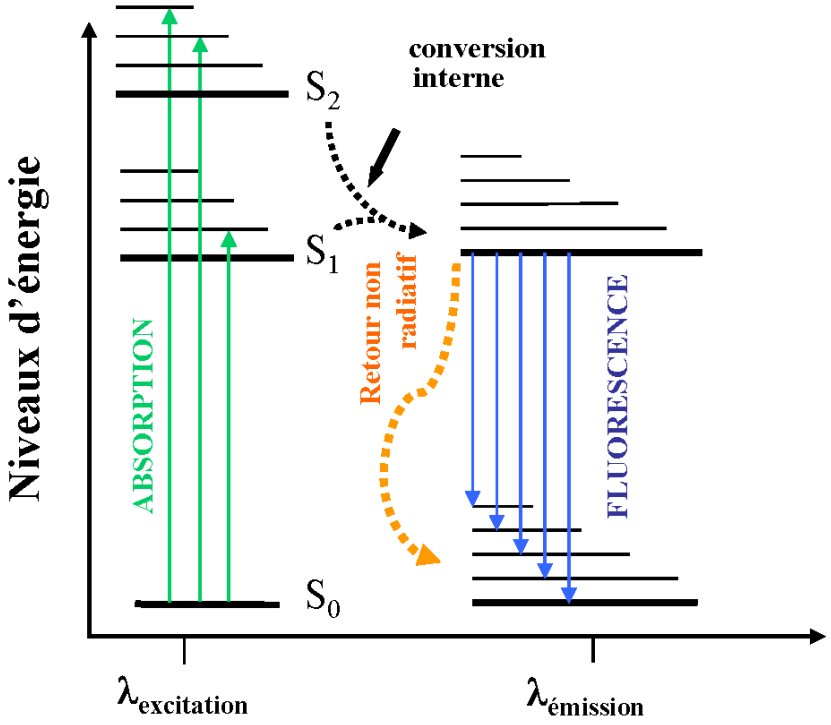


Figure III-2 Diagramme de Jablonski-Perrin (adapté de www.upload.wikimedio.org).

La fluorescence peut se produire à partir de molécules aromatiques. Dans un environnement donné, chaque molécule qui a la propriété de fluorescence peut être caractérisée par des spectres d'excitation et d'émission propres. Les données spectrales de fluorescence varient selon la structure chimique des molécules fluorescentes appelées fluorophores et du solvant utilisé.

L'équation (1) caractérise l'intensité de fluorescence (en unité arbitraire u.a.) émise par la molécule en fonction des longueurs d'ondes d'excitation et d'émission :

$$I_F(\lambda_{ex},\lambda_{em}) = KF_{\lambda ex}\,(\lambda_{em})I_0(\lambda_{ex})(1\text{-}e^{-2.303\varepsilon(\lambda ex)IC}) \qquad (1)$$

Dans le cas où le milieu est peu concentré (dilué) l'équation (1) se simplifie :

$$I_F(\lambda_{ex},\lambda_{em}) = 2.303\ KF_{\lambda ex}\,(\lambda_{em})I_0(\lambda_{ex})A(\lambda_{ex}) \qquad (2)$$

A (λ_{ex}) est l'absorbance définie par la loi de Beer-Lambert et correspond donc à ε (λ ex)*lc*. *l* correspondant à l'épaisseur de la cuve de mesure (généralement égale à 1 cm) ; *c* est la concentration molaire de la solution exprimée en mol.L^{-1}; *ε* est le coefficient d'extinction molaire exprimée en $L.mol^{-1}.cm^{-1}$. $I_F(\lambda_{ex},\lambda_{em})$ est l'intensité de fluorescence (pour une longueur d'onde d'excitation et d'émission donnée), K est le produit du rendement quantique et d'une constante qui dépend des paramètres de mesures. $F_{\lambda ex}$, est la densité de probabilité d'émission d'un photon à une longueur d'onde donnée (le spectre d'émission). I_0 (λ_{ex}) représente l'intensité incidente de la lampe.

Un exemple de mesure des spectres d'absorption et d'émission de fluorescence du benzo(a)pyrène pur dans l'acétate d'éthyle (HPLC grade) est présenté dans la figure III-3. Les mesures d'absorption ont été réalisées avec un spectrophotomètre Jasco V630. Les mesures de fluorescence ont été faites à l'aide d'un spectrofluorimètre SAFAS (modèle flx-Xenius). Les échantillons ont été placés dans des cuves en quartz de 1 cm de large. Toutes les mesures ont été effectuées à température ambiante (20°C ± 2°C).

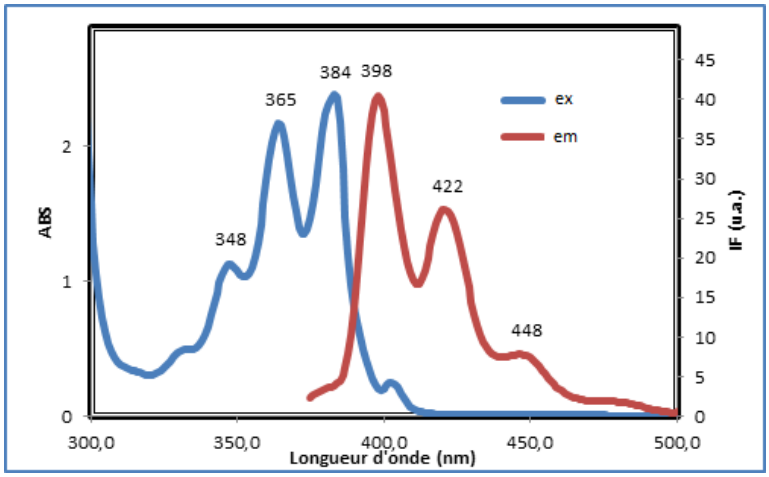


Figure III-3 Spectres d'absorption (en bleu : BaP 10^{-4} M) et d'émission de fluorescence (en rouge : BaP 5.10^{-8} M) du benzo(a)pyrène pur à l'excitation 365 nm.

III.4.2. Matrices d'excitation et d'émission de fluorescence (MEEFs)

Le spectre d'émission de fluorescence d'un échantillon donné, est constitué des intensités de fluorescence mesurées aux différentes longueurs d'ondes émises par la ou les

molécule(s) suite à l'absorption de photons. Pour les échantillons qui ne sont pas des produits purs, les mesures des spectres d'émission de fluorescence en deux dimensions (2D), offrent peu d'informations sur la nature et le type des molécules complexes présentes. En conséquence, la fluorescence en trois dimensions (3D) a été développée à travers les matrices d'excitation et d'émission de fluorescence (MEEF) (Coble et al., 1990 ; Coble, 1996). Cette méthode consiste à mesurer les spectres d'émission de fluorescence pour toute une série de longueurs d'ondes d'excitation (balayage en excitation et en émission). Elle permet de mettre en évidence et de détecter la présence de l'ensemble des fluorophores, nommés aussi composants fluorescents, présents dans l'échantillon étudié. Les mesures simultanées des longueurs d'onde d'excitation, d'émission et des intensités de fluorescence produisent une image 3D permettant de localiser et de caractériser les différents fluorophores présents dans l'échantillon avec leurs intensités de fluorescence. Dans ce travail, les mesures des MEEFs ont été faites par un spectrofluorimètre Safas flx avec une vitesse de balayage de 270 nm/min. Les longueurs d'onde d'excitation variaient de 200 à 500 nm avec un pas de 10 nm. Les longueurs d'ondes d'émission étaient entre 220 et 800 nm avec un pas de 1 nm. Les largeurs des fentes d'excitation et d'émission ont été fixées à 10 nm. La réponse était de 0,2 s et le PM = 800 V.

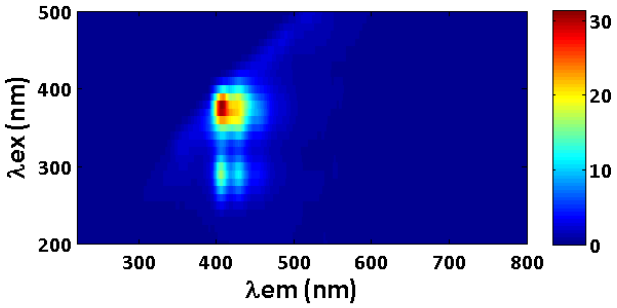


Figure III-4 MEEFs du BaP 5.10^{-9} M dans l'eau

Dans une seule MEEF il existe une vaste gamme de données à analyser et à interpréter (Lombardi et Jardim, 1999). Plusieurs techniques ont été mises en place pour interpréter les MEEFs. Au départ, Coble (1996) et McKnight et al. (2001), ont identifié et quantifié les fluorophores par la méthode de détection visuelle des pics sur une image iso-contour de MEEFs. Depuis, des techniques d'analyses de données multi-variées ont été développées pour étudier les fluorophores contenus dans les MEEFs de la MON. Saurina et al.(2000), ont

employé la régression linéaire multiple, par résolution des courbes multi-variées. Marhaba et al. (2000) ont proposé l'analyse en composantes principales et en 2003 ils ont développé l'analyse partielle des moindres carrés, ainsi que Hall et al. en 2005. Depuis la dernière décennie, c'est le traitement de décomposition des MEEFs par l'algorithme PARAFAC (Bro, 1997 ; Bro et Kiers, 2003 ; Stedmon et Markager, 2005) qui est le plus utilisé (Holbrook et al., 2006 ; Ohno et Bro, 2006 ; Guo et al., 2011 ; Santos et al., 2015 ; Tadini et al., 2017) (voir paragraphe III.5.). Plus récemment, Bieroza et al. (2011) ont développé le réseau de neurones artificiels SOM (Self-organizing map). Selon Bieroza et al., (2011), PARAFAC et SOM sont performants, et constituent de bons outils pour la décomposition des données de fluorescence. SOM ne nécessite aucune supervision de l'utilisateur comme les données sont sélectionnées automatiquement. La démarche est de ce fait neutre, mais l'analyse est purement mathématique. Tandis que dans le modèle PARAFAC, l'analyse nécessite l'intervention de l'utilisateur durant la modélisation (choix du nombre de composants) ce qui permet d'avoir à la fois un modèle mathématiquement fiable ayant un sens physique. Les détails sur le modèle PARAFAC seront développés ultérieurement dans le paragraphe III-5.

III.4.3. Facteurs influençant la fluorescence

Plusieurs facteurs environnementaux affectent la fluorescence d'une molécule en solution (Valeur, 2001, 2004) dont les principaux sont les suivants. Le solvant a un effet sur les longueurs d'ondes d'excitation et d'émission de fluorescence. La polarité modifie également la fluorescence puisque plus la polarité augmente, plus l'émission de fluorescence se décale vers les grandes longueurs d'ondes. Les variations de pH agissent aussi sur le rendement quantique de fluorescence ainsi que sur les formes des spectres d'excitation et d'émission de fluorescence. L'élévation de température a pour effet de diminuer le rendement quantique de fluorescence. La présence d'ions métalliques modifie la fluorescence avec souvent une diminution de l'émission. La présence d'autres molécules en solution peuvent aussi modifier la fluorescence en provoquant une diminution de son intensité : c'est le phénomène de « quenching ». Si la molécule présente (quencher) entre en collision avec la molécule fluorescente, l'énergie électronique sera convertie en énergie cinétique et en énergie de vibration ce qui inhibera la fluorescence : c'est le quenching dynamique. Si la molécule

quencher forme un complexe avec la molécule fluorescente qui n'émet pas de fluorescence : c'est le quenching statique (Howerton et al., 2002).

Lors des mesures de fluorescence, des phénomènes de diffusions se produisent dues au flux de photons dans la solution (Valeur 2001, 2004). Ces diffusions physiques sont de deux types. La diffusion Rayleigh correspond à une collision élastique entre le photon et les électrons de la molécule sans échange d'énergie. Cette diffusion est produite à la même longueur d'onde que celle de la lumière d'excitation pour le premier ordre. Avec les monochromateurs à réseau, il existe aussi une diffusion Rayleigh du deuxième ordre observée à $2 \times \lambda_{ex}$ avec une intensité plus faible.

La diffusion Raman est une collision inélastique qui donne lieu à un transfert d'énergie de la radiation excitatrice aux molécules de solvant contenant des groupements OH (de type eau, alcool). Une partie de l'énergie absorbée par les molécules de solvant est convertie en énergie de vibration propre qui est stable. Cette diffusion se produit donc à une λ_{Raman} supérieure à λ_{ex} avec une intensité environ 1000 fois plus faible que la diffusion Rayleigh.

Dans les solutions concentrées, la diminution ou l'extinction de l'émission de fluorescence peuvent se produire suite aux phénomènes d'effet d'écran de deux sortes (Larsson et al., 2007 ; Luciani, 2007). Quand la lumière excitatrice est absorbée par les molécules de la solution avant d'atteindre le centre de la cuve où se fait la mesure, il y a peu ou pas de molécules excitées ce qui diminuera la fluorescence détectée : c'est l'effet d'écran primaire. Suite à l'excitation de molécules fluorescentes, il peut se produire aussi le phénomène de réabsorption de l'émission de fluorescence par d'autres molécules qui absorbent dans le même domaine que les longueurs d'ondes émises : c'est l'effet d'écran secondaire. Afin d'éviter l'effet d'écran, les échantillons doivent être dilués pour avoir une absorbance inférieure à 0,3 à la longueur d'onde 254 nm.

Dans la réalisation de nos analyses, nous avons vérifié qu'il n'y avait aucun effet d'écran parmi les échantillons.

III.5. Principe de l'algorithme Parallel Factor Analysis (PARAFAC)

Le traitement de décomposition trilinéaire des MEEFs par la méthode PARAFAC a été développé en 1970 par Harshman pour des recherches appliquées en psychométrie. C'est une méthode statistique multi-variée basée sur un algorithme mathématique utilisant la méthode itérative des moindres carrées. PARAFAC a été établie mathématiquement par Lasker en 1904, puis par Hitchcock en 1928. Cette méthode est utilisée pour décomposer les différents signaux fluroescents présents dans des MEEFS (Bro, 1997) . PARAFAC est basée sur la statistique de Tucker 3 (Lundy et al., 1989 ; Bro, 1997). Les MEEFS sont groupées pour former des cubes dont les dimensions sont : le nombre de longueurs d'ondes d'excitation, et d'émission et le nombre de MEEFs (Figure III-5).

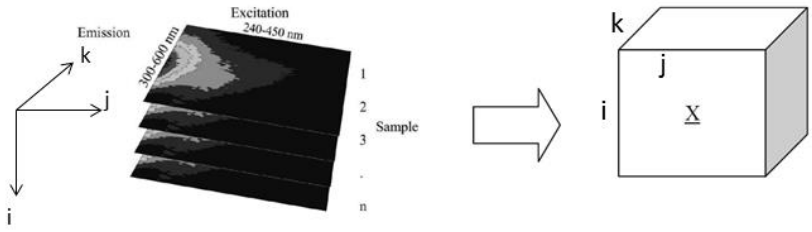


Figure III-5 Exemple de combinaison de MEEFs en cube à 3 dimensions (Stedmon et Bro, 2008).

PARAFAC permet la décomposition de ce cube en composants trilinéaires selon l'équation suivante (3) :

$$X_{i,j,k} = \sum_{f=1}^{F} a_{i,f} b_{j,f} c_{k,f} + \varepsilon_{i,j,k} \quad (3)$$

Etant donné i = 1,….., I ; j = 1,……, J et k = 1,…., K

$X_{i,j,k}$ est considéré comme l'intensité de fluorescence de l'échantillon i, à la longueur d'onde d'excitation j et à la longueur d'onde d'émission k. F est le nombre de fluorophores (composants) présents dans chaque MEEF.

$a_{i,f}$ est un facteur proportionnel à la concentration du fluorophore f dans l'échantillon i (produit de la concentration et du rendement quantique).

$b_{j,f}$ est une estimation du spectre d'excitation de fluorescence du fluorophore f à la longueur d'onde j d'excitation.

$c_{j,k}$ est une estimation du spectre d'émission du fluorophore f à la longueur d'onde k d'émission.

$\varepsilon_{i,j,k}$ représente la somme des résidus des matrices (équation 4).

$$\varepsilon = \sum_{i=1}^{I}\sum_{j=1}^{J}\sum_{k=1}^{K}(x_{i,j,k} - \hat{x}_{i,j,k})^2 \quad (4)$$

Le modèle nous fournit alors les matrices A, B et C, de dimensions IxF, JxF et KxF, représentant l'estimation de la contribution à la fluorescence de chaque fluorophore contenu dans chaque échantillon et les estimations des spectres d'excitation et d'émission de fluorescence de chaque fluorophore respectivement.

Cette équation (3) est résolue en utilisant la méthode itérative des moindres carrés (Alternating least squares). On définit F comme étant le nombre de fluorophores à déterminer. Par la suite, la succession des itérations va permettre d'estimer chaque fluorophore en minimisant l'erreur absolue. Le traitement s'achève quand le minimum de ε est atteint.

Dans ce traitement, une variation de concentration d'un fluorophore est traduite par une variation de l'intensité de fluorescence et non pas par ses propriétés spectrales (spectres d'excitation et d'émission) qui ne doivent pas changer en présence d'autres fluorophores s'il n'y a pas de réaction entre les composants.

On utilisera PARAFAC pour la séparation des sources de fluorescence afin de caractériser les propriétés spectrales, de calculer les contributions spectrales (et éventuellement les concentrations) des fluorophores présents dans l'ensemble des MEEFs. Des prétraitements sont cependant nécessaires afin d'éliminer les phénomènes de diffusion évoqués précédemment (paragraphe III.4.3.) qui peuvent masquer totalement le signal de fluorescence. La diffusion Raman est corrigée par soustraction de la MEEF de l'eau purifiée des MEEFs de chaque échantillon (Sierra, 2005) avant le traitement PARAFAC. Dans ce dernier, la correction de l'harmonique de la diffusion Rayleigh est réalisée suivant la méthode proposée par Zepp et. al. (2004). La figure III-6 présente une MEEF avant et après les corrections de diffusion.

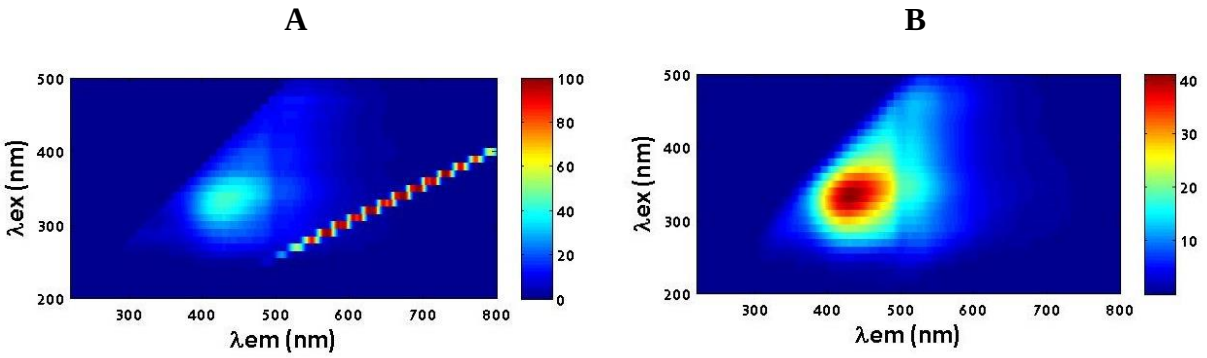


Figure III-6 MEEF d'un échantillon de SH avant (A) et après (B) les corrections de diffusion.

Le choix du nombre de fluorophores pour le traitement des MEEFs de nos échantillons est basé sur les résultats concernant le sol étudié effectué dans le cadre des travaux de thèses de Hammou (2012). Cette étape cruciale est vérifiée en utilisant principalement deux méthodes :

- Split half analysis, qui consiste à diviser les données en plusieurs groupes indépendants. Ensuite on calcule un modèle pour chaque groupe et on choisit le nombre de fluorophores le plus haut pour lequel les différents modèles sont assez proches ;

- Core Consistency Diagnostic (CORCONDIA) qui consiste à estimer si le nombre N de fluorophores choisis est compatible. Il est présenté sous forme d'un pourcentage. Si la valeur du CORCONDIA est de 100%, on considère alors que la décomposition Tucker 3 a bien suivi le modèle PARAFAC et que le nombre de fluorophores choisis est correct. Bro et Kiers (2003) a conseillé de considérer comme un modèle PARAFAC réussi toute décomposition ayant le CORCONDIA supérieur à 60%.

Les différentes étapes suivies dans le traitement appliqué à la matière organique sont représentées dans le diagramme présenté dans la figure III-7.

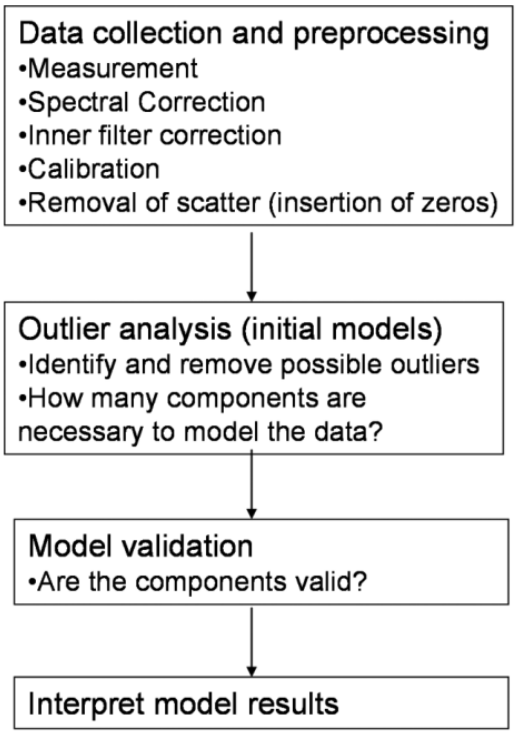


Figure III-7 Diagramme résumant les différentes étapes nécessaires dans l'analyse PARAFAC-fluorescence (Stedmon et Bro, 2008).

Dans nos travaux, nous avons utilisé le programme 'progmeef' développé et procuré par R. Redon (Laboratoire PROTEE, Université de Toulon, France) basé sur Matlab ™.

III.6. Coefficient de similarité

Nous avons utilisé le coefficient de similarité (r_c), également connu sous le nom de 'congruence coefficient' et l'observation visuelle pour comparer les propriétés spectrales des composants obtenus par PARAFAC. Le coefficient de similarité est calculé suivant l'équation suivante (Tucker, 1951) :

$$r_c = \frac{\sum ab}{\sqrt{(\sum a^2 \sum b^2)}} \quad (5)$$

où a représente les spectres obtenus par la décomposition de PARAFAC des fluorophores dans les échantillons testés et b représente les spectres des fluorophores obtenus par la décomposition PARAFAC des échantillons de référence.

Un r_c = 0,90 indique un haut niveau de similarité, un coefficient de 0,95 indique que les spectres comparés sont pratiquement identiques.

III.7. La durée de vie de fluorescence

Dans un environnement donné, chaque fluorophore possède une durée de vie de fluorescence propre. Une source lumineuse peut exciter par absorption de photons plusieurs molécules présentes d'un échantillon. Ces molécules excitées vont retourner à leurs états fondamentaux. La durée de vie est par définition le temps pendant lequel un fluorophore reste à l'état excité après absorption d'un photon (de l'ordre de la picoseconde à la nanoseconde pour la matière organique) (Lakowicz, 2010).

Une source impulsionnelle de lumière discontinue (laser) au cours du temps est utilisée pour déterminer le temps de vie de fluorescence (Valeur et Berberan-Santos, 2012). Dans un échantillon contenant des molécules diverses, la mesure du temps de vie aide à identifier et à séparer les composants présents s'ils ont des temps de vie différents. L'efficacité de cette technique d'analyse pour détecter des HAP a été validée pour le pyrène (Rudnick et Chen, 1998) et pour des mélanges d'HAP dans l'eau de mer (Ferretto et al., 2014). Peu d'études se sont intéressées à étudier le temps de vie des fractions physiques SH, AF et AH en mélange avec le BaP. Il n'existe pas d'études sur le temps de vie de fluorescence du BaP en présence des matières organiques dissoutes dans les fractions des sols d'où l'intérêt de ce travail.

Les analyses de durée de vie ont été réalisées au sein du laboratoire PROTEE, Université de Toulon, France. Brièvement, le système utilisé se compose de trois parties principales : une source lumineuse, un système de détection et un ordinateur pour l'acquisition des données (Figure III-8).

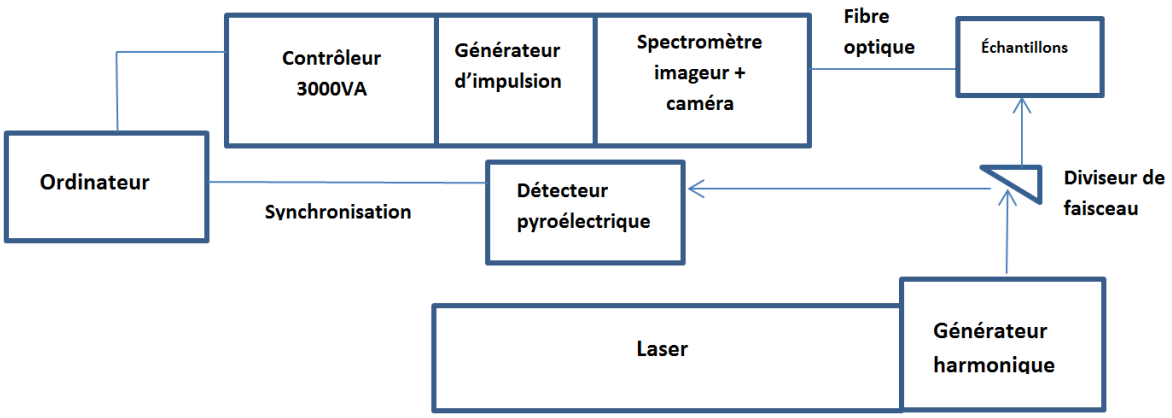


Figure III-8. Schématisation du système utilisé pour la mesure de la durée de vie.

La source est constituée d'un laser pompe à cristal de Néodymium-doped Yttrium (Nd-YAG, Quanta Ray, INDI de Spectra Physics) avec une largeur d'impulsion de 5 ns. Une fois excité, celui-ci émet des ondes électromagnétiques. La source est couplée à un générateur d'harmonique qui permet la sélection de la longueur d'onde d'excitation (355 nm, 15 mJ) qui sera ensuite envoyée sur l'échantillon grâce à un système de miroirs. Le laser produit un déclenchement électrique à l'instant t_0 et l'impulsion laser arrivera à un temps t_0 + 250 ns. La fréquence de pulsations utilisée pour exciter les échantillons analysés est de 20 Hz. Afin d'augmenter la précision de la mesure, les spectres acquis sont corrigés des fluctuations d'énergie possibles durant la mesure. Ainsi, le faisceau énergétique est divisée en deux parties, la première va vers l'échantillon et la seconde partie est réfléchie et enregistrée avec un détecteur pyroélectrique (PE10, Ophir Optronics). L'énergie de fluorescence est collectée par l'intermédiaire d'un faisceau optique composé de 16 fibres optiques de 200 µm et elle est dispersée à l'aide d'un spectromètre imageur (TRIAX 180, Horiba Jobin-Yvon, France) équipé d'une caméra ICCD (Horiba Jobin-Yvon, France, 1024x256). Le déclenchement est amené à un générateur d'impulsion DG535 (Stanford Research Systems) qui fournit un signal électrique défini par une largeur et un retard par rapport à t_0. En augmentant le temps de retard entre le signal optique et le front montant du signal électrique on obtient la fluorescence résolue en temps. Pour une longueur d'onde donnée, le pas de retard est défini en fonction de la réponse de l'échantillon analysé (Figure III-9).

Cette énergie est ensuite transformée en une accumulation de spectres d'émission pris à différents temps. On a utilisé les logiciels Labview (National Instruments) et Matlab (R2015b) pour contrôler l'ensemble du système et générer les résultats.

Avant d'effectuer les mesures, les échantillons sont mis sous flux d'azote par bullage pendant 10 minutes afin d'éliminer les traces d'oxygène et éviter la photodégradation des fluorophores. Toutes les mesures ont été faites à température ambiante (25°C). Dans ce travail, la spectrofluorimétrie résolue en temps a été utilisée dans le but de séparer physiquement les fluorophores des trois fractions de sol (SH, AF et AH) et du BaP (chevauchement des pics) à l'aide de leur temps de vie de fluorescence.

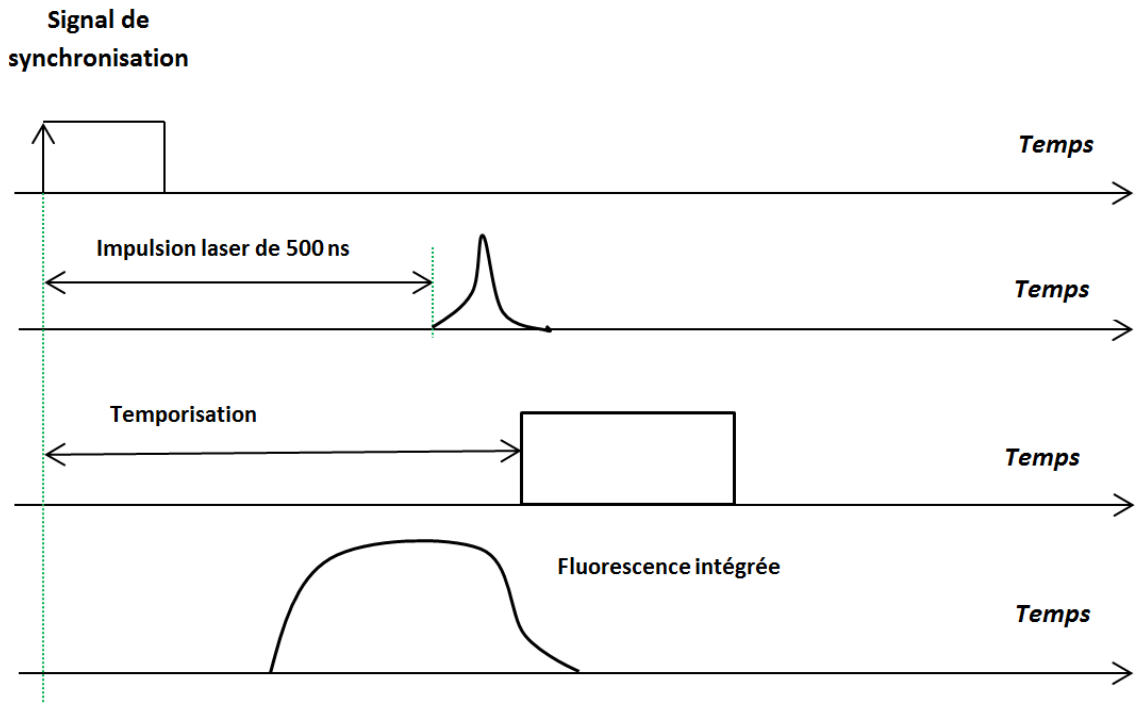


Figure III-9 Exemple d'une séquence temporelle d'acquisition de mesure de durée de vie.

III.8. La chromatographie liquide haute pression/performance (HPLC)

Les méthodes conventionnelles de détection et de quantification des HAP dans l'environnement (eaux, air et sol) sont les chromatographies en phase gazeuse (GC) ou liquide (HPLC) (INERIS, 2006). Elles comportent une première étape de séparation des composés par un système de colonne suivie d'un dosage avec un détecteur à ionisation de flamme ou un

spectromètre de masse pour l'analyse CG ou à l'aide de détecteur UV ou de fluorescence pour l'HPLC. Différents types de colonne peuvent être utilisés en fonction de la matrice analysée (Kayali-Sayadi et al., 2000 ; Ballesteros-Gómez et al., 2008 ; Hashi et al., 2008). Pour ce travail, la méthode HPLC a donc été utilisée pour quantifier le BaP dans tous les échantillons des trois fractions de sols.

Comme les composés présents dans la solution n'ont pas tous la même affinité avec la phase stationnaire de la colonne, le produit possédant le moins d'affinité avec la colonne sortira en premier alors que celui qui en a le plus sortira le dernier. La figure III-10 représente un schéma simplifié du principe de chromatographie liquide.

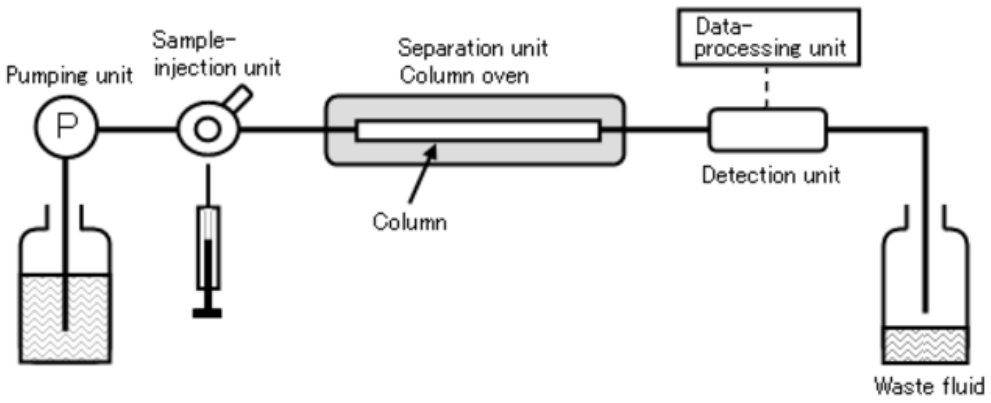


Figure III-10 Principe de la chromatographie liquide haute performance (source : http://www.hitachi-hightech.com).

Les analyses chromatographiques ont été réalisées avec un appareillage Hitachi constitué d'une pompe L-7110 et d'une colonne LiChrospher® 100 RP18 (Merck) associé à un détecteur en fluorescence Hitachi L-2485. Les analyses ont été faites en mode isocratique avec une phase mobile constituée d'un mélange 90/10 d'acétonitrile / eau (v/v) acidifié à 1‰ avec l'acide acétique concentré.

Les longueurs d'onde d'excitation et d'émission ont été fixées à 260 /420 nm (Ishizaki et al., 2010). Le temps d'analyse par échantillon était fixé à 35 minutes et le volume injecté de 200µl.

Les résultats des analyses HPLC serviront à tester la validation des résultats obtenus par analyse MEEFs-PARAFAC dans les échantillons des trois fractions de sols (voir chapitre VI).

III.9. Échantillons naturels de sol brûlé

En juin 2016, sur les hauteurs de la commune de Planèzes dans le département des Pyrénées Orientales au sud de la France (42° 46′ 02″ nord, 2° 37′ 11″ est, altitude 160 m), un incendie s'est produit dans une zone qui s'est étendue jusqu'à 60 hectares (entre 250 et 380 m d'altitude) (Figure III-11). Trois échantillons de sols ont été prélevés à différentes distances du centre du feu : au départ du feu, à quelques mètres du centre du feu, et à l'exterieur du périmètre du feu.

Les incendies étant des sources naturelles de BaP, la méthode d'analyse expérimentale mise au point pour détecter le BaP ajouté artificiellement dans les trois fractions de sol (chapitre IV et V) a été appliquée sur ces sols incendiés.

Après la préparation des trois fractions SH, AF et AH, les analyses des MEEFs ont été réalisées puis ces MEEFs ont été décomposées par PARAFAC afin de détecter la présence (naturelle) du BaP.

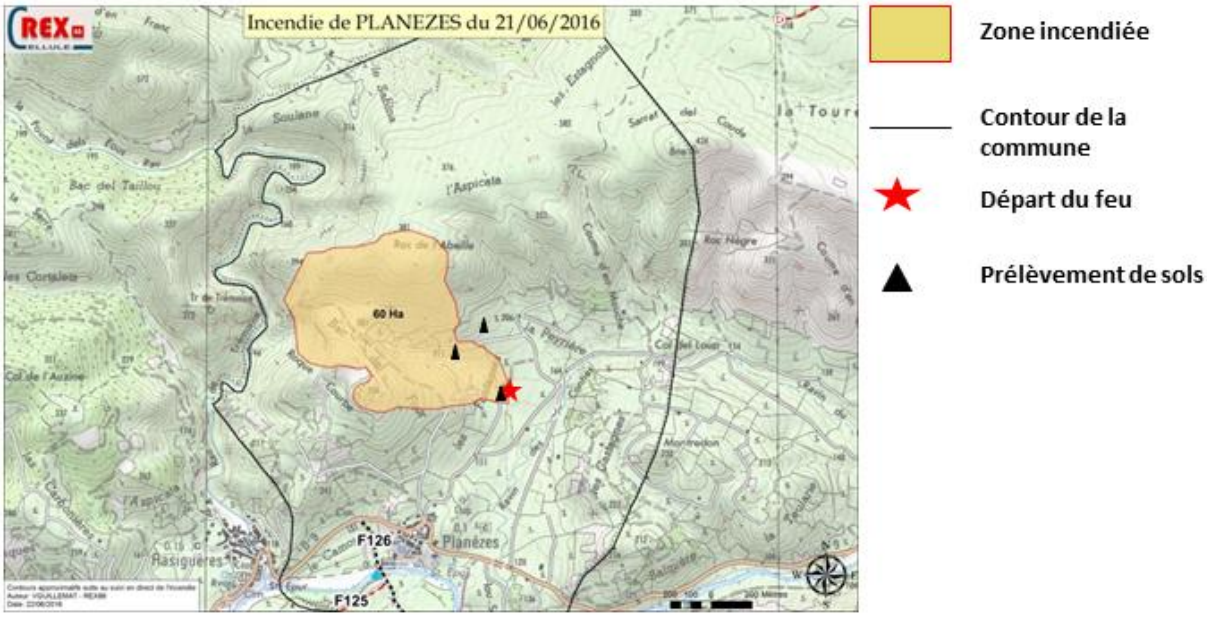


Figure III-11 Carte présentant la zone du feu à Planèzes (Département des Pyrénées Orientales) (source SDIS 66) avec les prélèvements de sols.

Chapitre IV. Propriétés spectrales des fluorophores des fractions SH, AF et AH lors de l'addition de BaP pur en solution

Actuellement il existe peu d'information disponibles dans la littérature concernant l'influence du BaP sur les propriétés spectrales des fluorophores présents dans chaque fraction de sol SH, AF et AH. Dans ce chapitre, tout d'abord les caractéristiques spectrales des fluorophores présents dans chaque fraction physique SH, AF et AH originaires du même sol naturel seront déterminées. Ensuite l'effet de l'ajout d'une solution pure de BaP sur ces propriétés spectrales des fluorophores (formes des spectres et intensités) présents dans SH, AF et AH sera étudié. Enfin nous tenterons de clarifier le type d'interactions qui peuvent se produire entre le BaP et les fluorophores présents dans chaque fraction de sol.

IV.1. Préparation des échantillons de référence

Les fractions de sol qui serviront de référence, ont été préparées à partir de cinq solutions de SH, AF et AH du sol présenté dans la partie III.1.1. avec différentes concentrations estimées par leurs teneurs en carbone organique dissous (COD). Les concentrations des échantillons de SH étaient de 2,71 ; 4,71 ; 7,72 ; 15,75 et 18,22 mg de $COD.L^{-1}$ celles de AF étaient de 2,693 ; 3,209 ; 3,908 ; 7,779 et 17,48 mg de $COD.L^{-1}$ et celles des échantillons d'AH étaient de 4,751 ; 6,788 ; 9,212 ; 13,5 et 17,2 mg de $COD.L^{-1}$.

IV.2. Préparation des expériences avec le BaP

Lors de ces expériences avec le BaP une concentration intermédiaire pour chaque fraction de sol (SH, AF, AH) a été choisie de l'ordre de 7 mg $COD.L^{-1}$ afin que les trois échantillons aient des teneurs en COD proches. Dans 3 ml de chaque fraction de sol, il a été ajouté différents volumes d'une solution de BaP pur à 10^{-5} M dans l'eau purifiée : 100µl ou 200µl ou 300µl (Figure IV-1). Les trois séries de fractions ainsi mélangées avec du BaP ont été désignées par SH_{BaP}, AF_{BaP} et AH_{BaP}.

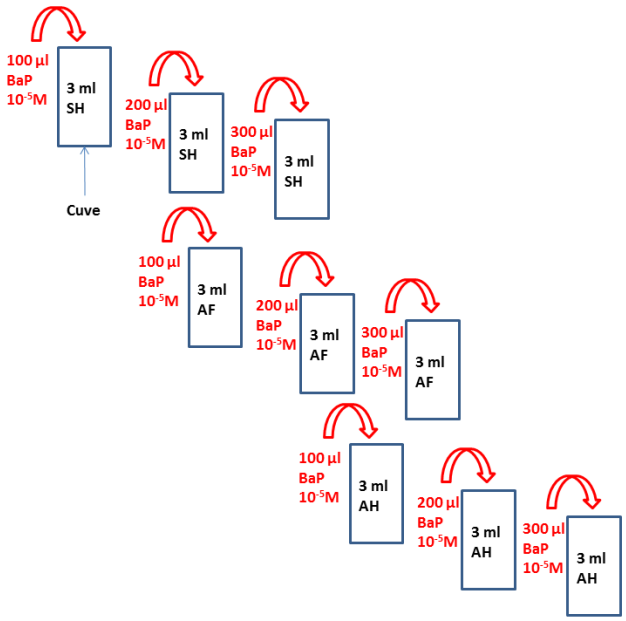


Figure IV-1 : Représentation schématique des trois séries de mélanges de chaque fraction de sol (SH, AF ou AH) avec la solution de BaP pur à 10^{-5} M dans l'eau purifiée.

IV.3. Analyses des MEEFs-3D et traitement PARAFAC

Les MEEFs des échantillons de référence SH, AF et AH ont été modélisées par trois analyses PARAFAC séparées. Les MEEFs des trois séries de mélange avec le BaP, SH_{BaP}, AF_{BaP} et AH_{BaP} ont aussi été modélisées par trois analyses PARAFAC séparées en ayant introduit des MEEFs des solutions de BaP pur dans l'eau purifiée à des concentrations égales à 10^{-9}, 2.10^{-9} et 5.10^{-9} M. Cette gamme d'étalonnage du BaP pur permettra la quantification du BaP dans les échantillons des trois séries de mélange SH_{BaP}, AF_{BaP} et AH_{BaP}.

.

IV.3.1. Détermination et caractérisation des fluorophores présents dans les fractions de référence SH, AF et AH

L'analyse des MEEFs des trois fractions de référence par PARAFAC a créé plusieurs modèles allant de 2 jusqu'à 5 composants. La validation du nombre de composants résultant des modèles de PARAFAC a été déterminée par CorConDia et par l'analyse visuelle des spectres des fluorophores identifiés. En effet, le modèle à trois composants a été validé seulement pour SH avec un CorConDia de 70%, tandis que pour les fractions AF et AH les

CorConDia étaient respectivement de 4,8 et 37%. Les modèles à 4 et 5 composants ont été éliminés car leurs valeurs de CorConDia étaient basses et les spectres des fluorophores n'étaient pas conformes à ceux des MOS (Hammou, 2012).

Seuls les modèles à deux composants ont été validés. Les résultats du modèle à deux composants ont montré la contribution de deux fluorophores dans chaque fraction du sol avec des scores de CorConDia de 96 % (SH), 94 % (AF) et 99 % (AH). La figure IV-2 présente les spectres d'excitation et d'émission de fluorescence ainsi que les MEEFS des deux fluorophores présents dans les fractions physiques de référence SH, AF et AH respectivement. Les composants identifiés ont des caractéristiques spectrales similaires aux pics précédemment identifiés dans la littérature (Tableau IV-1). Les composants C_1SH et C_1AF ont des propriétés spectrales similaires au composant 1 trouvé par Stedmon et al. (2003) et Nagao et al. (2003) dans l'environnement aquatique et par Singh et al. (2010) dans un estuaire. Les composants C_2SH et C_2AF sont similaires au composant 4 de l'étude faite par Singh et al. (2010), ainsi qu'au composant 2 de Stedmon et Markager (2005) et Stedmon et al. (2007) portant sur des échantillons provenant des estuaires et de l'eau de mer respectivement. Quant au composant C_1AH, il est similaire au peak-C (humic like) défini par Coble (1996) dans l'eau de mer et au AH dans les récifs coralliens (Matthews, 1996). Le composant C_2AH ressemble à celui nommé acides fluviques par Stedmon et al. (2003) dans des échantillons marins, au composant 2 dans des échantillons de sol et d'humine (Tadini et al., 2015) et au AH terrestre et dérivés de la lignine par Matthews et al., (1996), et AH de Aldrich par Nagao et al. (1997).

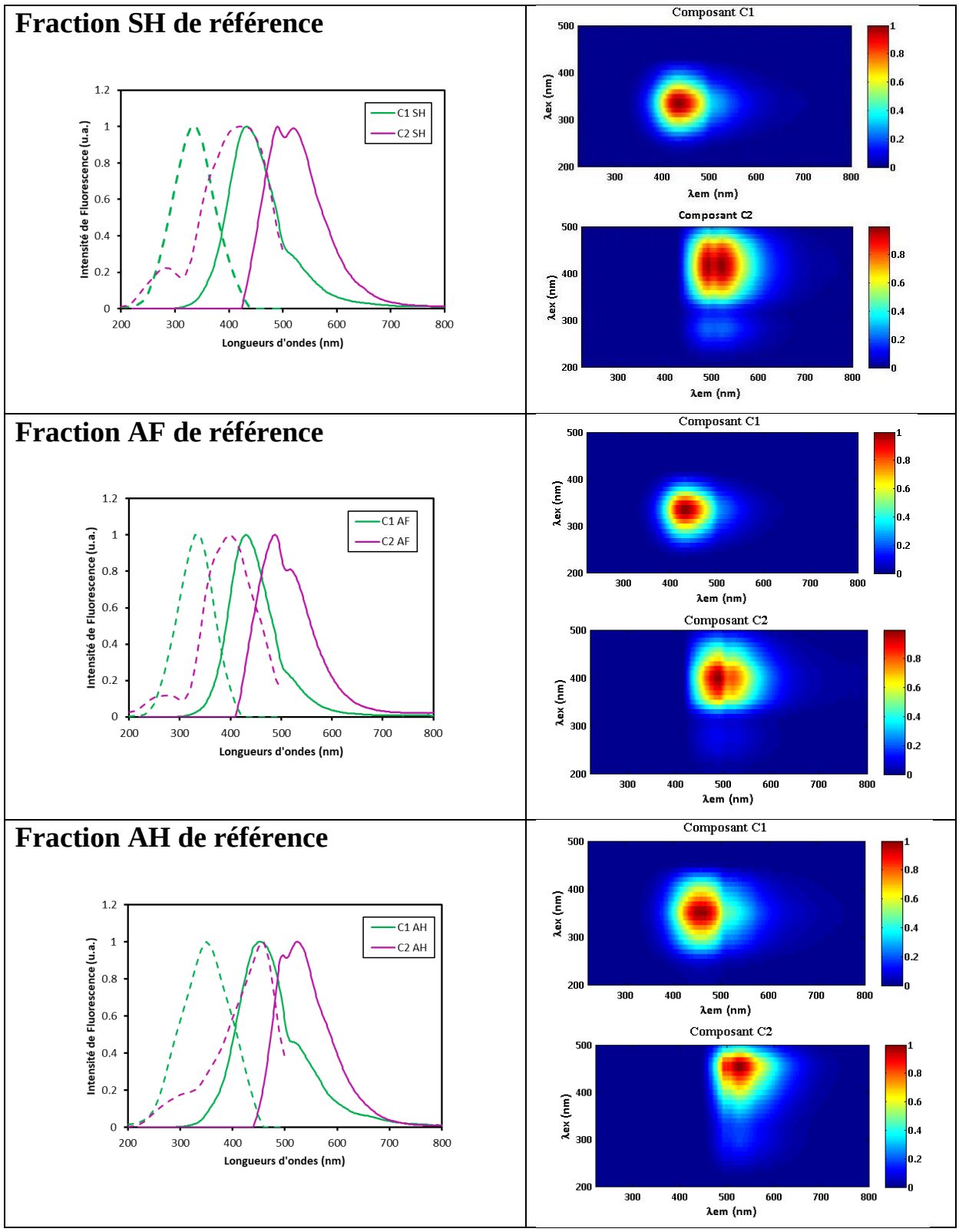


Figure IV-2 MEEFs et spectres d'excitation (tirets) et d'émission (ligne continue) de fluorescence des 2 fluorophores issus du traitement PARAFAC des fractions de référence SH, AF et AH.

Tableau IV-1 Longueurs d'ondes des maxima d'excitation et d'émission des fluorophores résultants de PARAFAC présents dans les fractions SH, AF et AH de référence. Comparaison avec les résultats de la bibliographie.

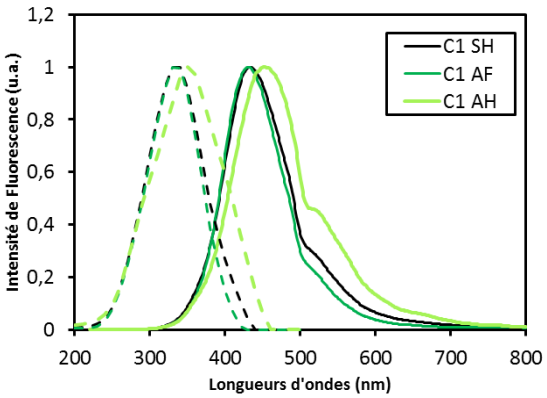
Fluorophores	Ex / Em (nm)	Références en littérature
C_1SH	330/433 (520)	Composant 1 (Singh et al., 2010)
C_1AF	330/430 (520)	Composant 1 (Stedmon et al., 2003)
		Composant 1 (Cory et McKnight, 2005)
		Composant 4 (Stedmon et Markager, 2005)
		Composant 1 (Holbrook et al., 2006)
		Composant 3 (Ohno et Bro, 2006)
		AF (Nagao et al., 2003)
C_2SH	420 /490-520	Composant 4 (Singh et al., 2010)
C_2AF	400/487(517)	Composant 2 (Stedmon et Markager, 2005)
		Composant 2 (Stedmon et al., 2007)
C_1AH	350/452(520)	C-peak humique-like (Coble, 1996)
		Composant 3 (Stedmon et al., 2003)
		Composant 1 (Stedmon et Markager, 2005)
		Composant 1 (Ohno et Bro, 2006)
		AH (Matthews et al., 1996)
C_2AH	460/(496)520	Composant 4 (Nagao et al., 2003)
		Composant 2 (Tadini et al., 2015)
		E soil fulvic acid (Stedmon et al., 2003)
		AH terrestre (Matthews et al., 1996)
		AH Aldrich (Nagao et al., 1997)

IV.3.1.1. Comparaison de propriétés spectrales des fluorophores présents dans les fractions de référence SH, AF et AH

Les spectres d'excitation et d'émission de fluorescence des composants C_1 et C_2 des trois fractions de référence sont superposés pour pouvoir comparer leurs formes (Figure IV-3). Les observations visuelles et les coefficients de similarité (r_c) sont utilisés pour comparer les caractéristiques spectrales des composants C_1 et C_2 entre les trois fractions de référence. Les composants C_1SH et C_1AF ont des spectres d'excitation et d'émission de fluorescence de formes similaires avec un coefficient de similarité r_c = 0,966 pour l'excitation et l'émission. Les spectres d'excitation de C_2SH et C_2AF ont un coefficient de similarité r_c = 0,968 illustré par le pic du spectre d'excitation de C_2SH à la longueur d'onde 420 nm qui est plus large que celui de C_2AF (400 nm). Les spectres d'émission de C_2SH et C_2AF ont un coefficient de similarité élevé de 0,974 avec un pic en commun à 490 et 487 nm respectivement et un second pic à 520 nm pour C_2SH qui se transforme en épaulement à 517 nm pour C_2AF (Figure IV-3B).

Les spectres d'excitation et d'émission de C_1AH ont des formes similaires comparées à celles de C_1SH et C_1AF avec un décalage de 20 nm environ vers le rouge (Figure IV-3A) et se trouvent aux longueurs d'ondes $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ = 350/452 (520) nm. L'épaulement en émission à 520 nm est beaucoup plus apparent que ceux présents dans C_1SH et C_1AF (517nm).

A



B

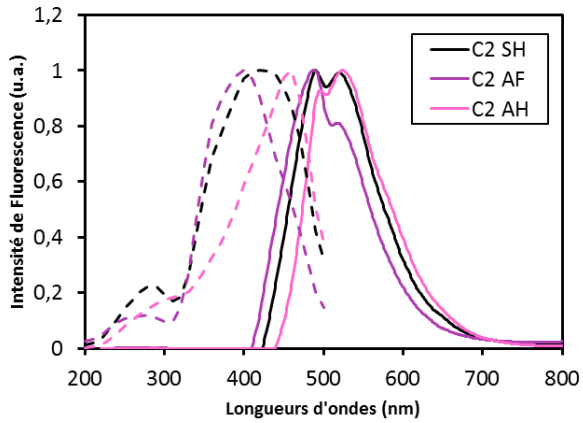


Figure IV-3 Superposition des spectres d'excitation (tirets) et d'émission (ligne continue) de fluorescence des composants C_1 et C_2 issus des modèles PARAFAC à deux composants des échantillons de référence.

Comme on peut le voir dans la Figure IV-3B, le spectre d'excitation du composant C_2AH est moins similaire à ceux de C_2SH (r_c = 0,956) et C_2AF (r_c = 0,927). Quant au spectre d'émission de C_2AH, il a des coefficients de similarité de 0,966 et 0,942 avec ceux de C_2SH et C_2AF respectivement. L'épaulement de C_2AH (496 nm) correspond à des pics communs à C_2SH (490 nm) et C_2AF (497 nm). Le pic aux alentours de 520 nm est commun à C_2SH et C_2AH tandis qu'un épaulement a été observé pour C_2AF une longueur d'onde similaire (517 nm). De même, les spectres d'excitation et d'émission de C_2SH semblent être une combinaison de ceux de C_2AF et C_2AH.

IV.3.2. Caractérisations spectrales des fluorophores après ajout du BaP dans les fractions SH_{BaP}, AF_{BaP} et AH_{BaP}

Les meilleurs modèles obtenus par PARAFAC pour l'analyse des MEEFs des trois fractions de sol contenant du BaP (SH_{BaP} et AF_{BaP} et AH_{BaP}) ont révélé la présence de trois composants. Les valeurs de CorConDia atteignaient 94%, 91% et 41% pour les décompositions PARAFAC des fractions SH_{BaP} AF_{BaP} et AH_{BaP} respectivement. Malgré le résultat plus faible de CorConDia obtenu pour la fraction AH_{BaP}, le modèle PARAFAC a été validé par les analyses visuelles des caractéristiques spectrales des trois composants qui sont similaires à celles validées pour SH_{BaP} et AF_{BaP} (Figure IV-4). Les résultats des modèles à 4 et 5 composants ayant des valeurs de CorConDia trop faibles (< 40%) avec des caractéristiques spectrales des fluorophores non conformes à celles des MOS ont été éliminés.

Les caractéristiques spectrales des trois fluorophores trouvés dans la décomposition de SH_{BaP} et AF_{BaP} sont très similaires, leurs coefficients de similarité r_c sont supérieurs à 0,950. Les composants C_1SH_{BaP} et C_1AF_{BaP} ont leurs maxima d'excitation et d'émission (λ_{ex} / λ_{em}) aux longueurs d'ondes 340/430 nm (r_c = 0,996 pour les spectres excitation et r_c = 0,998 pour les spectres d'émission) et C_2SH_{BaP} et C_2AF_{BaP} ont respectivement leurs maxima et (épaulement) aux longueurs d'ondes 400 / (494) 525 nm et 400 / (495) 526 nm (r_c = 0,997 pour les spectres excitation et r_c = 1 pour les spectres d'émission). C_3SH_{BaP} et C_3AF_{BaP} ont leurs maxima λ_{ex} / λ_{em} à 290-380 / 408-427 nm (r_c = 0,999 pour les spectres excitation et d'émission). Par contre, il y a moins de similarité avec les propriétés spectrales des composants trouvés dans AH_{BaP}. La forme spectrale du composant C_1AH_{BaP} (λ_{ex} / λ_{em} : (360) 400 / 492-526 nm) diffère de celles de C_1SH_{BaP} et C_1AF_{BaP} avec un décalage vers le rouge d'environ 60 nm (Figure IV-4). Le spectre d'excitation de C_2AH_{BaP} (maximum à λ_{ex} : 470 nm) diffère de celui de C_2SH_{BaP} et C_2AF_{BaP} en termes de forme et de position et se trouve décalé d'environ 70 nm vers le rouge (Figure IV-4 B). Le spectre d'émission de C_2AH_{BaP} (λ_{em} à (495) 525 nm) a été trouvé similaire à ceux de C_2SH_{BaP} et C_2AF_{BaP} avec des pics aux mêmes longueurs d'onde mais avec une forme plus étroite. Le coefficient de similarité est de 0,928 avec C_2SH_{BaP} et de 0,926 avec C_2AF_{BaP}.

La forme des spectres d'excitation et d'émission de C_3AH_{BaP} (λ_{ex} / λ_{em} à 300-370 / 409-427 nm) est légèrement modifiée comparée à celles de C_3SH_{BaP} et C_3AF_{BaP} (Figure IV-4 C).

Les coefficients de similarité r_c des spectres d'excitation de C_3AH_{BaP} avec C_3SH_{BaP} et C_3AF_{BaP} sont de 0,958 et 0,950 respectivement et ceux des spectres d'émission de C_3HA_{BaP} avec C_3SH_{BaP} et C_3AF_{BaP} sont de 0,976 et 0,981 respectivement.

En comparant les propriétés spectrales du BaP pur (10^{-5} M) dans l'eau, avec celles du troisième fluorophore C_3SH_{BaP}, C_3AF_{BaP} et C_3AH_{BaP}, ce dernier est identifié comme étant le BaP. Les coefficients de similarité r_c des spectres d'excitation des composants C_3SH_{BaP} et C_3AF_{BaP} avec celui du BaP pur est de 0,995 et 0,991 respectivement, et ceux des spectres d'émission sont de 0,984 et 0,985 respectivement. Les coefficients de similarité des spectres d'excitation et d'émission du composant C_3AH_{BaP} avec ceux du BaP pur sont de 0,972 et 0,988 respectivement. Malgré ces valeurs de r_c élevées on peut observer que C_3AH_{BaP} présente des déformations spectrales en comparaison aux spectres d'excitation et d'émission de fluorescence du BaP pur. Cela semble révéler une modification des caractéristiques spectrales du BaP dans la fraction AH_{BaP}.

Ainsi, la présence du BaP affecte les caractéristiques spectrales des fractions physiques du sol en conservant les propriétés de fluorescence du BaP pur dans les fractions SH et AF mais pas dans la fraction AH où la fluorescence du BaP est modifiée par rapport à celle de la forme du BaP pur (Figure IV-4C).

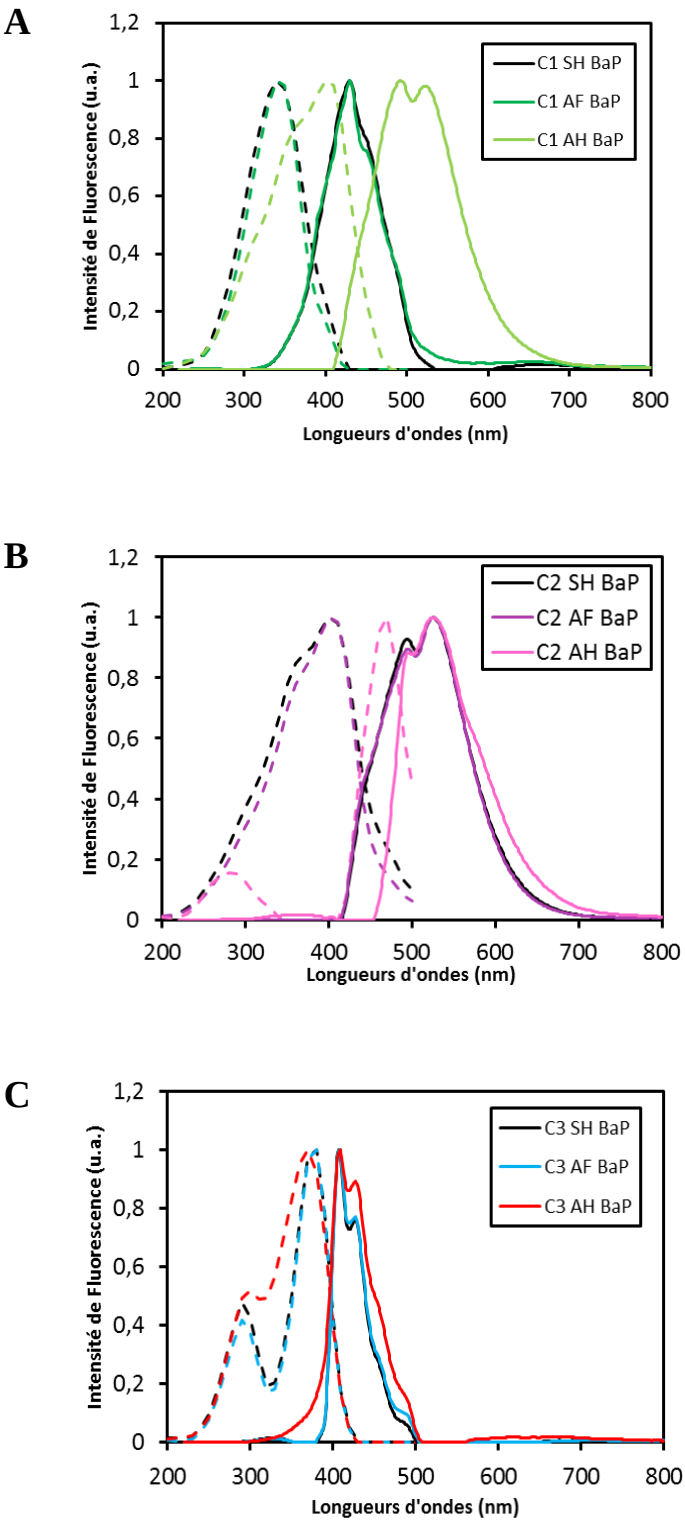


Figure IV-4 Superpositions des spectres d'excitation (tirets) et d'émission (ligne continue) des composants résultants de PARAFAC présents dans les fractions SH, AF et AH après ajouts de BaP.

IV.3.3. Comparaison des fluorophores des fractions de référence avec ceux des fractions avec BaP

La comparaison des spectres d'excitation et d'émission des fluorophores des fractions de référence (SH, AF et AH) avec ceux des fractions SH_{BaP}, AF_{BAP} et AH_{BaP} montre que le BaP modifie différemment les propriétés spectrales de chaque fraction (Figure IV-5).

Pour C_1, les modifications spectrales dues à l'ajout de BaP pur sont identiques dans les fractions SH et AF dont les propriétés spectrales sont très similaires (Figure IV-4). On constate également que les spectres d'excitation des composants C_1SH_{BaP} et C_1AF_{BaP} sont décalés de 10 nm vers le rouge par rapport à ceux de référence. Malgré le décalage en excitation et la forme spectrale légèrement modifiée en émission, les coefficients de similarité restent élevés en comparant C_1SH_{BaP} à C_1SH avec r_c = 0,995 pour les spectres d'excitation et 0,968 pour les spectres d'émission d'une part, et en comparant C_1AF_{BaP} à C_1AF avec r_c = 0,990 pour les spectres d'excitation et d'émission d'autre part.

En comparant C_1AH à C_1AH_{BaP}, on note que les spectres d'excitation et d'émission de C_1AH_{BaP} sont décalés de 50 et 40 nm vers le rouge respectivement par rapport à ceux de C_1AH de référence. Le coefficient de similarité r_c des spectres d'excitation est de 0,910 et celui des spectres d'émission de 0,789, cette faible valeur de r_c peut être due à l'apparition du double pic (λ_{em} : 492-523 nm) pour C_1AH_{BaP} et au décalage en longueur d'onde.

Les spectres d'excitation et d'émission des composants C_2SH_{BaP} et C_2AF_{BaP} sont comparés à ceux de C_2SH et C_2AF respectivement. On constate que le spectre d'émission de C_2SH_{BaP} est très similaire à celui de référence avec r_c = 0,994. Malgré une similarité relativement élevée (r_c = 0,980) entre les émissions de C_2AF_{BaP} et C_2AF, on note une modification de forme. L'intensité du pic situé aux alentours de 490 nm a diminué, tandis que l'intensité du pic aux alentours de 520 nm a augmenté dans C_2AF_{BaP}. Cette modification est visible de manière plus atténuée dans C_2SH_{BaP}.

Les spectres d'excitation de C_2SH_{BaP} et C_2SH sont moins similaires (r_c = 0,903) avec un décalage de 20 nm vers le bleu de C_2SH_{BaP} par rapport à celui de C_2SH et une forme modifiée, tandis que les spectres d'excitation de C_2AF_{BaP} et C_2AF sont assez similaires avec une valeur de r_c de 0,956.

Dans la fraction AH_{BaP}, la forme du spectre d'excitation de C_2AH_{BaP} est modifiée avec un décalage de 10 nm vers le rouge par rapport au spectre d'excitation de C_2AH de référence. Le coefficient de similarité de ces deux spectres d'excitation est faible (r_c = 0,814). Cependant l'addition du BaP a peu d'effet sur le spectre d'émission de C_2AH_{BaP}. Le coefficient de similarité des spectres d'émission de C_2AH_{BaP} et de C_2AH est de 0,98.

Ces comparaisons démontrent que la présence du BaP semble influencer fortement les caractéristiques de fluorescence de C_1 dans la fraction AH tandis que les caractéristiques de fluorescence de C_2 semblent être plus affectées par le BaP dans les fractions SH et AF.

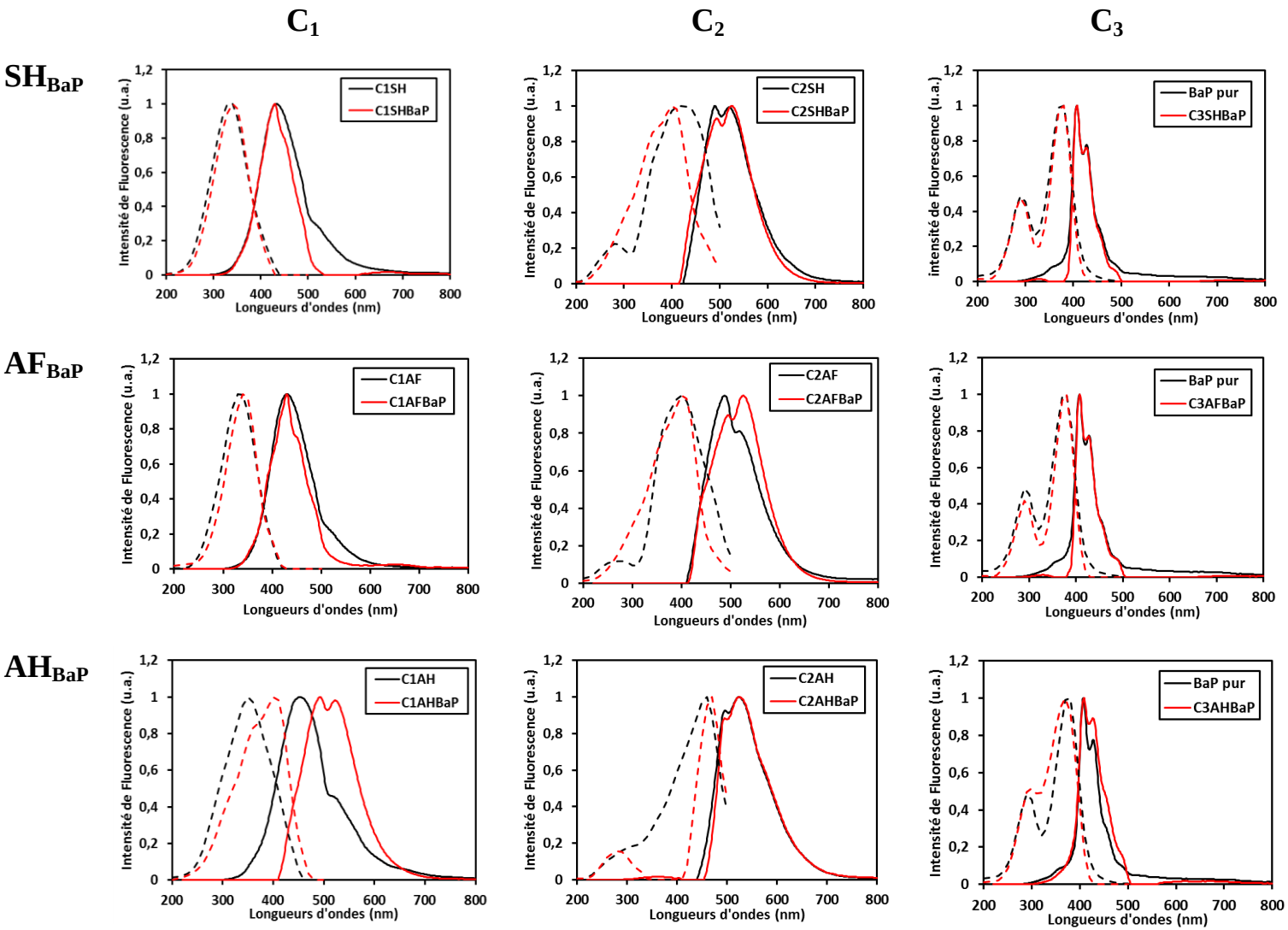


Figure IV-5 Comparaison des spectres d'excitation (tiret) et d'émission (ligne continue) de fluorescence des fluorophores C_1 et C_2 des fractions de référence et des fractions contenant BaP. Les spectres du composant C_3 des fractions SH_{BaP}, AF_{BaP} et AH_{BaP} sont comparés à ceux des solutions de BaP pur dans l'eau purifiée.

IV.4. Impact du BaP sur les concentrations des fluorophores présents dans les fractions du sol

L'influence du BaP sur les fluorophores présents dans les fractions du sol a été étudiée après l'addition de 100 ou 200 ou 300 µl d'une solution pure de BaP dans l'eau à une concentration de 10^{-5} M dans 3 ml de chaque fraction. Les scores des concentrations relatives des différents fluorophores présents dans les trois fractions testées sont présentés dans la figure IV-6.

D'une part l'ajout du BaP aux fractions SH et AF testées a entraîné une augmentation de l'intensité de fluorescence de C_2SH_{BaP} (pente = 1713,4) et C_2AF_{BaP} (pente = 1597,1). Leurs pentes sont plus fortes que celles des C_1SH_{BaP} (340,07) et C_1AF_{BaP} (133,82). D'autre part les scores de C_2AH_{BaP} n'ont pas augmenté avec l'addition de BaP (pente = 74,372) mais C_1AH_{BaP} a enregistré une pente élevée (1188,2). Ces résultats confirment l'influence de l'addition du BaP sur l'augmentation des intensités de fluorescence de C_2 dans les fractions SH_{BaP} et AF_{BaP} et de C_1 dans la fraction AH_{BaP}.

Le comportement du composant C3, identifié comme étant le BaP, est lié logiquement à l'addition de BaP pur avec une forte augmentation des scores relatifs (pente = 1216,2) dans la fraction SH_{BaP}. Le comportement de C_3SH_{BaP} est similaire à la variation de C_2SH_{BaP} (pente = 1713,4). Dans AF_{BaP}, l'augmentation des scores relatifs de C3 est plus faible (pente = 617,5) que ceux de C3 dans SH_{BaP}. Le comportement de C_3AF_{BaP} montre une variation modérée par rapport à la forte évolution de C_2AF_{BaP} (pente = 1597,1). La plus faible augmentation des scores relatifs de C3 est observée dans la fraction AH_{BaP} (pente = 332,27) qui diffère de la forte variation de C_1AH_{BaP} (pente = 1188,2).

Cette atténuation des intensités de fluorescence de C_3 dans la fraction AF_{BaP} et principalement dans la fraction AH_{BaP} pourrait être due aux interactions entre le BaP et ces fractions. Dans la littérature, AH a été considéré comme un quencheur qui pourrait réduire l'intensité de fluorescence de certains HAP comme le phénanthrène, le pyrène et l'anthracène, (Yang et al., 2016), le naphtalène (Morra et al., 1990) et le fluoranthène (Chen et al., 1994). Donc l'effet de quenching pourrait avoir causé l'atténuation des intensités de fluorescences de C_3AH_{BaP} dans notre étude. Peut-être que ce phénomène aurait pu également se produire de manière moins intense dans la fraction AF_{BaP} .

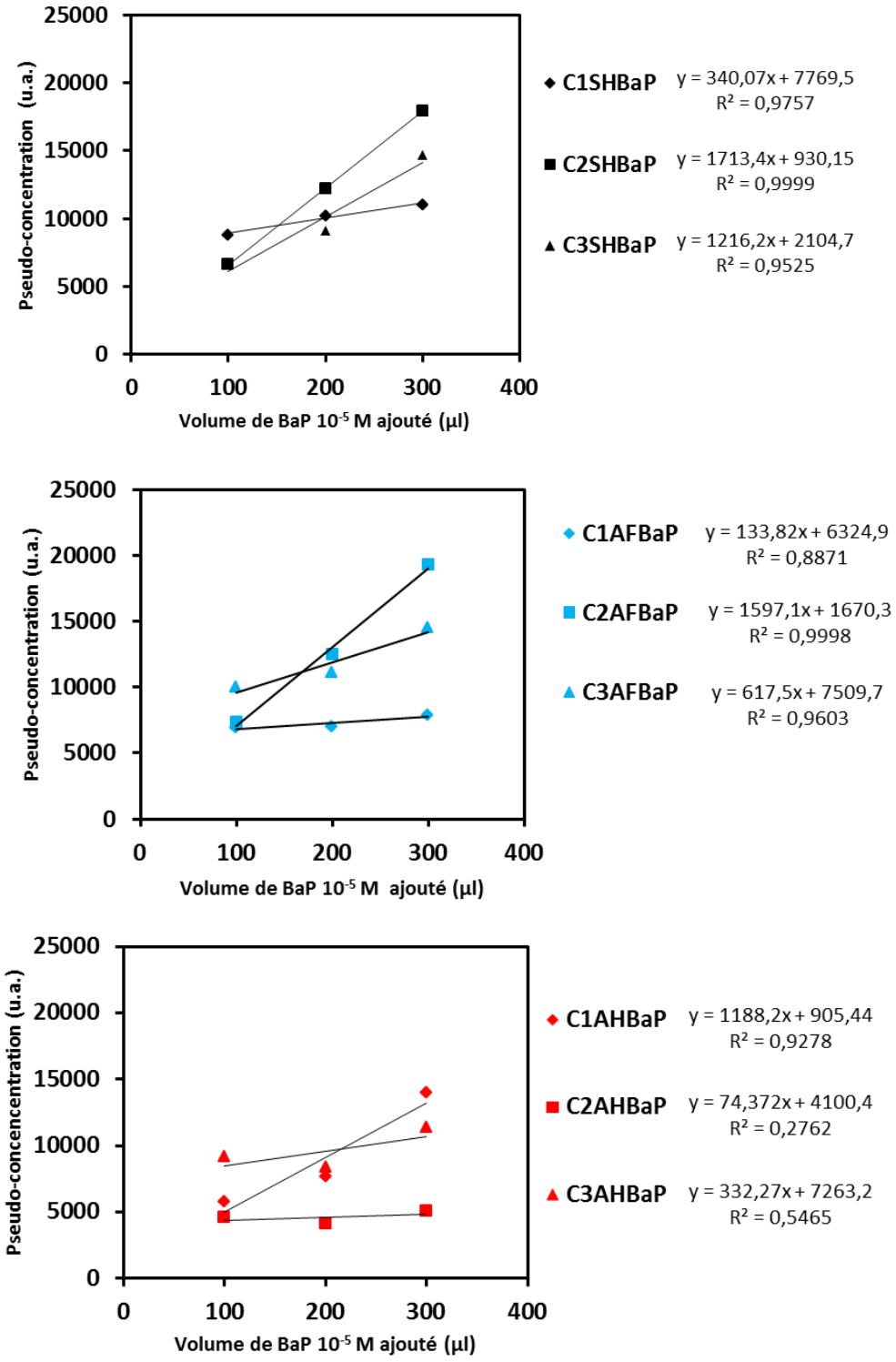


Figure IV-6 Pseudo-concentrations des composants C_1, C_2 et C_3 des fractions SH_{BaP}, AF_{BaP} et AH_{BaP} en fonction du volume (µl) de BaP pur (10^{-5} M) ajouté.

Dans la littérature, les propriétés de la fraction AH de la MOS avec les polluants organiques ont été souvent étudiées ce qui met en valeur nos résultats. Les AH ont un comportement vis-à-vis des HAP différents de celui des AF ou des SH. En utilisant différentes méthodes analytiques, des chercheurs ont trouvé que les propriétés structurales des AH, et surtout leur parties hydrophobes, permettaient des interactions avec des polluants environnementaux (Chin et al., 1997; Kumke et al., 2000; Terashima et al., 2003). La méthode de fluorescence 3D couplée à PARAFAC a déjà été utilisée pour décrire l'impact des HAP sur les AH mais pas sur les composés fluorophores individuels présents dans cette fraction comme dans les travaux de Jin et al., (2009), concernant le cas du phénanthrène et les AH. De plus, pour comprendre le type d'interactions entre la MOS et les HAP, la sorption des HAP par la MOS a aussi été étudiée : la sorption était linéaire ou non-linéaire selon l'état des AH condensés ou non condensés (LeBoeuf and Weber, 1997). Dans le cadre de la comparaison de cette sorption entre les AH et l'humine (Zhang et al., 2009), la sorption du BaP a été trouvée en relation avec le caractère aliphatique des AH et négativement corrélée au carbone aromatique. De même, la technique de quenching de fluorescence a également été proposée pour quantifier les interactions entre des AH et des HAP (phénanthrène et naphtalène) (Wang et al., 2017). Une autre façon d'étudier les interactions des AH avec les HAP est de voir s'il existe des chevauchements entre les spectres d'excitation et d'émission de fluorescence (Jin et al., 2009). Contrairement aux travaux cités, les fractions de sol dans ce travail sont issues d'une séparation physique, permettant d'étudier leur comportement de manière individuelle. Ainsi, nous avons procédé à une superposition des spectres d'excitation et d'émission du BaP pur, avec ceux des composants C_1 et C_2 des fractions de référence pour observer s'il existe d'éventuels chevauchements qui pourront influencer la fluorescence des composants.

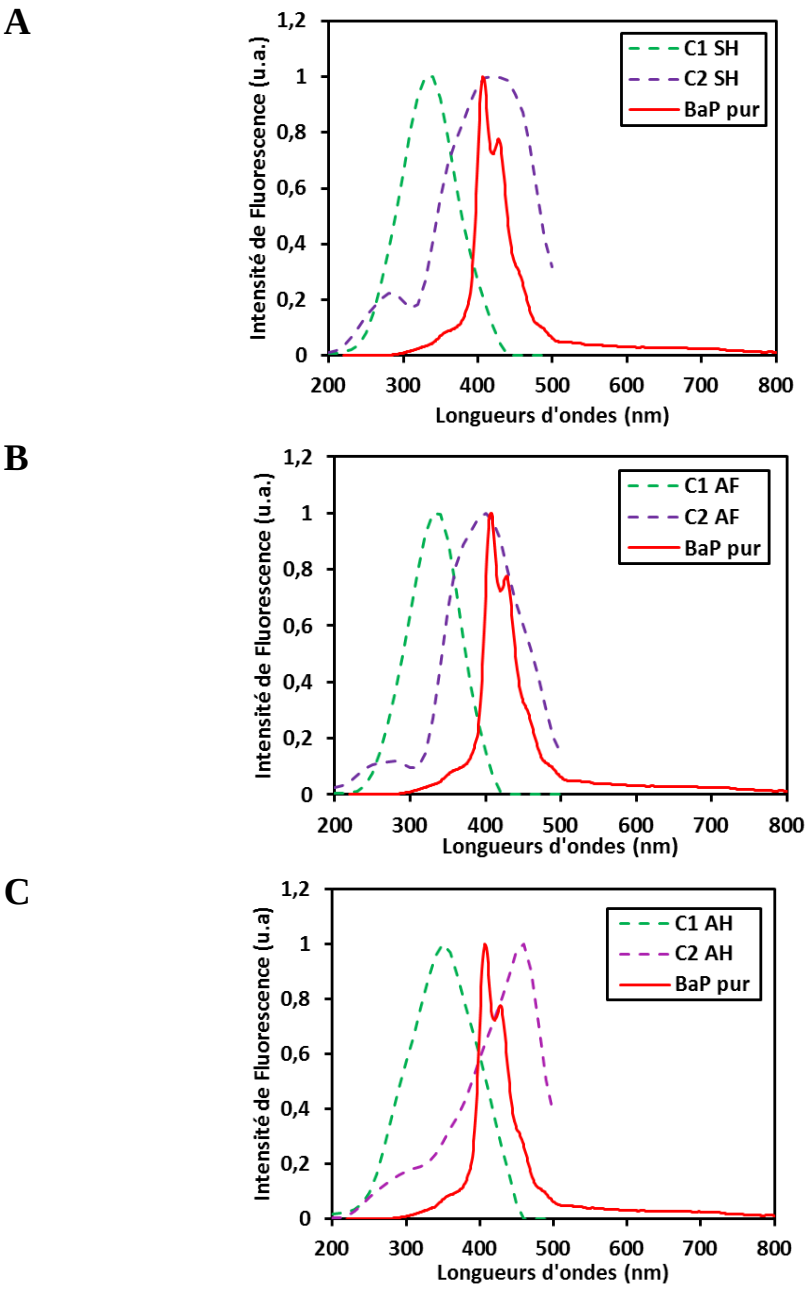


Figure IV-7. Superposition des spectres d'excitation de fluorescence (tiret) des fluorophores C1 et C2 dans les fractions de référence SH (A), AF (B) et AH (C) et le spectre d'émission de fluorescence du BaP pur (ligne continue).

Tout d'abord les superpositions des spectres d'excitation des fluorophores C_1 et C_2 présents dans chaque fraction de référence avec le spectre et d'émission de fluorescence du BaP pur sont présentées dans la figure IV-7. On observe que le spectre d'émission du BaP pur est entièrement recouvert par les spectres d'excitation de C_2SH et C_2AF. Il existe aussi un faible chevauchement entre les composants C_1SH et C_1AF et l'émission du BaP pur. Dans la fraction AH, on observe que le chevauchement du spectre d'excitation de C_1AH avec le

spectre d'émission du BaP est plus important que celui de C_1SH et de C_1AF. Par contre, le spectre d'émission du BaP n'est pas entièrement recouvert par le spectre d'excitation du C_2AH, puisque le chevauchement ne concerne pas le premier pic du spectre d'émission du BaP.

Par la suite, nous avons effectué des superpositions des spectres d'émission de fluorescence des composés C_1 et C_2 des trois fractions respectivement avec le spectre d'excitation du BaP pur (Figure IV-8). Pour les fractions SH, AF et AH, on remarque que le spectre d'excitation du BaP recouvre une partie du début des spectres d'émission du C_1SH, C_1AF et C_1AH. Par contre, le spectre d'excitation du BaP ne chevauche pas les spectres d'émission des fluorophores C_2SH, C_2AF et C_2AH.

La comparaison des recouvrements des spectres est utile pour prédire un éventuel transfert d'énergie décrit par Forster (1948) qui définit le transfert d'énergie comme un processus qui a lieu quand le spectre d'émission d'un fluorophore, appelé donneur d'énergie, chevauche avec le spectre d'excitation d'une autre molécule appelée accepteur d'énergie. Ce processus nommé « Fluorescence resonance energy transfer » (FRET) n'engendre pas une émission de lumière par le donneur et ce n'est pas non plus le résultat de l'absorption de la part de l'accepteur de l'émission émise par le donneur (Lakowicz, 2010). Par contre, ce transfert d'énergie influence visiblement les intensités de fluorescence : l'intensité du donneur d'énergie a tendance à diminuer tandis que celle de l'accepteur d'énergie va augmenter. Dans nos travaux, les composants C_1 et C_2 ne sont pas physiquement isolables car ce sont des fluorophores issus de la décomposition de PARAFAC ; c'est la raison pour laquelle on a utilisé les spectres d'excitation et d'émission pour décrire de tels recouvrements.

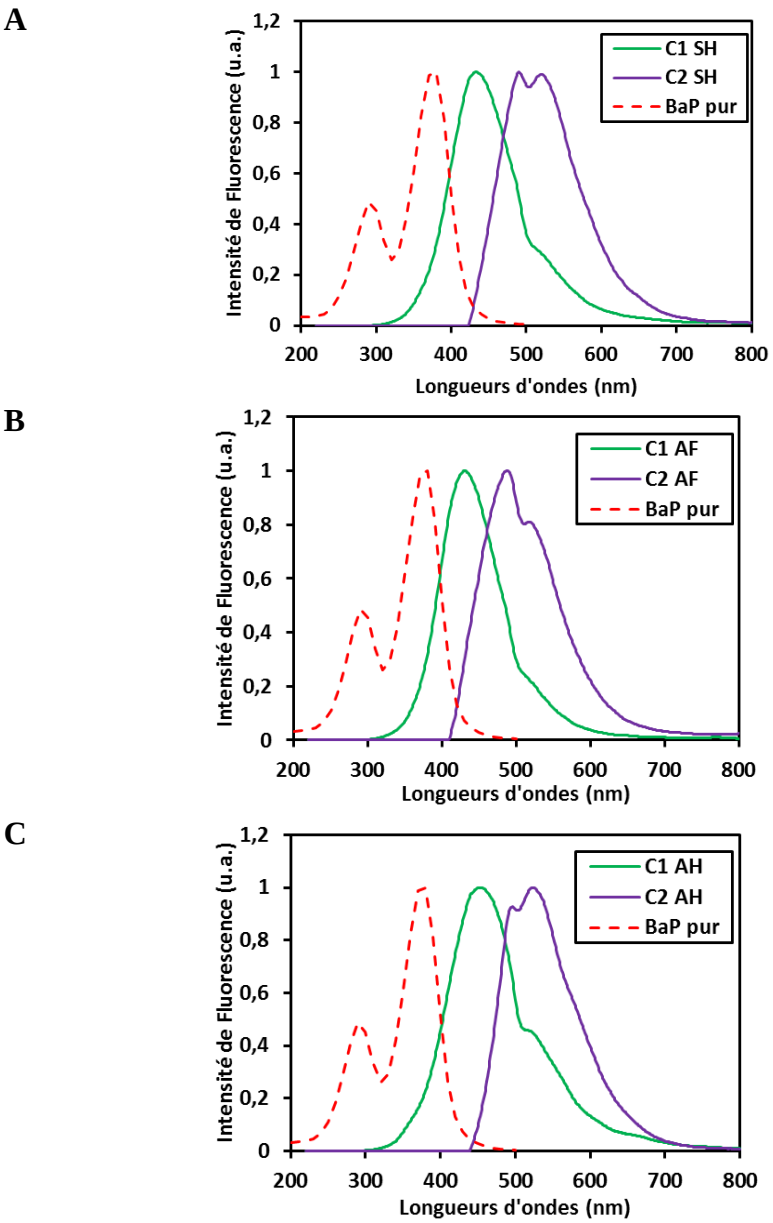


Figure IV-8 Superposition des spectres d'émission de fluorescence résultant de PARAFAC des fluorophores C1 et C2 dans les fractions de référence SH (A), AF (B) et AH (C) et le spectre d'excitation de fluorescence du BaP pur.

Le recouvrement complet des spectres d'excitation de C_2SH et C_2AF avec le spectre d'émission du BaP (Figure IV-7) peut expliquer la déformation subie par les spectres d'émission de C_2SH_{BaP} et C_2AF_{BaP} respectivement (Figure IV-5).

En effet, l'énergie due à l'émission du BaP (donneur d'énergie) peut être transférée aux excitations de C_2SH et C_2AF (accepteurs d'énergie). Ce transfert d'énergie favoriserait donc l'émission du pic situé après celui du BaP c'est-à-dire le pic 520 nm pour C_2SH_{BaP} et l'épaulement 517 nm pour C_2AF_{BaP} qui deviennent alors plus importants que les pics 490 nm

pour C_2SH_{BaP} et 487 nm pour C_2AF_{BaP}. Ces transferts d'énergie du BaP vers les composants C_2SH et C_2AF seraient donc illustrés par les plus fortes augmentations d'intensités des composants C_2SH_{BaP} et C_2AF_{BAP} comparées à celles des composants C_3SH_{BaP} et C_3AF_{BAP} (Figure IV-6). Par contre, les petits recouvrements du spectre d'émission du BaP avec les spectres d'excitation de C_1SH et C_1AF (Figure IV-7) ne semblent pas donner lieu à des transferts d'énergie puisque les intensités des composants C_1SH_{BaP} et C_1AF_{BaP} augmentent faiblement (Figure IV-6).

Le spectre d'émission du BaP pur se recouvre avec la fin du spectre d'excitation du composant C_1AH et avec le début du spectre d'excitation du composant C_2AH (Figure IV-7). Seule l'intensité C_1AH_{BaP} augmente fortement comparée à celles de C_2AH_{BaP} et C_3AH_{BaP} qui sont faibles (Figure IV-6) ; cela suggère que seul le composant C_1AH pourrait bénéficier du transfert d'énergie issu de l'émission du BaP. Ce transfert d'énergie se traduirait par la modification du spectre d'émission de C_1AH_{BaP} alors que l'émission de C_2AH_{BaP} reste inchangée (Figure IV-5).

Concernant les faibles recouvrements du spectre d'excitation du BaP avec les spectres d'émission des composants C_1SH, C_1AF et C_1AH (Figure IV-8), ils pourraient aussi donner lieu à des transferts d'énergie des composants C_1 vers le BaP pur puisque les intensités des composants C_3SH_{BaP} et C_3AF_{BAP} montrent des augmentations plus grandes que celles de C_1SH_{BAP} et C_1AF_{BaP} (Figure IV-6), mais sans modifications spectrales du BaP (Figure IV-5). Par contre, ce transfert ne semble pas avoir lieu dans la fraction AH puisque l'intensité de C_3AH_{BaP} est plus faible que celle de C_1AH_{BaP} (Figure IV-6). Cependant une modification du spectre d'émission du composant C_3AH_{BaP} est observée (Figure IV-5). Toutes ces observations révèlent bien toute la difficulté d'interprétation de ces résultats.

En conclusion, ces résultats semblent confirmer que les fractions SH et AF ont un comportement similaire en présence du BaP. Les caractéristiques spectrales de leurs composants C_1, C_2 et C_3 sont presque identiques (Figure IV-5). Les intensités de fluorescence de ces trois composants varient de façon (Figure IV-6), ce qui pourrait être interprété par une combinaison de transferts d'énergie. L'émission des composants C_1 donnerait son énergie au BaP (C_3) qui transfèrerait à son tour son énergie au composant C_2 (Figure IV-4 et IV-5).

Par contre, la fraction AH révèle son comportement propre en présence du BaP. Les propriétés spectrales de C_1AH_{BaP}, C_2AH_{BaP} et C_3AH_{BaP} se distinguent de celles de C_1, C_2 et C_3

dans SH et AF (Figure IV-4). Concernant les variations d'intensité des trois composants (Figure IV-6), la seule interprétation possible semble être un transfert d'énergie du BaP au profit du composant C_1AH_{BaP} (Figure IV-4 et IV-5).

IV.5. Expérience de durée de vie de fluorescence

Afin d'essayer de comprendre si un transfert d'énergie est possible ou un autre phénomène peut exister entre les composants C_1 et C_2 des fractions de la MOS et le BaP, des analyses préliminaires de durée de vie de fluorescence ont été réalisées au laboratoire PROTEE de l'Université de Toulon par Houssam Hajjoul, ingénieur de recherche.

Les échantillons ont été préparés de manière similaire que ceux analysés par MEEF-PARAFAC à Perpignan avec une concentration de 7 mg $COD.L^{-1}$ pour chaque fraction. Pour SH et AF : à 3 mL de chaque fraction, ont été ajoutées 100, 200 et 300 µl de BaP à 10^{-5} M dans l'eau purifiée ; pour AH, à 3 mL de fraction, ont été ajouté 50, 100 et 300 µl de BaP à 10^{-5} M dans eau purifiée.

Pour ces mesures, la longueur d'onde d'excitation a été choisie en fonction des caractéristiques spectrales des différents composants déterminés dans les trois fractions de la MOS mélangées au BaP pur (SH_{BaP}, AF_{BaP} et AHB_{aP}) par la méthode MEEF-PARAFAC (Fig IV-5). La longueur d'onde a été fixée à 355 nm qui permet d'exciter tous les composants C_1, C_2 et C_3 (BaP) dans les trois fractions de la MOS sauf C_2AH_{BaP}.

Tout d'abord, une mesure a été réalisée sur une solution de BaP à 10^{-7} M dans l'eau purifiée qui a montré un temps de vie de 25,5 ns. Cette durée de vie servira de référence. Cette valeur correspond bien à celle issue de la littérature mesurée à 26 ns (Whitcomb et al., 2002).

Ensuite les mesures de temps de vie ont été effectuées dans chaque fraction mélangée avec les différentes concentrations de BaP pur (SH_{BaP}, AF_{BaP} et AH_{BaP}). Deux temps de vie ont été détectés dans chaque fraction, notés τ_1 et τ_2. Leurs évolutions sont représentées dans la figure IV-9.

Dans la fraction AH_{BaP}, la mesure de τ_1 est très courte et stable avec une moyenne de 2,52 ns alors que celle de τ_2 augmente et se stabilise avec le volume de BaP pur ajouté. τ_2 est faible (9 ns) avec un petit volume de BaP ajouté (50 µl) pour atteindre des temps de vie de

26,1 et 27,25 ns avec 100 et 300 µl de BaP ajouté, qui se rapprochent de la durée de vie de référence du BaP pur (25,5 ns).

Le temps de vie très court τ_1 étant indépendant du volume de BaP ajouté pourrait être interprété comme représentatif d'une association entre la fraction AH et le BaP en formant un complexe AH-BaP.

La variation du temps de vie τ_2 semblerait plus en lien avec l'état libre ou complexé du BaP. Pour un petit volume de BaP ajouté (50 µl), la courte durée de vie τ_2 = 9 ns serait représentative de la forme complexée du BaP avec AH, alors que pour des volumes de 100 et 300 µl de BaP ajoutés, les durées de vie longues proches de la référence illustreraient la forme libre du BaP en solution. D'après les variations de τ_2, on peut supposer que le BaP se complexe avec AH jusqu'à un volume inférieur à 100 µl de BaP ajouté (correspondant à un temps de vie court). Au-delà de cette limite, le BaP ajouté ne pourrait plus se complexer avec AH. Il s'accumulerait donc en forme libre dans la fraction. La durée de vie longue proche de celle de référence mesurée pour 100 et 300 µl de BaP ajouté illustrerait cette accumulation de BaP libre.

Dans la fraction AF_{BaP}, on retrouve une durée de vie τ_1 très courte et stable de 2,26 ns en moyenne, proche de celle mesurée dans la fraction AH_{BaP}. De la même manière, ce temps de vie indépendant du volume de BaP ajouté pourrait illustrer une association entre la fraction AF et le BaP en formant une complexe AF-BaP. Même si nous n'avons pas les mesures pour le plus petit volume de 50 µl de BaP ajouté, la variation de τ_2 montre une augmentation de 14,3 à 17,56 ns entre 100 et 200 µl de BaP ajouté puis une stabilisation à 17,74 ns pour 300 µl de BaP ajouté. Cette variation de τ_2 est aussi en lien avec celle du BaP ajouté. La valeur intermédiaire de 14,3 ns pour 100µl de BaP ajouté serait représentative d'un mélange de la forme complexée du BaP avec AF qui aurait un temps de vie court, avec la forme libre du BaP présente qui a un temps de vie long. Cependant l'accumulation du BaP en forme libre pour 200 et 300 µl de BaP est illustrée par des temps de vie de 17,56 à 17,74 ns qui sont éloignés de la valeur de référence de 25,5 ns pour la solution pure de BaP. Cette différence pourrait peut-être confirmer le transfert d'énergie (FRET) du BaP en forme libre (donneur d'énergie) vers la fraction AF (accepteur d'énergie) mentionné auparavant (paragraphe IV-4). Ce transfert d'énergie aurait pour effet de réduire le temps de vie de référence du BaP libre (donneur d'énergie) à des valeurs de l'ordre de 17-18 ns.

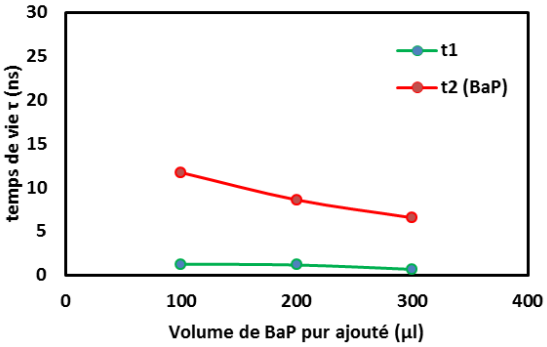
Les résultats obtenus pour la fraction SH_{BaP} montrent des évolutions différentes de celles observées pour les fractions AH_{BaP} et AF_{BaP} avec une diminution des temps de vie τ_1 et τ_2 lors des ajouts croissants de BaP. Les valeurs τ_1 et τ_2 sont plus faibles que celles mesurées dans les deux autres fractions. Ces résultats de la fraction SH_{BaP} regroupant ceux des deux fractions AF_{BaP} et AH_{BaP} doivent illustrer la combinaison de plusieurs effets (complexation, nature de la matière organique, transfert d'énergie) qui rend l'interprétation difficile.

Cette étude préliminaire des durées de vie sur les fractions SH_{BaP}, AF_{BaP} et AH_{BaP} a montré un comportement comparable dans les fractions AH_{BaP} et AF_{BaP}. La durée de vie τ_1 très courte et stable serait représentative de la formation des complexes : AH-BaP et AF-BaP. La durée de vie τ_2 (variable avec l'ajout de BaP) illustrerait la forme complexée ou libre du BaP.

Ces durées de vie confirmeraient aussi le transfert d'énergie du BaP vers la fraction AF. Si ce transfert d'énergie n'a pas été observé dans la fraction AH, il pourrait être dû au recouvrement incomplet de l'émission du BaP avec l'excitation des composants C_1AH et C_2AH (Figure IV-7). Le pic principal de l'émission du BaP n'est pas recouvert, ce qui permettrait la mesure de durée de vie du BaP libre même si le transfert d'énergie du BaP vers AH a bien lieu.

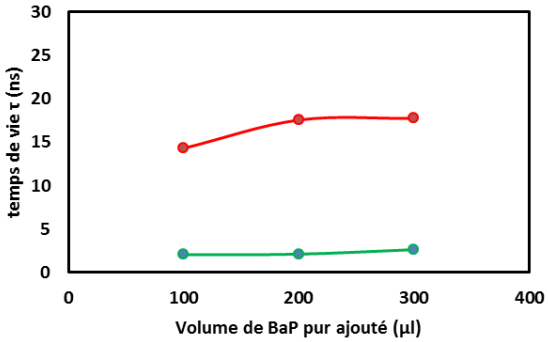
Par contre, les résultats obtenus pour la fraction SH_{BaP} restent difficiles à interpréter d'où l'intérêt d'étudier les trois fractions séparément. Les mesures de durée de vie des fractions de référence (SH, AF, AH) auraient sûrement été utiles pour améliorer cette interprétation.

SH_{BaP}



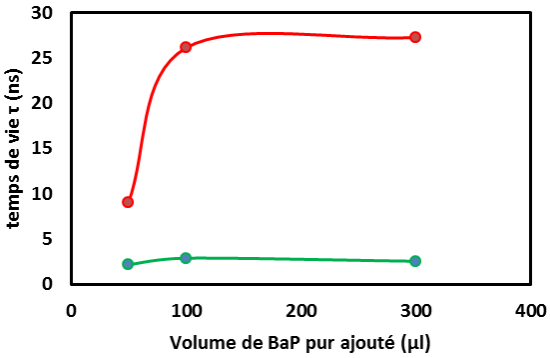
Volume BaP ajouté (µl)	τ 1(ns)	τ 2(ns)
100	1,26	11,72
200	1,17	8,6
300	0,67	6,56

AF_{BaP}



Volume BaP ajouté (µl)	τ 1(ns)	τ 2(ns)
100	2,05	14,3
200	2,11	17,56
300	2,63	17,74

AH_{BaP}



Volume BaP ajouté (µl)	τ 1(ns)	τ 2(ns)
50	2,15	9
100	2,87	26,1
300	2,53	27,25

Figure IV-9 Variations des temps de vie τ (ns) mesurés dans les fractions SH_{BaP} ; AF_{BaP} et AH_{BaP} avec l'augmentation du volume de BaP pur ajouté.

Chapitre V. Devenir du BaP dans les fractions de sol SH, AF et AH au cours du temps

Dans ce chapitre, on a tenté de se rapprocher des conditions environnementales de contact du BaP avec le sol. Dans l'environnement, après son émission dans l'atmosphère, le BaP se trouve sous forme de traces solides en contact avec des particules. Ces traces de BaP finiront par se déposer sur le sol où elles seront soumises à différents processus comme la sorption, le lessivage, la volatilisation (Wang et al., 1997). Dans cette partie nous nous intéresserons à l'aspect lessivage des sols, à savoir dans quelles conditions ce polluant hydrophobe peut-être solubilisé par la MOS et quel peut être son devenir dans le temps.

Après une introduction sur le protocole expérimental mis en place, l'étude cinétique sera présentée. Cette étude permettra de caractériser les propriétés spectrales des fractions SH, AF et AH du sol en présence du BaP d'une part en fonction de la concentration du BaP et d'autre part en fonction de la concentration en carbone organique dissous des différentes fractions du sol. Cette approche sur le comportement des fluorophores présents dans les fractions SH, AF et AH vis-à-vis du BaP sera suivie en fonction du temps de contact par la méthode MEEF-PARAFAC.

V.1. Préparation des expériences de cinétique

Les expériences de cinétique ont été réalisées dans des godets en verre contenant du BaP sous forme solide. Ces godets avec le BaP ont été préparés de la manière suivante.

a) Préparation des godets contenant le BaP

Des godets propres en verre d'une contenance de 100 mL sont placés dans un dessiccateur comme représenté schématiquement dans la Figure V-1. Dans chaque godet sont versés 5 mL de solution de BaP pur à 10^{-5} M dans l'acétate d'éthyle. Au fond du dessiccateur, un cristallisoir rempli d'un desséchant, le Na_2SO_4 (sulfate de sodium) a été placé préalablement. Celui-ci permet de piéger l'humidité due à la condensation dans le dessiccateur et d'éviter que l'eau tombe dans les godets. Le dessiccateur est mis dans un bain-marie à 70-80 °C puis il est placé sous vide à l'aide

d'une trompe à vide. Avant cette trompe à vide, un bulleur 150 mL d'acétate d'éthyle sert à piéger les vapeurs de BaP qui peuvent sortir du dessiccateur. La chaleur va faire évaporer l'acétate des godets pour laisser déposer une fine pellicule de BaP sur la paroi des godets. Après quelques heures, les godets sont secs. Le montage est réalisé sous la hotte à cause de la toxicité du BaP.

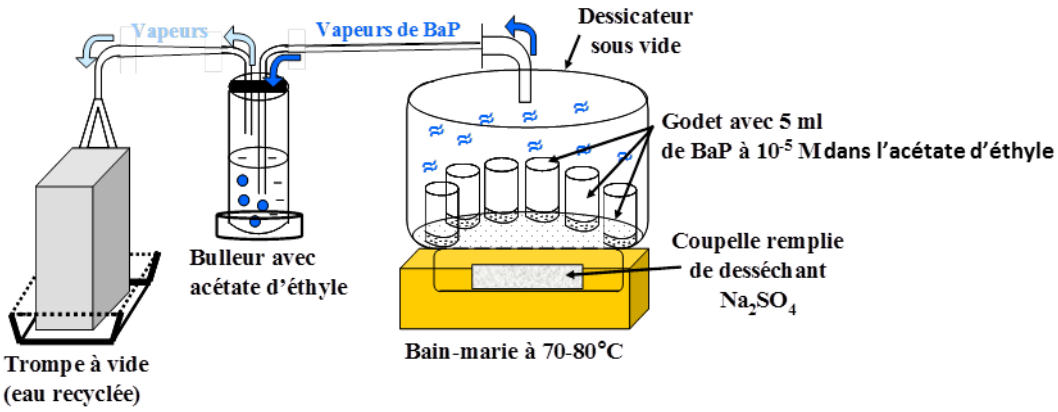


Figure V-1 Montage pour la préparation des godets contenant le BaP par évaporation sous hotte.

Ainsi des séries de godets ont été préparées contenant du BaP à 10^{-4} ,10^{-5} et 10^{-7} M en pellicule fine solide sur les parois.

b) Mise au point du protocole expérimental

Dans 2 godets préparés avec du BaP à 10^{-5} M, 60 mL d'une fraction SH de teneur en carbone organique dissous égale à 9 mg.L^{-1} ont été ajoutés. Ces godets fermés ont été placés sur un agitateur rotatif et à l'obscurité pour éviter toute photodégradation. L'agitation favorise le contact et les interactions entre la matière organique de la fraction SH et le BaP en fine pellicule solide sur les parois des godets. À des intervalles de temps de 2 heures et de 24 heures, on a prélevé 3 mL de la solution présente dans un godet qui ont été placés dans une cuve en quartz pour prendre des mesures de fluorescence 2D. 3 autres mL de cette même solution ont été prélevés et filtrés à 0,45 µm avant d'être versés dans une cuve pour prendre un spectre d'émission de fluorescence. Les mesures de fluorescence ont été faites avec une longueur d'onde d'excitation de 365 nm qui permet l'excitation du BaP et des matières organiques (Figure V-2).

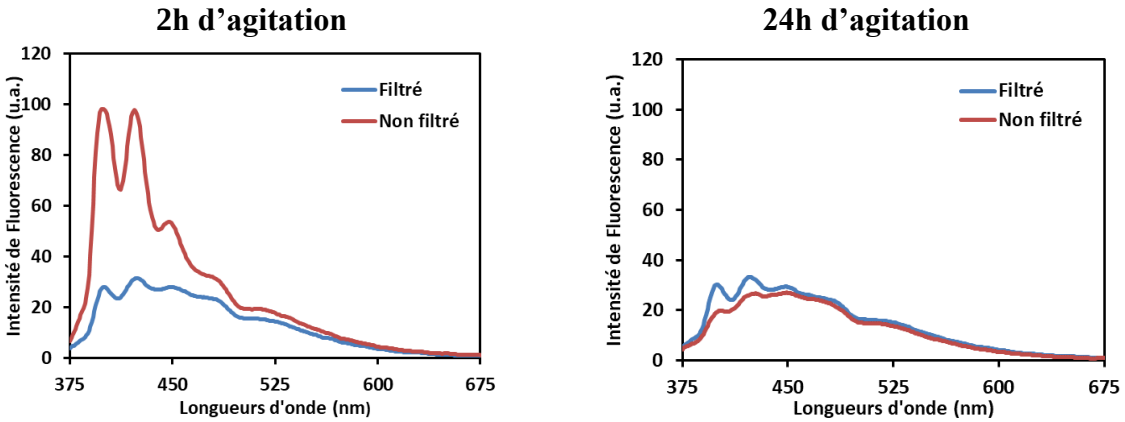


Figure V-2 Spectres d'émission de fluorescence 2D de l'échantillon prélevé du godet $SH_{BaP10-5}$ après 2h et 24h d'agitation rotative sans filtration (rouge) et avec filtration préalable aux mesures (bleu). Excitation à 365 nm.

À 2 h, la différence entre les solutions filtrées et non filtrées est très marquée. La solution non filtrée montre un spectre de fluorescence caractéristique du BaP avec de grandes intensités de fluorescence (~98 u.a.) alors que la solution filtrée révèle un spectre combinant la fluorescence de la matière organique et celle du BaP dont l'intensité est beaucoup plus faible (~30 u.a.). À 24h, la différence est moins importante entre les deux fluorescences qui illustrent la fluorescence combinée de la matière organique et du BaP avec peu d'écart d'intensité. La fluorescence du BaP mesurée sur la solution non filtrée à 2 h peut s'expliquer par la présence de particules fines solides de BaP suite à l'agitation du godet. Ces particules de BaP disparaissent après filtration pour laisser apparaitre la fluorescence résultante de la solubilisation du BaP par la matière organique de la fraction SH, ce que l'on cherche à étudier. Donc dans les prochaines manipulations, on a filtré tous les échantillons à l'aide de filtres seringue de porosité 0,45 µm.

Dans un autre godet, les prélèvements de 3 ml de solution ont été réalisés aprés 2h, 24h, 74h et 218h d'agitation mécanique et à l'obscurité. Les solutions ont été filtrées à 0,45 µm avant les mesures de fluorescence. On a remarqué qu'entre 2h et 24h il existe peu de différence, pareil pour 74h et 218h (Figure V-3). De ce fait, pour être représentatifs des variations observées, dans les prochaines expériences de cinétique les intervalles de temps seront fixés à 24h, 48h et 72h.

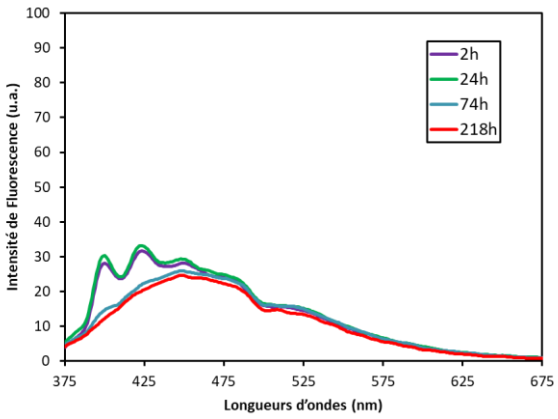


Figure V-3 Superposition des spectres d'émission de fluorescence (λ_{ex} = 365 nm) des échantillons prélevés du godet contenant SHBaP10^{-5} M à différents intervalles de temps.

De plus, pour chaque échantillon, l'absence des effets d'écran a été vérifiée en se plaçant dans des conditions d'analyse adéquates (dilution, réglages des paramètres de mesure).

V.2. Caractérisations spectrales des fractions SH, AF et AH de référence

Plusieurs échantillons de fractions SH, AF et AH ont été préparés avec des concentrations évaluées en fonction des teneurs en carbone organique dissous. 5 concentrations pour AF, 2 pour AH et 3 pour SH sont présentées dans le tableau V-1. Le choix de ces concentrations a été fait selon les résultats obtenus pour se situer dans les meilleures conditions de fluorescence sans avoir de saturations ni d'effets d'écran.

Tableau V-1 : Concentrations en carbone organique dissous (mg/L) des fractions de référence préparées.

Fractions		Concentrations (mg COD.l^{-1})
SH	SH 1	7
	SH 2	4,5
	SH 3	2,5
AF	AF 1	12
	AF 2	9
	AF 3	7
	AF 4	4,5
	AF 5	2,7
AH	AH 1	9
	AH 2	6

Ces différentes fractions de sol serviront de référence. Les mesures des MEEFs de chaque concentration ont été enregistrées en triplicata et ont été traitées toutes ensemble par l'algorithme PARAFAC. Des modèles PARAFAC de 2 à 5 composants ont été testés. Les modèles PARAFAC à deux et à trois composants de ces fractions de référence ont été validés avec des scores de CorConDia de 99% et 65,56% respectivement. Au-delà des 3 composants les pourcentages de CorConDia étaient faibles et la forme des spectres des composants obtenus n'était pas conforme à celle obtenue dans la littérature (Tableau IV-1), d'où l'élimination de ces modèles. Les résultats des modèles à 2 et à 3 composants sont donc présentés. On a choisi à traiter les matrices des trois fractions SH, AF et AH séparés car, quand regroupés, les modèles PARAFAC ne convergaient pas.

Le modèle à deux composants montre un composant C1 ref dont les pics d'excitation et d'émission de fluorescence sont situés aux longueurs d'ondes 330/428 nm et un deuxième composant C2 ref dont le spectre d'excitation présente un épaulement à la longueur d'onde de 290 nm et un pic à 410 nm et dont le spectre d'émission présente deux pics successifs aux longueurs d'ondes 492 et 521 nm respectivement (Figure V-4).

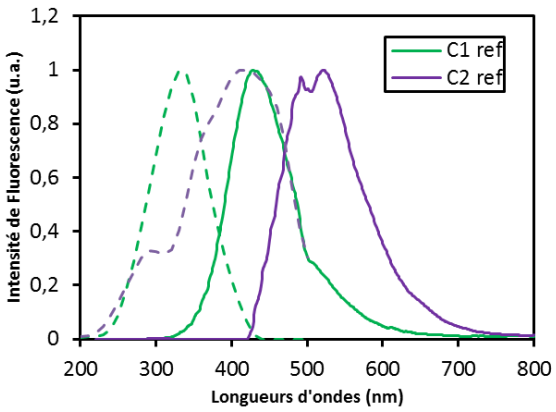


Figure V-4 Spectres d'excitation (tirets) et d'émission (ligne continue) de fluorescence des fluorophores obtenus dans les fractions de référence par une décomposition PARAFAC à deux composants ayant un CorConDia de 99% (voir Annexe A Figure A.A.1 pour les MEEFs des fluorophores et leur spectres).

Le modèle de PARAFAC à trois composants, a défini un premier composant C1 ref ayant des pics aux longueurs d'ondes d'excitation et d'émission de fluorescence $\lambda ex/\lambda em$ = 330/427 nm, le composant 2 (C2 ref) (280)460/526 nm et le composant 3 (C3 ref) à 390/468 nm (Figure V-5).

On retiendra ces deux modèles pour une discussion ultérieure.

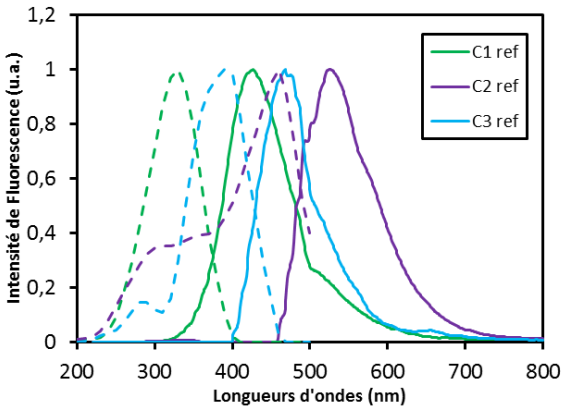


Figure V-5 Spectres d'excitation (tirets) et d'émission (ligne continue) de fluorescence des fluorophores obtenus dans les fractions de référence par une décomposition PARAFAC à trois composants ayant un CorConDia de 65,56% (voir Annexe A Figure A.A.2 pour les MEEFs des fluorophores et leur spectres).

V.3. Expériences de mélange de BaP avec les fractions SH, AF et AH suivies dans le temps

Trois séries de godets ont été préparées suivant le protocole décrit dans la figure V-6, chacune à une concentration de BaP : 10^{-4} M (groupe G1), 10^{-5} M (groupe G2) et 10^{-7} M (groupe G3). 60 mL de chaque concentration des SH, AF et AH listés dans le tableau V-1 sont placés respectivement dans différents godets. Par exemple, pour la solution SH 1, on place 60 mL de celle-ci dans un godet préparé avec du BaP 10^{-4}, 60 mL de la même solution dans un godet préparé avec du BaP 10^{-5} et de la même manière dans un godet préparé avec du BaP 10^{-7} M. Ceci est schématisé dans la figure V-6. Le même protocole est appliqué avec toutes les concentrations de SH, AF et AH citées dans le tableau V-1.

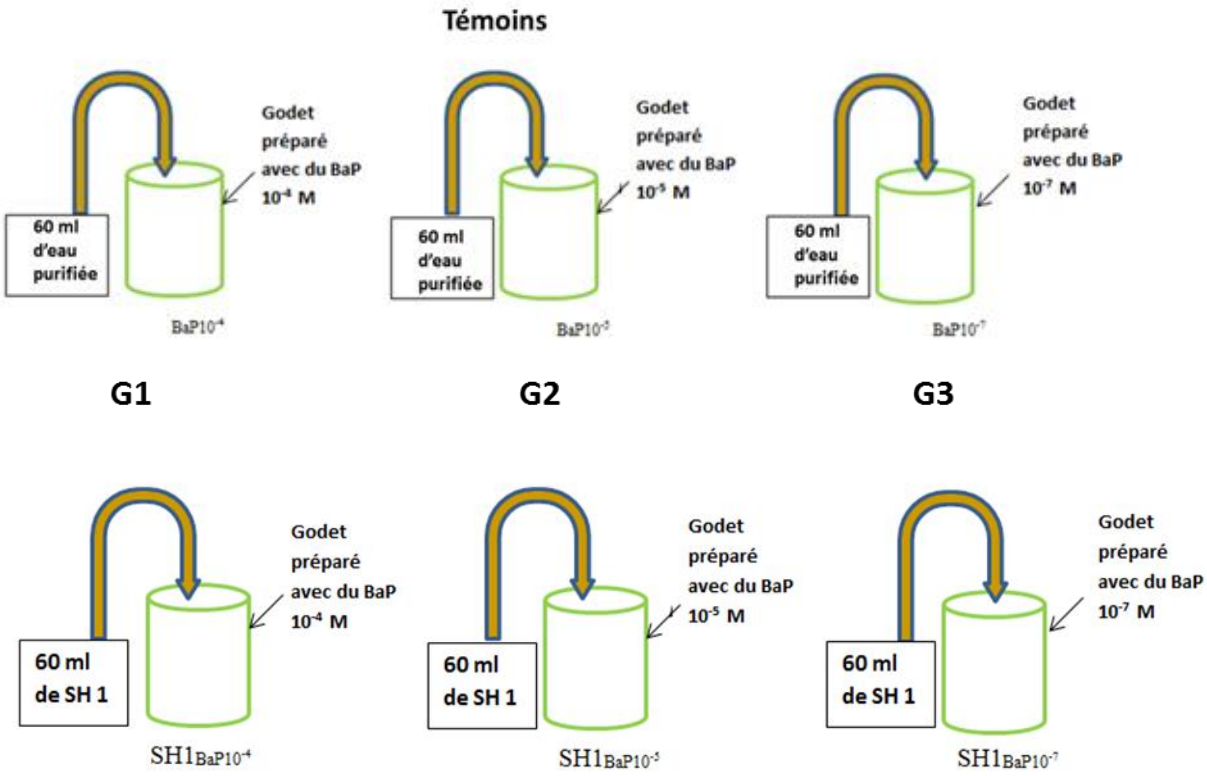


Figure V-6 Schéma présentant le protocole suivi pour la préparation des échantillons à tester (exemple avec SH1).

Ainsi on obtient :

- 3 godets témoins
- 3 godets $SH_{BaP10^{-4}}$ qui seront nommés $SH1_{BaP10^{-4}}$, $SH2_{BaP10^{-4}}$ et $SH3_{BaP10^{-4}}$
- 3 godets $SH_{BaP10^{-5}}$: $SH1_{BaP10^{-5}}$, $SH2_{BaP10^{-5}}$ et $SH3_{BaP10^{-5}}$
- 3 godets $SH_{BaP10^{-7}}$: $SH1_{BaP10^{-7}}$, $SH2_{BaP10^{-7}}$ et $SH3_{BaP10^{-7}}$
- 5 godets $AF_{BaP10^{-4}}$: $AF1_{BaP10^{-4}}$, $AF2_{BaP10^{-4}}$, $AF3_{BaP10^{-4}}$, $AF4_{BaP10^{-4}}$, et $AF5_{BaP10^{-4}}$
- 5 godets $AF_{BaP10^{-5}}$: $AF1_{BaP10^{-5}}$, $AF2_{BaP10^{-5}}$, $AF3_{BaP10^{-5}}$, $AF4_{BaP10^{-5}}$, et $AF5_{BaP10^{-5}}$
- 5 godets $AF_{BaP10^{-7}}$: $AF1_{BaP10^{-7}}$, $AF2_{BaP10^{-7}}$, $AF3_{BaP10^{-7}}$, $AF4_{BaP10^{-7}}$, et $AF5_{BaP10^{-7}}$
- 2 godets $AH_{BaP10^{-4}}$: $AH1_{BaP10^{-4}}$ et $AH2_{BaP10^{-4}}$
- 2 godets $AH_{BaP10^{-5}}$: $AH1_{BaP10^{-5}}$ et $AH2_{BaP10^{-5}}$
- 2 godets $AH_{BaP10^{-7}}$: $AH1_{BaP10^{-7}}$ et $AH2_{BaP10^{-7}}$

Ces 33 godets ont été mis à agiter sur des agitateurs rotatifs à l'obscurité. Des prélèvements de chaque godet ont été effectués au temps t1 : 24h, t2 : 48h et t3 : 72h d'agitation continue. Après filtration, les MEEFs-3D de chaque échantillon ont été mesurées et enregistrées en duplicata pour être utilisées dans le traitement de PARAFAC.

Les MEEFs mesurées sont ensuite regroupées par jeu de données. Les groupements de MEEF sont effectués en fonction des concentrations de BaP et du temps de prélèvement (Tableau V-2).

Tableau V-2 Classement des échantillons dans 9 groupes pour les traitements PARAFAC.

G1 (BaP 10^{-4} M)	G1 t1
	G1 t2
	G1 t3
G2 (BaP 10^{-5} M)	G2 t1
	G2 t2
	G2 t3
G3 (BaP 10^{-7} M)	G3 t1
	G3 t2
	G3 t3

Chaque groupe a été traité séparément par PARAFAC suivant les paramètres cités précédemment dans la section matériels et méthodes (III.5). Pour rappel, une bonne décomposition de PARAFAC doit avoir un pourcentage de CorConDia élevé.

Les résultats des modèles PARAFAC validés de chaque groupe seront discutés dans un premier temps. Puis une description des propriétés spectrales des composants obtenus ainsi qu'une comparaison de ceux-ci avec les spectres d'excitation et d'émission de fluorescence des composants de référence et le calcul de coefficients de similarité seront établis. Enfin, une évaluation des variations des pseudo-concentrations des composants de chaque groupe sera élaborée. La comparaison des différents groupes sera faite selon le temps (t1, t2 et t3) et selon la teneur des godets en BaP (10^{-4}, 10^{-5} et 10^{-7} M).

Par la suite, une discussion sur les modèles PARAFAC à 4 composants sera établie.

Parmi les traitements PARAFAC des différents groupes de mélanges entre SH, AF, AH et le BaP, ce sont les modèles à 3 composants et à 4 composants qui ont été validés. Les résultats des modèles à 3 composants seront d'abord développés puis ceux des modèles à 4

composants. Les modèles à 5 composants n'ont pas été retenus car les pourcentages de CorConDia étaient faibles (~ 30 %) et la forme des spectres d'excitation et d'émission du cinquième fluorophore obtenu ne représentait pas un composé conforme.

V.4. Caractérisation des signatures de fluorescence des composants présents dans les différents groupes des mélanges SH, AF et AH avec BaP – Résultats des modèles PARAFAC à 3 composants

Les traitements PARAFAC des différents groupes qui ont donné des CorConDia les plus élevés avec des formes de spectres comparables à celles de référence sont des modèles à 3 composants.

V.4.1. Groupe G1

V.4.1.1. Groupe G1 t1

Pour le groupe G1 t1, le meilleur modèle obtenu est celui à trois composants avec un CorConDia de 68,814% et des spectres d'excitation et d'émission des fluorophores qui semblent comparables à ceux des fluorophores résultants du modèle PARAFAC à deux composants des fractions de référence et aux spectres du BaP pur. Les spectres d'excitation et d'émission de fluorescence des fluorophores résultants du modèle à trois composants de PARAFAC du groupe G1 t1 sont représentés dans la Figure V-7. Le composant C1 G1 t1 est caractérisé par ses maximas d'excitation et d'émission $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ = 340/434 nm. L'excitation du composant C2 G1 t1 montre un épaulement à environ 300 nm avant son max à 410 nm alors que son émission a deux pics à 492 et 522 nm. Le composant C3 G1 t1 présente deux pics en excitation à 290 et 370 nm et deux pics en émission à 410 et 428 nm.

Afin d'évaluer la présence de modifications spectrales dues à la présence du BaP, on a superposé les spectres d'excitation et d'émission de ces composants avec ceux issus du modèle PARAFAC à deux composants des fractions de références ainsi que ceux du BaP pur (Figure V-8). Une grande similarité est notée entre les composants C1 G1 t1, C2 G1 t1 et C3 G1 t1 d'une part et C1 ref, C2 ref et BaP pur d'autre part.

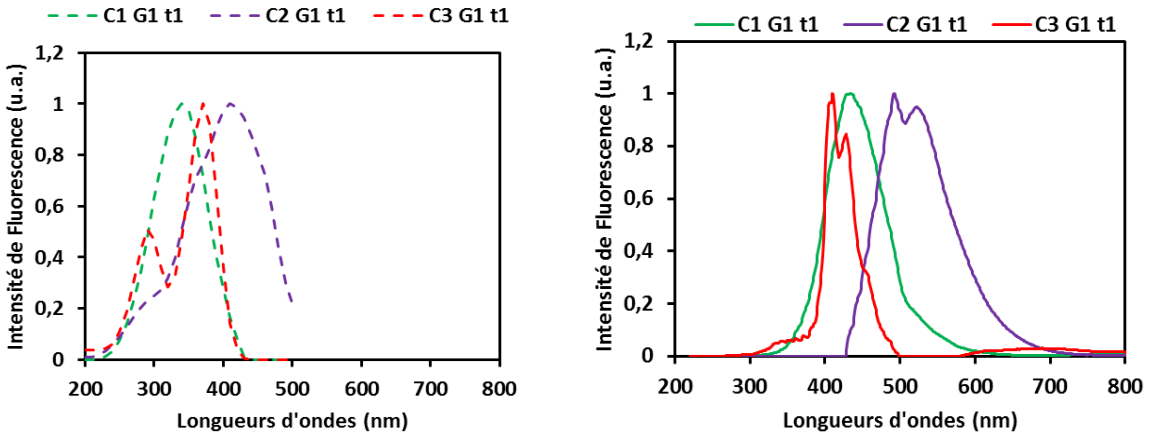


Figure V-7 Spectres d'excitation (tirets) et d'émission (ligne continue) de fluorescence des trois composants issus du traitement PARAFAC d'un modèle à trois composants du groupe G1 t1 (voir Annexe B figure A.B.1 pour les MEEFs des fluorophores).

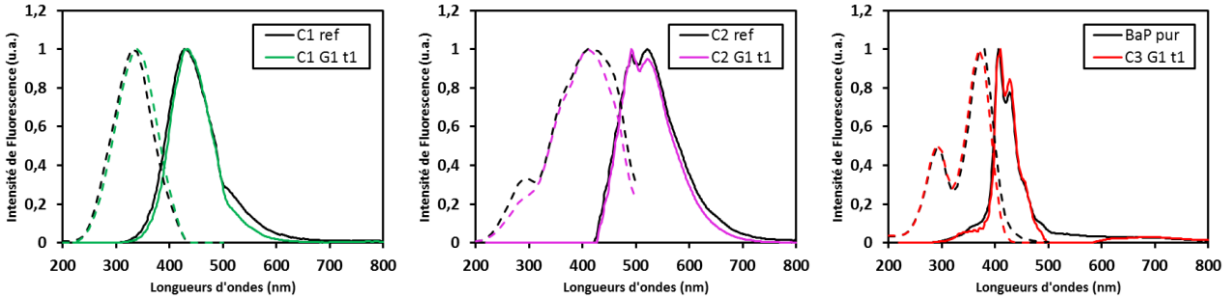


Figure V-8 Superposition des spectres d'excitation (tirets) et d'émission (ligne continue) des trois composants (C1 G1 t1, C1 G1 t2 et C1 G1 t3) issus du modèle PARAFAC du groupe G1 t1 avec les spectres d'excitation et d'émission des composants du modèle PARAFAC à deux composants des fractions de référence (C1 ref et C2 ref) et celui du BaP pur.

De plus, on a calculé les coefficients de similarité r_c des spectres comparés. Pour rappel, le coefficient de similarité nommé aussi 'congruence coefficient' noté r_c défini dans la section Matériels et Méthodes (Paragraphe III.6), reflète la similitude entre deux spectres. Une valeur de r_c égale à 0,9 indique une grande similarité entre les spectres comparés tandis qu'une valeur inférieure à 0,85 indique une faible similarité. Tous les coefficients de similarité calculés pour les comparaisons des spectres issus de la décomposition du groupe G1 t1 avec ceux de références sont supérieurs à 0,99 (Tableau V-3) d'où la grande similarité reflète bien la validation du modèle à 3 composants pour le groupe G1 t1.

Tableau V-3 Valeur des coefficients de similarité r_c des spectres d'excitation et d'émission des fluorophores issus du groupe G1 t1 avec un modèle à 3 composants (C1 G1 t1, C2 G1 t2 et C1 G1 t3) et les composants de référence issus du modèle PARAFAC à deux composants (C1 ref et C2 ref) et ceux du BaP pur.

Excitation	C1 G1 t1	C2 G1 t1	C3 G1 t1
C1 ref	0,993		
C2 ref		0,993	
BaP pur			0,997

Émission	C1 G1 t1	C2 G1 t1	C3 G1 t1
C1 ref	0,995		
C2 ref		0,998	
BaP pur			0,992

Le composant 1 (C1 G1 t1) a ses pics d'excitation et d'émission de fluorescence aux longueurs d'ondes 340/434 nm. Celui-ci est décalé légèrement vers le rouge en excitation par rapport à C1 ref (λex/λem = 330/428 nm). Le spectre d'excitation du composant 2 (C2 G1 t1) présente un épaulement à la longueur d'onde 290 nm et un pic à 410 nm. En émission, C2 G1 t1 présente deux pics à 492 et 522 nm respectivement. Ces couples $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ sont similaires à ceux de $C2_{ref}$ ((290)410/492-521 nm). Le troisième fluorophore obtenu nommé C3 G1 t1 a les pics de ses spectres d'excitation et d'émission de fluorescence aux longueurs d'ondes 290-370 / 410-428 nm. Celui-ci est comparable au spectre d'excitation et d'émission du BaP pur (λex/λem = 290-380/407-428 nm). L'ajout de BaP à 10^{-4} M durant 24h ne semble pas avoir modifié les composants des trois fractions de référence.

On a évalué les pseudo-concentrations du modèle PARAFAC du groupe G1 t1 en fonction de la teneur en COD, et on les a représentées pour chaque fraction séparément (Figure V-9). D'une part, on constate que pour toutes les pseudo-concentrations des échantillons de la fraction SH, le C1 G1 t1 a une concentration plus élevée que les deux autres fluorophores. Les pseudo-concentrations des composants C1 G1 t1 et C2 G1 t1 augmentent logiquement avec la concentration en matière organique. D'autre part on constate que la concentration du composant C3 G1 t1, identifié comme BaP, augmente également quand la concentration de la matière organique s'élève. Cela suggère que la solubilisation du BaP serait favorisée par la quantité de matière organique croissante dans la fraction SH.

Pour les échantillons de la fraction AF, les pseudo-concentrations des composants C1 G1 t1 et C2 G1 t1 augmentent aussi logiquement avec la quantité de matière organique jusqu'à 7 mg $COD.l^{-1}$ avant de se 'stabiliser'. Cette 'stabilisation' indique probablement un problème dans la préparation de ces échantillons ou de mesures lors des MEEFs. Les pseudo-

concentrations de C1 G1 t1 sont les plus élevées, par contre celle de C3 G1 t1 (BaP) restent très faibles quelle que soit la quantité de matière organique.

Pour la fraction AH, le composant C3 G1 t1 identifié comme étant le BaP a une pseudo-concentration qui dépasse celles des deux fluorophores de la matière organique C1 G1 t1 et C2 G1 t1 surtout pour la quantité de matière organique la plus élevée. La solubilisation du BaP serait donc fortement favorisée dans cette fraction pour la plus grande quantité de matière organique. Notons que la concentration de C2 G1 t1 reste légèrement supérieure à celle de C1 G1 t1 dans les deux échantillons de AH (Figure V-9) en augmentant logiquement avec la quantité de matière organique.

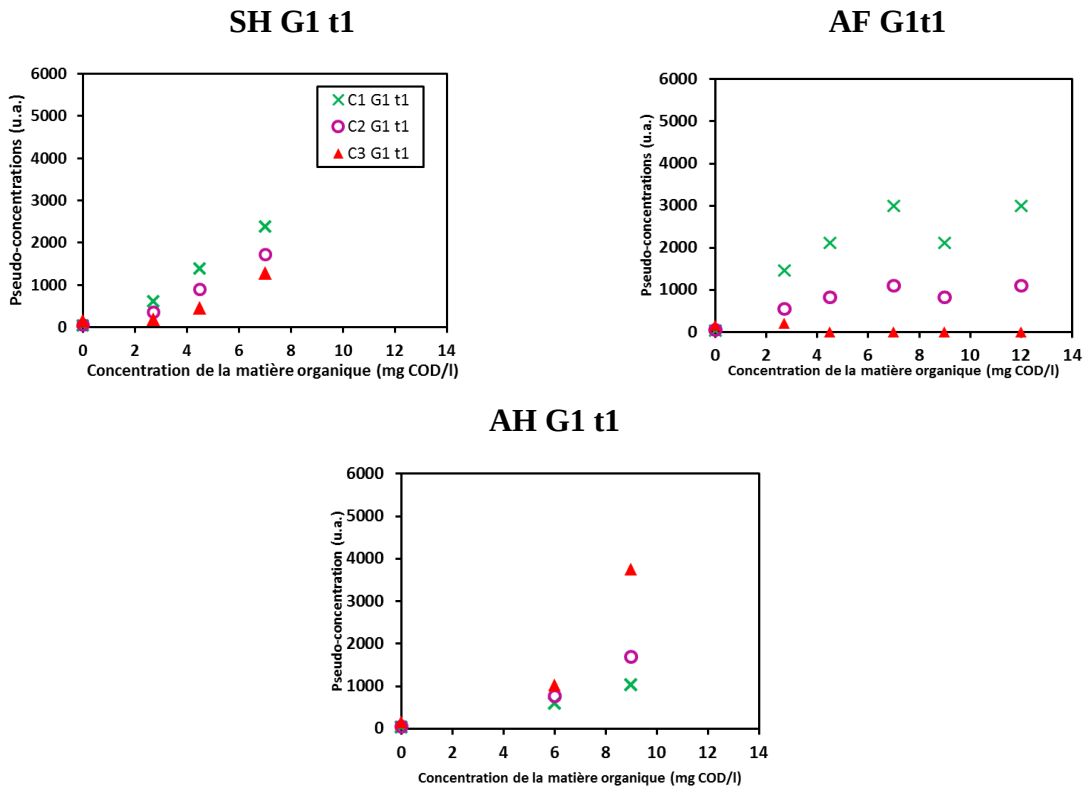


Figure V-9 Pseudo-concentrations des fluorophores présents dans les échantillons SH, AF et AH du groupe G1 t1.

Dans ce groupe G1 t1, les composants de la matière organique C1 G1 t1 et C2 G1 t1 augmentent logiquement avec la quantité de matière organique dans les trois fractions avec une limite à 7 mg COD.L^{-1} pour AF. Le composant C1 G1 t1 est majoritaire dans SH et AF alors que c'est le composant C2 G1 t1 dans la fraction AH. La solubilisation du BaP (illustré

par le composant C3 G1 t1) est liée à la quantité de matière organique dans SH et AH mais elle est inexistante dans AF. Cette solubilité semble favorisée dans la fraction AH.

V.4.1.2. Groupe G1 t2

Le groupe G1 t2 a présenté un résultat de PARAFAC satisfaisant pour le modèle à 3 composants en raison du pourcentage de CorConDia qui était de 67,619% et des formes de spectres comparables avec celles de références.

Les spectres d'excitation et d'émission de fluorescence résultants du modèle PARAFAC à 3 composants sont présentés dans la figure V-10. Les couples des longueurs d'ondes d'excitation et d'émission de chaque fluorophore sont les suivants :

- C1 G1 t2 (λex/λem) : 340 / 435 nm
- C2 G1 t2 (λex/λem) : (290) 410 / 492-522 nm
- C3 G1 t2 (λex/λem) : 290-370 / 410-428 nm

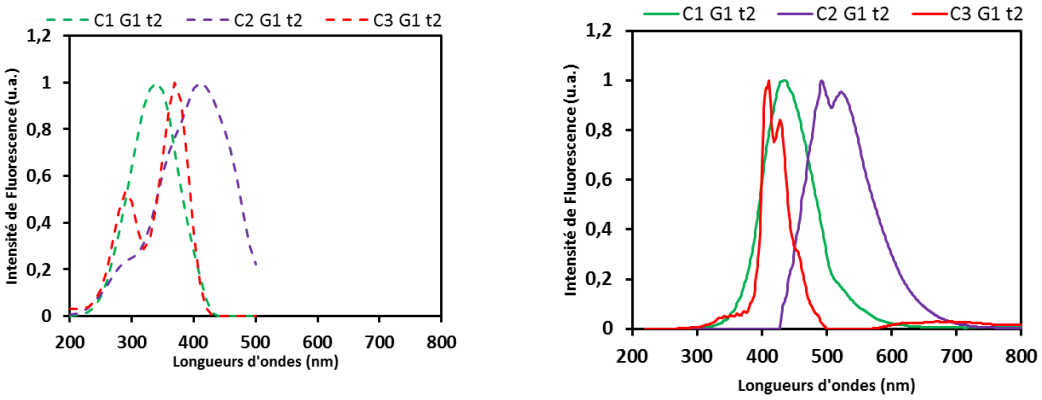


Figure V-10 Spectres d'excitation (tirets) et d'émission (ligne continue) de fluorescence des composés issus du modèle PARAFAC à 3 composants du groupe G1 t2 t1 (voir Annexe B figure A.B.2 pour les MEEFs des fluorophores).

Les superpositions des spectres d'excitation et d'émission de ces fluorophores avec ceux de référence et du BaP pur révèlent une très grande similarité (Figure V-11). De plus, cette similarité est validée par des coefficients de congruence r_c calculés supérieurs à 0,98 (Tableau V-4).

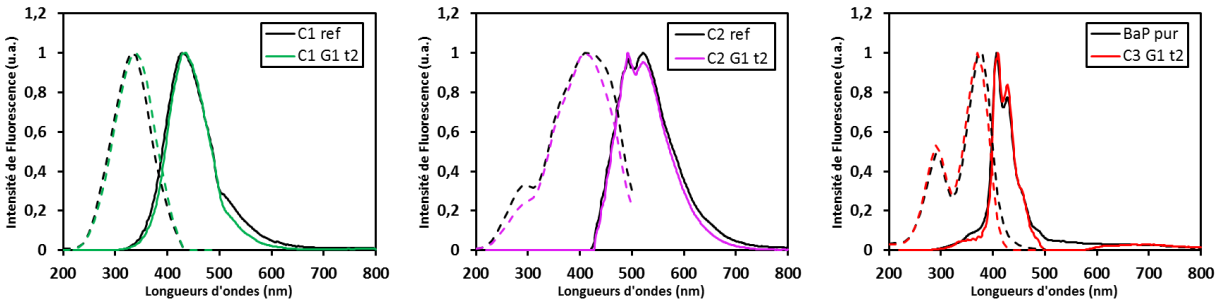


Figure V-11 Superposition des spectres d'excitation (tirets) et d'émission (ligne continue) des trois composants (C1 G1 t2, C2 G1 t2 et C3 G1 t2) issus du modèle PARAFAC du groupe G1 t2 et les spectres d'excitation et d'émission des composants du modèle PARAFAC à deux composants des fractions de référence (C1 ref et C2 ref) et celui du BaP pur.

Tableau V-4 Valeur des coefficients de similarité r_c des spectres d'excitation et d'émission des fluorophores issus du groupe 2 avec un modèle PARAFAC à 3 composants (C1 G1 t2, C2 G1 t2 et C3 G1 t2) avec les composants de référence issus du modèle PARAFAC à deux composants (C1 ref et C2 ref) et ceux du BaP pur.

Excitation	C1 G1 t2	C2 G1 t2	C3 G1 t2
C1 ref	0,994		
C2 ref		0,996	
BaP pur			0,989

Émission	C1 G1 t2	C2 G1 t2	C3 G1 t2
C1 ref	0,996		
C2 ref		0,998	
BaP pur			0,992

Les scores des fluorophores présents dans chaque échantillon du groupe G1 t2 sont évalués en fonction de la teneur en COD et sont présentés dans la figure V-12. Dans les trois fractions, les concentrations des composants C1 G1 t2 et C2 G1 t2 évoluent logiquement avec l'augmentation de quantité de matière organique sans limite pour la fraction AF (ce qui confirme un problème de mesure lors du temps t1). Les concentrations de C1 G1 t2 sont plus élevées que celles de C2 G1 t2 dans la fraction SH et surtout dans la fraction AF mais c'est l'inverse dans la fraction AH. La solubilité du BaP (C3 G1 t2) augmente avec la quantité de matière organique pour SH et surtout pour AH mais elle est toujours inexistante dans AF.

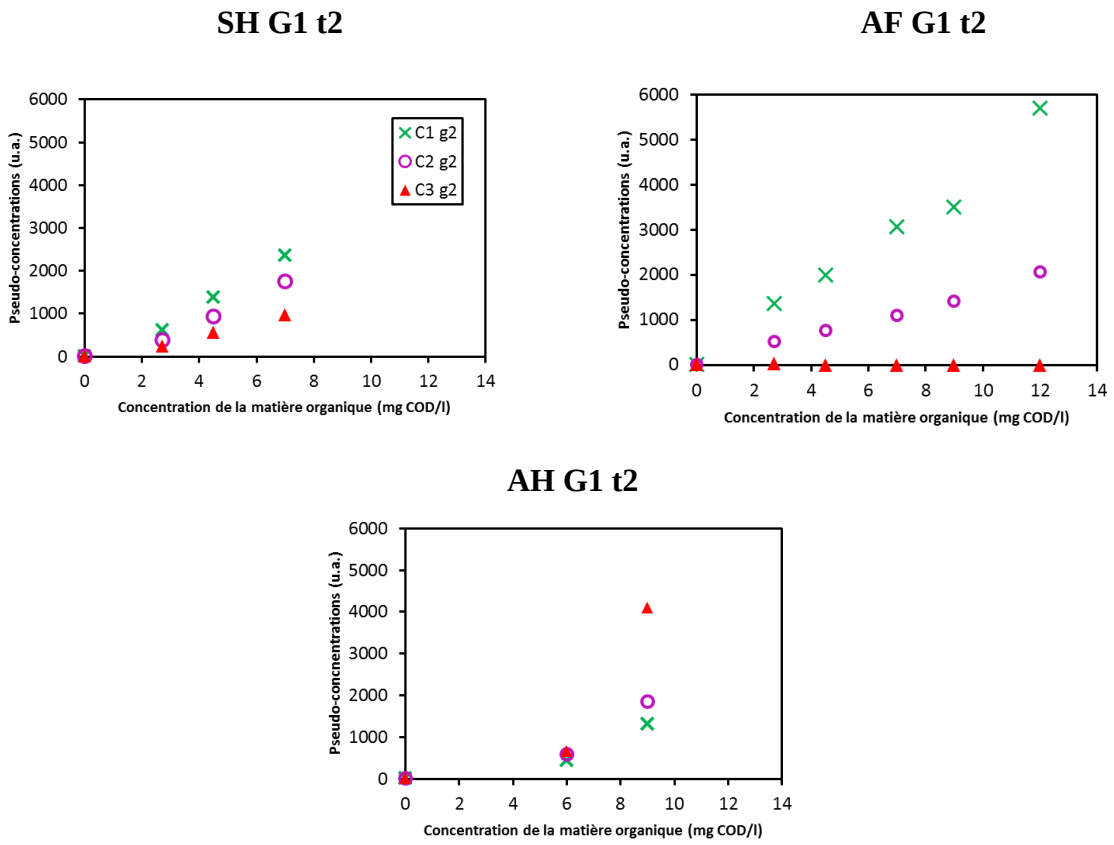


Figure V-12 Pseudo-concentrations des fluorophores présents dans les échantillons SH, AF et AH du groupe G1 t2.

V.4.1.3. Groupe G1 t3

Après 72h d'agitation rotatoire, on a mesuré les MEEFs des échantillons prélevés de chaque godet du groupe 3 suivi du traitement PARAFAC. Les CorConDia (67,144%) des modèles PARAFAC ainsi que la forme des spectres obtenus valident le choix du modèle à 3 composants dont les spectres d'excitation et d'émission des fluorophores sont présentés dans la figure V-13. Les couples des longueurs d'ondes d'excitation et d'émission de chaque fluorophores sont comme suit :

- C1 G1 t3 (λex/λem) : 350 / 467 nm
- C2 G1 t3 (λex/λem) : 450 / (494) 526 nm
- C3 G1 t3 (λex/λem) : 340 / 410 (426) nm

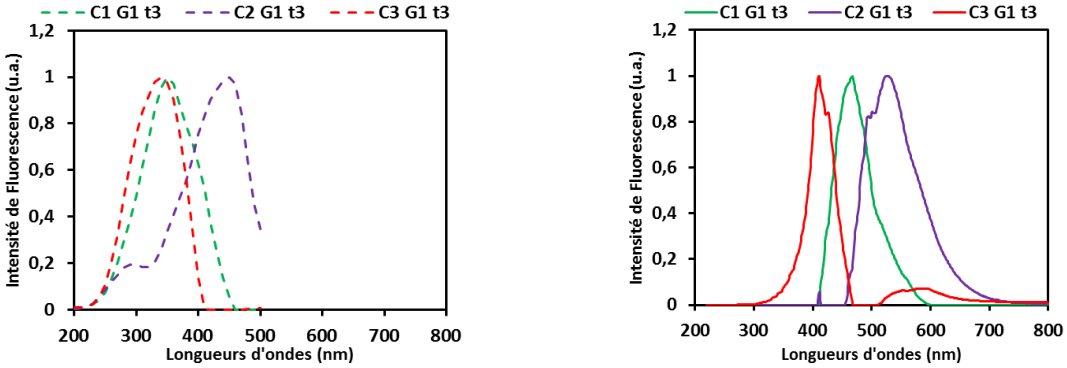


Figure V-13 Spectres d'excitation (tirets) et d'émission (ligne continue) de fluorescence des composés issus du modèle PARAFAC à 3 composants du groupe G1 t3 t1 (voir Annexe B figure A.B.3 pour les MEEFs des fluorophores).

On a comparé les spectres d'excitation et d'émission de ces composants avec ceux des composants de référence C1 ref et C2 ref obtenus et du BaP pur respectivement (Figure V-14) puis on a calculé leurs coefficients de similarité r_c (Tableau V-5). On constate que les spectres d'excitation et d'émission de C1 G1 t3, C2 G1 t3 et C3 G1 t3 ne sont pas similaires à ceux des références et du BaP pur.

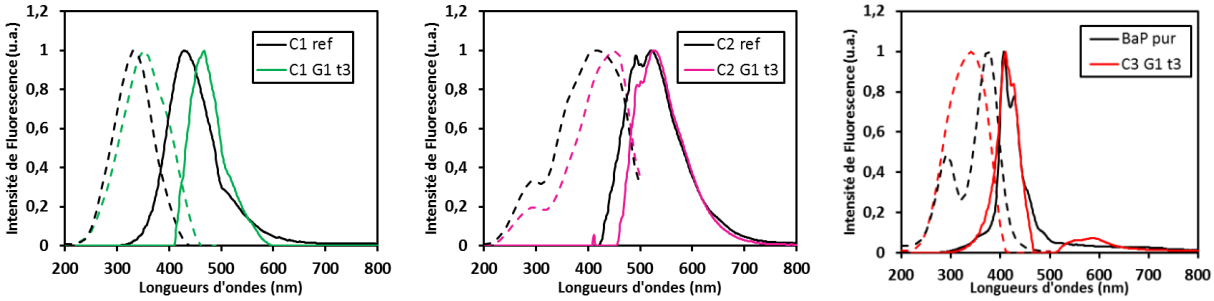


Figure V-14 Superposition des spectres d'excitation (tirets) et d'émission (ligne continue) des trois composants (A : C1 G1 t3, B : C2 G1 t3 et C : C3 G1 t3) issus du modèle PARAFAC du groupe G1 t3 et les spectres d'excitation et d'émission des composants du modèle PARAFAC à deux composant des fractions de référence (C1 ref et C2 ref) et celui du BaP pur.

Tableau V-5 Valeur des coefficients de similarité r_c des spectres d'excitation et d'émission des fluorophores issus du groupe G1 t3 avec un modèle PARAFAC à 3 composants (C1 G1 t3, B : C2 G1 t3 et C : C3 G1 t3) avec les composants de référence issus du modèle PARAFAC à deux composants (C1 ref et C2 ref) et ceux du BaP pur.

Excitation	C1 G1 t3	C2 G1 t3	C3 G1 t3
C1 ref	0,925		
C2 ref		0,970	
BaP pur			0,825

Émission	C1 G1 t3	C2 G1 t3	C3 G1 t3
C1 ref	0,789		
C2 ref		0,959	
BaP pur			0,974

Le composant C1 G1 t3 a ses spectres d'excitation et d'émission décalés vers le rouge comparé à C1 ref. Son spectre d'émission et plus étroit que celui de référence et le coefficient de similarité avec C1 ref est faible r_C = 0,789. Le spectre d'excitation de C2 G1 t3 est décalé vers le rouge et le spectre d'émission est plus étroit que celui de référence C2 ref. Le spectre d'excitation du composant C3 G1 t3 est très différent de celui du BaP pur (FigureV-14), avec un coefficient de similarité faible r_C = 0,825. Par contre le spectre d'émission de C3 G1 t3 ne semble pas différent de celui du BaP pur avec le coefficient de similarité égal à 0,974.

Les modifications spectrales observées sur les trois composants ont des conséquences sur leurs pseudo-concentrations dans les trois fractions. Dans les fractions SH et AF, les concentrations de C1 G1 t3 et C2 G1 t3 sont très proches et augmentent toujours avec la quantité de matière organique. La solubilité du BaP (C3 G1 t3) croît toujours avec la quantité de matière organique dans SH et cette solubilité apparaît cette fois dans AF avec la même tendance. Par contre dans la fraction AH, les trois composants ne se distinguent pas avec ceux des concentrations faibles qui semblent diminuer quand la quantité de matière organique augmente.

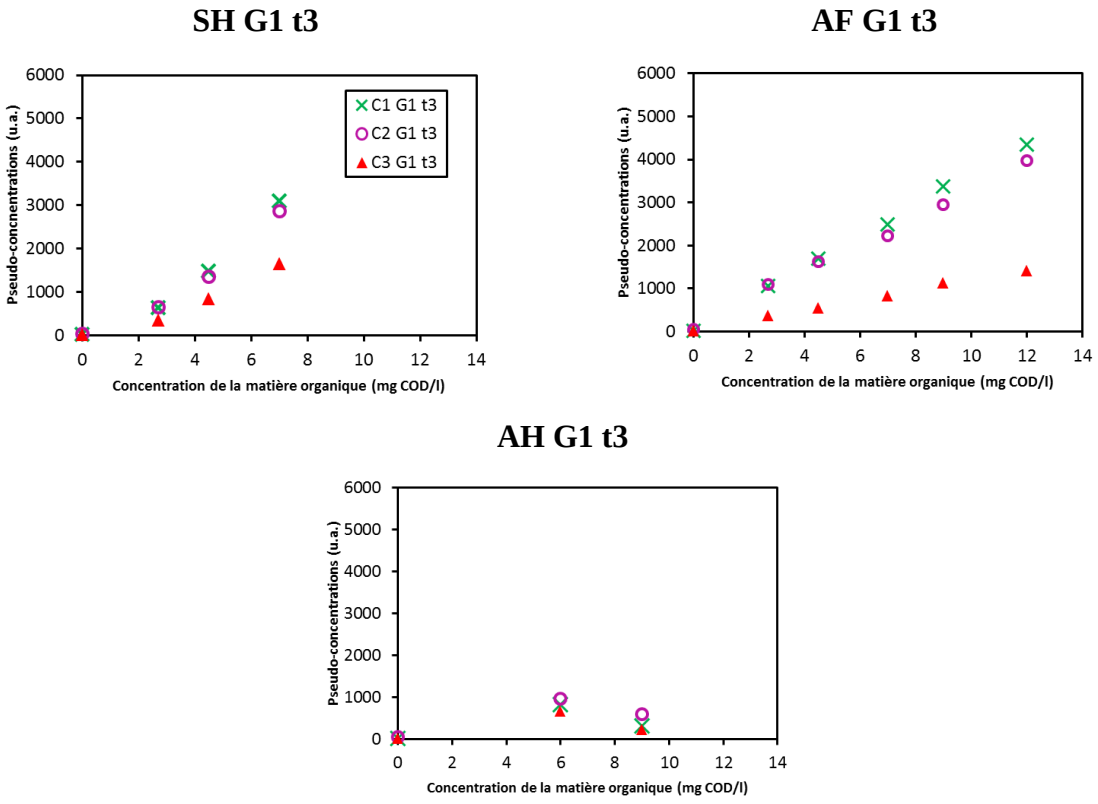


Figure V-15 Pseudo-concentrations des fluorophores présents dans les échantillons SH, AF et AH du groupe G1 t3.

V.4.1.4. Comparaison des groupes G1 t1, G1 t2 et G1 t3

Les modifications spectrales des fluorophores présents dans les échantillons sont comparés par superposition des spectres d'excitation et d'émission de fluorescence des fluorophores C1, C2 et C3 issus des modèles PARAFAC à 3 composants des groupes G1 t1, G1 t2 et G1 t3 (Figure V-16). Une comparaison des longueurs d'ondes (λex/λem) des trois composants des groupes G1 à t1, t2 et t3 est présentée dans le tableau V-6.

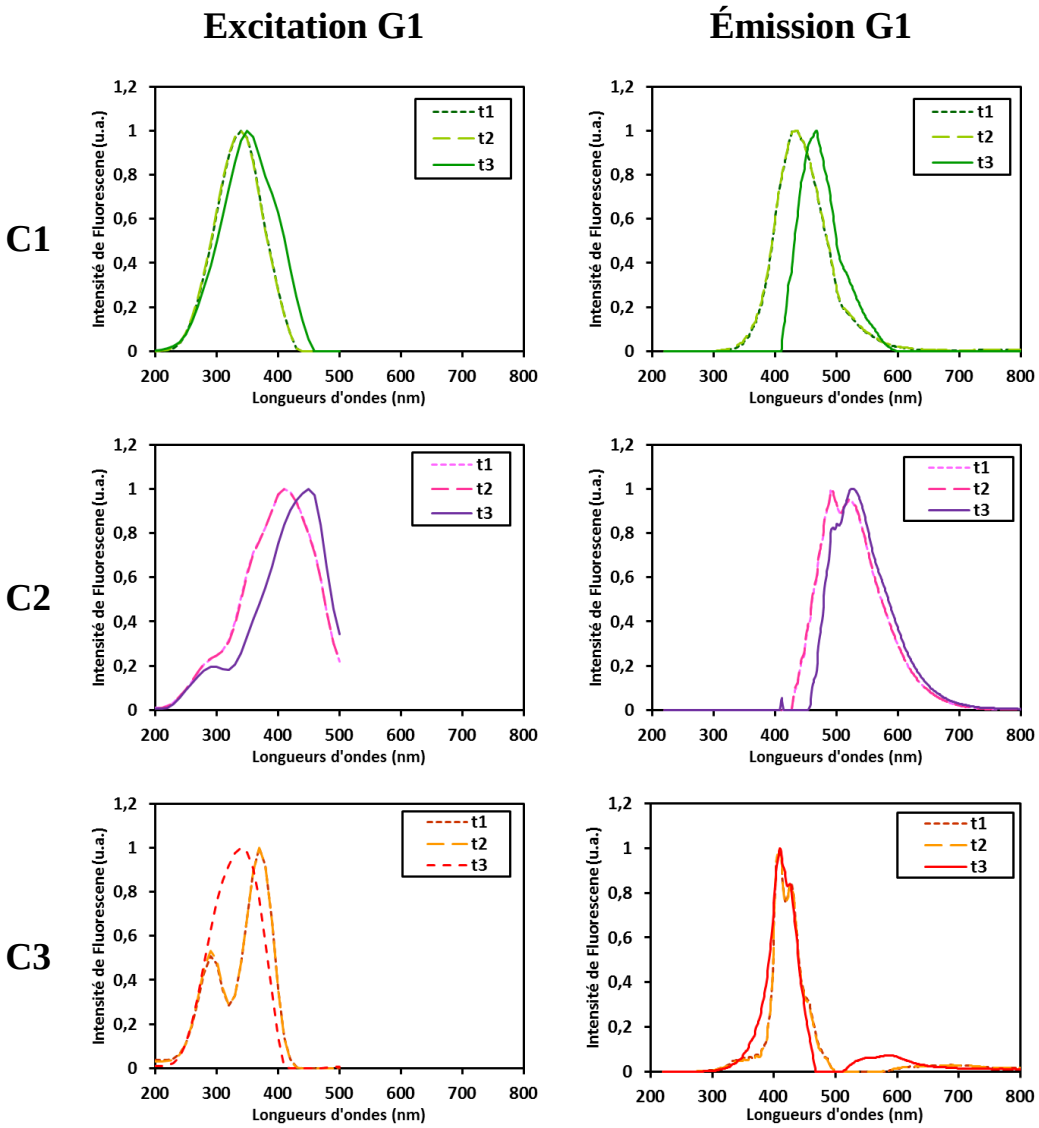


Figure V-16 Superpositions des spectres d'excitation et d'émission de fluorescences issus de PARAFAC des composant C1, C2 et C3 des groupes G1 t1, G1 t2 et G1 t3.

Tableau V-6 Comparaison des longueurs d'ondes (λex/λem) des trois composants des groupes G1 à t1, t2 et t3.

	t1	t2	t3
C1 (λex/λem) nm	340 / 434	340 / 435	350 / 467
C2 (λex/λem) nm	(300)410/ 492-522	410 / 492-522	450 / (494) 526
C3 (λex/λem) nm	290-370 / 410-428	290-370 / 410-428	340 / 410 (426)

Pour les composants C1, C2 et C3 provenant des groupes G1 t1 et G1 t2, il n'y a pas eu de modifications spectrales ; les spectres sont parfaitement superposables. Tandis que les spectres des composants dans G1 t3 sont tous modifiés par rapport à ceux de t1 et t2. On constate que les spectres d'excitation et d'émission du composant C1 G1 t3 sont décalés vers le rouge par rapport à ceux de C1 G1 t1 et C1 G1 t2. Ce décalage est plus marqué en émission (32 nm) qu'en excitation (10 nm). Le composant C2 G1 t3 a son spectre d'excitation décalé de 40 nm vers le rouge par rapport aux spectres d'excitation de C2 G1 et C2 G1 t2. Son spectre d'émission est un peu plus étroit que ceux provenant de G1 t1 et G1 t2 et on ne retrouve plus le pic à 492 nm mais plutôt un épaulement à 494 nm. Quant au composant C3, identifié comme le BaP, son spectre d'excitation dans le groupe G1 t3 après 72h d'agitation et complètement différent de ce qu'il était à 24 et 48h, alors que son spectre d'émission n'est pas trop différent des spectres d'émission de ces mêmes composants à 24h (G1 t1) et 48h (G1 t2). Pourtant on note que le creux entre les deux pics de C3 G1 t3 est moins marqué.

Les pseudo-concentrations des groupes G1t1, G1t2 et G1t3 sont comparées par composant (Figure V-17) dans chaque fraction. Pour la fraction SH, on constate qu'il n'existe pas de grandes variations dans l'évolution des pseudo-concentrations des composants C1, C2 et C3 à t1 et t2. Une légère augmentation des pentes est notée à 72h. Pour la fraction AF, à 24 h, les pseudo-concentrations des composants C1 et C2 augmentent puis décroissent dans les échantillons ayant un COD supérieur à 8 mg/l. Tandis qu'à 48h et 72h ces pseudo-concentrations augmentent linéairement avec la concentration de la matière organique en COD. Notons que cette augmentation est plus importante pour C1 (pente de C1 G1 t2 = 445,58 ; pente de C1 G1 t3 = 361) que pour C2 (pente de C2 G1 t2 = 164,13 et pente de C2 G1 t3 = 318,43). Le comportement du composant C3 est identique pour t1 et t2 ayant des valeurs de pseudo-concentrations proches de zéro, alors que, pour t3, les pseudo-concentrations augmentent linéairement avec la concentration de la matière organique

(pente = 116.33). Les variations temporelles des pseudo-concentrations des composants présents dans AH sont différentes de celles de SH et AF. En effet, on observe qu'à 24 et 48h les composants C1 et C2 augmentent légèrement (pente de C1 G1 t1 = 108,03 ; pente de C2 G1 t1 = 173,52 ; pente de C1 G1 t2 = 134,2 et pente de C2 G1 t2 = 189,63) avec la concentration de la matière organique mais linéairement. Le composant C3 est très présent à t1 et t2 avec des pseudo-concentrations maximales aux alentours de 4000 (u.a.) supérieures à celles de C1 et C2 à t1 et t2, respectivement comprises entre 1000 et 1800 u.a. au maximum. À 72h, le comportement de C3 est différent ; on remarque que la pseudo-concentration de celui-ci décroit au-delà de 8 mg $COD.L^{-1}$ et se trouve proche de zéro.

En conclusion, après 72h d'agitation des 3 fractions physiques du sol avec du BaP pur à 10^{-4} M, tous les composants sont modifiés (en forme spectrales et en pseudo-concentrations). Ces modifications doivent être dues à des transformations moléculaires. La solubilisation du BaP liée à la matière organique est plus importante dans la fraction AH à 24h et 48h que dans la fraction SH alors qu'elle est nulle dans la fraction AF.

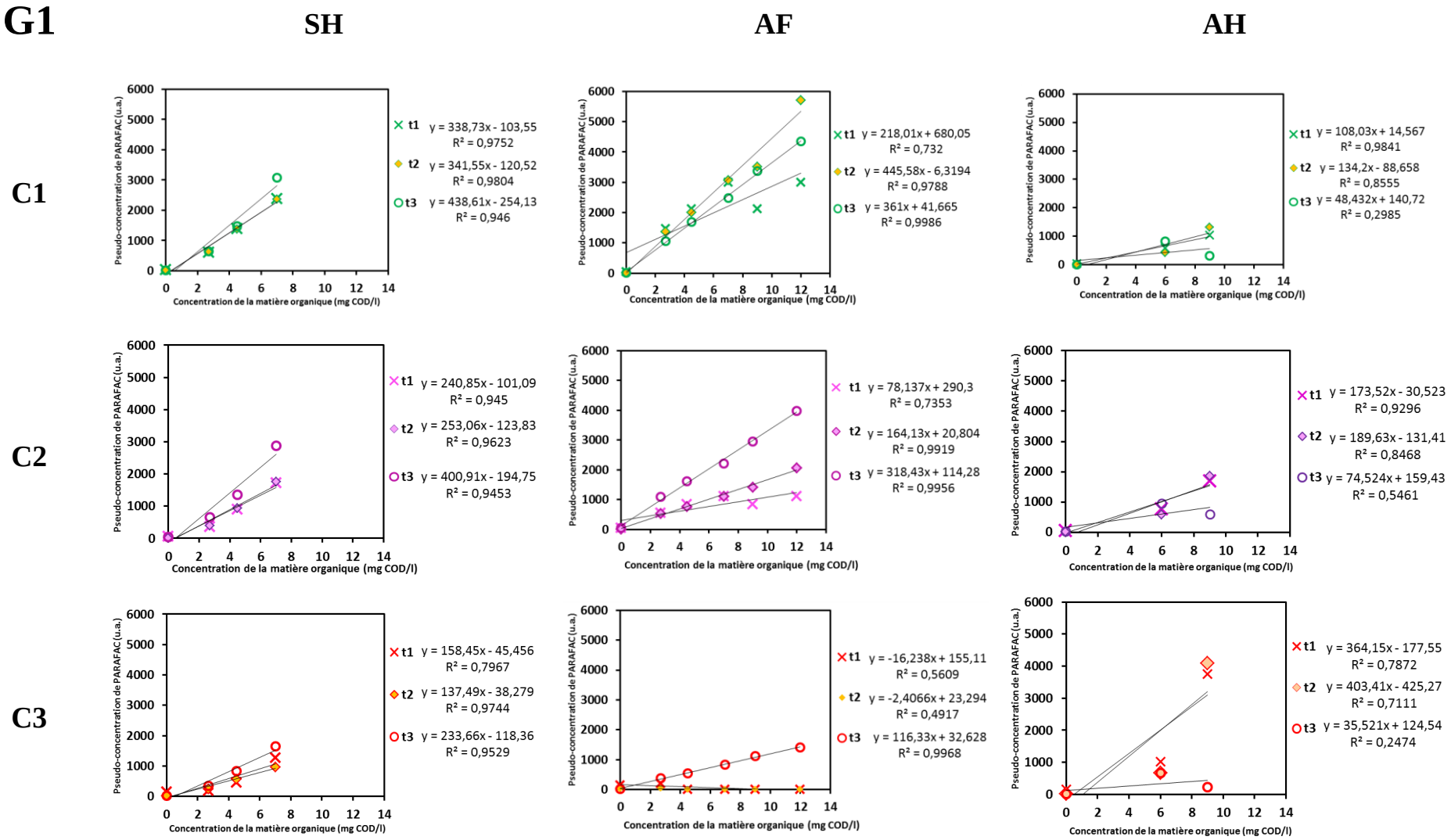


Figure V-17 Comparaison des pseudo-concentrations des trois composants issus des modèles PARAFAC du groupe G1 à t1, t2 et t3.

V.4.2. Groupe G2

V.4.2.1. Groupe G2 t1

Pour ce groupe G2 t1, le modèle PARAFAC à trois composants a un CorConDia de 70,92%. Les spectres d'excitation et d'émission de fluorescence des trois fluorophores présents dans les échantillons de ce groupe sont présentés dans la figure V-18. On a comparé les spectres ainsi obtenus avec ceux de référence obtenus avec le modèle à deux composants et ceux du BaP pur en les superposant l'un à l'autre (Figure V-19) et en calculant les coefficients de similarité r_c (Tableau V-7).

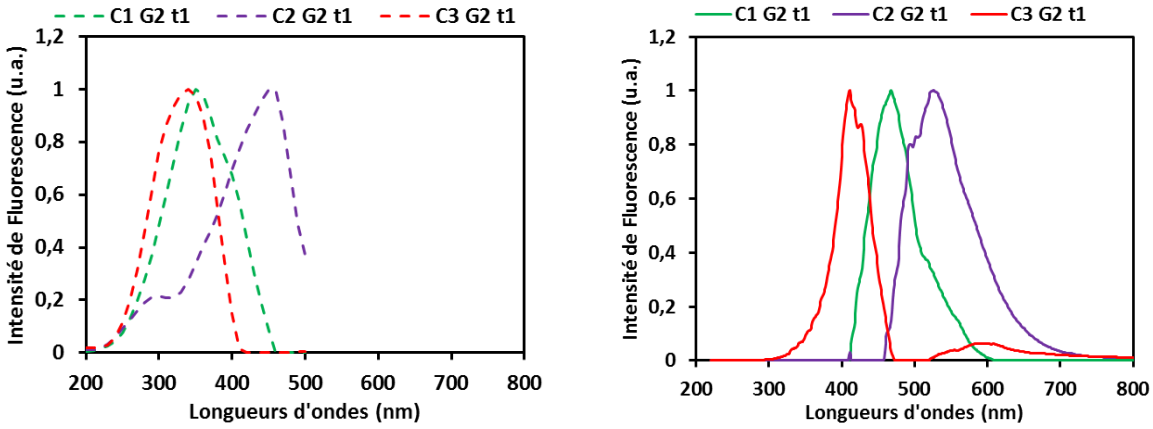


Figure V-18 Spectres d'excitation (tirets) et d'émission (ligne continue) de fluorescence des composés issus du modèle PARAFAC à 3 composants du groupe G2 t1 t1 (voir Annexe B figure A.B.4 pour les MEEFs des fluorophores).

Le composant C1 G2 t1 a ses longueurs d'onde $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ à 350/468 nm ; ses spectres d'excitation et d'émission de fluorescence sont décalés vers le rouge par rapport à ceux de référence de 20 nm en excitation et de 40 nm en émission. De plus, le spectre d'émission de C1 G2 t1 est plus étroit que celui de la référence C1 ref. Le coefficient de similarité du spectre d'excitation de C1 G2 t1 avec celui de référence est de 0,9 malgré les 20 nm de décalage tandis que celui du spectre d'émission est de 0,775.

Le composant C2 G2 t1 ($\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ = (300)460 / (494)525 nm) présente aussi des modifications spectrales par rapport à celui de référence (C2 ref). Le spectre d'excitation de C2 G2 t1 est décalé de 50 nm vers le rouge, tandis que le spectre d'émission n'est décalé que

de 4 nm vers le rouge. Le pic qui était présent à 492 nm dans le spectre de référence s'est transformé en épaulement à 494 nm. Les coefficients de similarité indiquent qu'il existe quand même une similarité (excitation r_c = 0,966 ; émission r_c = 0,954) entre les formes spectrales de C2 G2 t1 et ceux de référence.

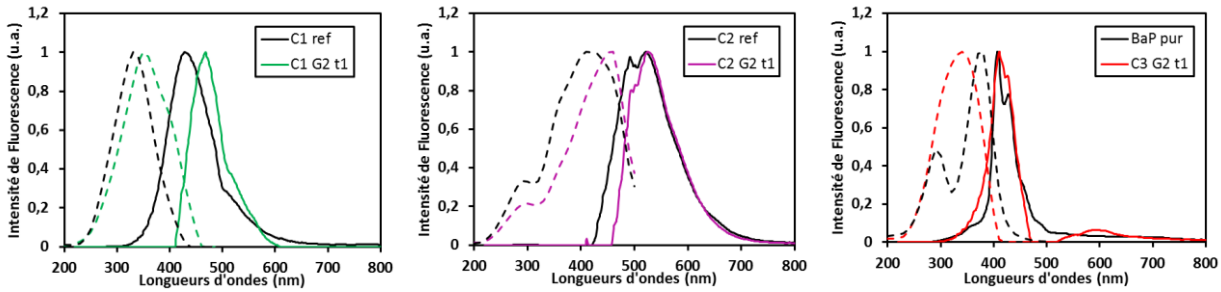


Figure V-19 Superposition des spectres d'excitation (tirets) et d'émission (ligne continue) des trois composants (A : C1 G2 t1, B : C2 G2 t1 et C : C3 G2 t1) issus du modèle PARAFAC du groupe G2 t1 et les spectres d'excitation et d'émission des composants du modèle PARAFAC à deux composants des fractions de référence (C1 ref et C2 ref) et celui du BaP pur.

Pour le composant C3 G2 t1, caractérisé par $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ = 340/411(428) nm on constate que la modification spectrale est importante d'après la superposition de son spectre d'excitation et avec celui du BaP pur. Le spectre d'excitation de C3 G2 t1 ne semble pas être celui du BaP (r_c = 0,822). Malgré le coefficient de similarité supérieur à 0,975, on remarque aussi que le spectre d'émission de C3 G2 t1 ressemble peu à celui du BaP. La modification spectrale est observée au niveau du second pic (428 nm) qui s'est modifié en épaulement.

Tableau V-7 Valeur des coefficients de similarité r_c des spectres d'excitation et d'émission des fluorophores issus du groupe G2 t1 avec un modèle PARAFAC à 3 composants (C1 G2 t1, C2 G2 t1 et C3 G2 t1) avec les composants de référence issus du modèle PARAFAC à deux composants (C1 ref et C2 ref) et ceux du BaP pur.

excitation	C1 G2 t1	C2 G2 t1	C3 G2 t1
C1 ref	0,910		
C2 ref		0,966	
BaP pur			0,822

émission	C1 G2 t1	C2 G2 t1	C3 G2 t1
C1 ref	0,775		
C2 ref		0,954	
BaP pur			0,975

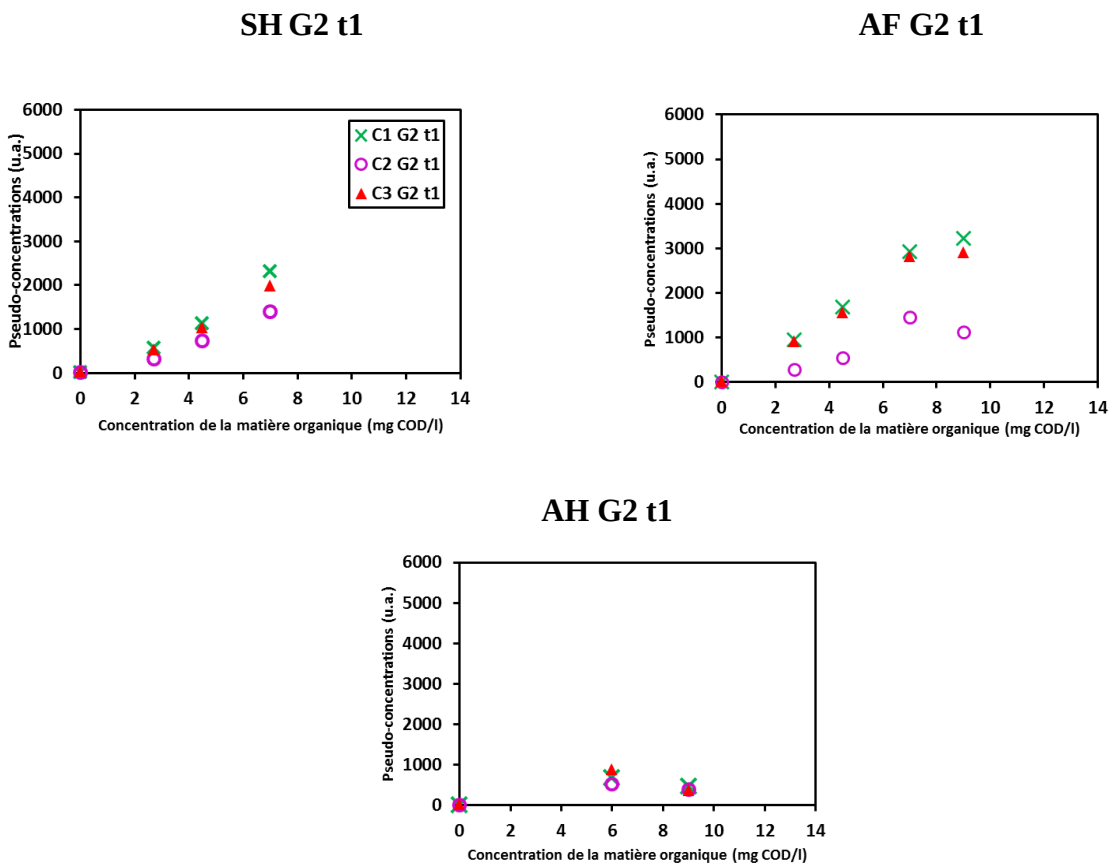


Figure V-20 Pseudo-concentrations des fluorophores présents dans les échantillons du groupe G2 t1.

L'évaluation des pseudo-concentrations des trois fluorophores présents a été étudiée dans chaque fraction séparée (Figure V-20). Selon les fractions, chaque fluorophore présentait un comportement différent par rapport à la concentration des fractions en COD. Dans SH, les pseudo-concentrations des trois composants augmentaient linéairement avec le COD présent dans les échantillons de SH. Dans AF, cette augmentation était observée aussi mais elle est similaire en se stabilisant pour C1 et C3 et elle est plus faible en diminuant pour C2 à partir de 7 mg/L de COD.

Pour la fraction AH, on observe que la fluorescence des trois composants est très faible et elle a diminué quand la concentration de la matière organique augmente.

Dans ce groupe G2 t1, les composants C1 G2 t1 et C2 G2 t1 suivent logiquement l'augmentation de la quantité de matière organique dans SH et AF mais pas dans AH. La

solubilisation du BaP (C3 G2 t1) est liée à la quantité de matière organique pour SH et AF mais pas pour AH.

V.4.2.2. Groupe G2 t2

Le modèle PARAFAC à trois composants du groupe G2 t2 a un CorConDia de 66,785%. Les spectres d'excitation et d'émission de fluorescence des trois fluorophores résultants de PARAFAC sont présentés dans la figure V-21. Les couples des longueurs d'ondes d'excitation et d'émission de chaque fluorophore sont les suivants :

- C1 G2 t2 (λex/λem) : 350 / 468 nm
- C2 G2 t2 (λex/λem) : (300)460 / (494)525 nm
- C3 G2 t2 (λex/λem) : 340/411(428) nm

Les trois composants sont similaires à ceux du groupe G2 t1.

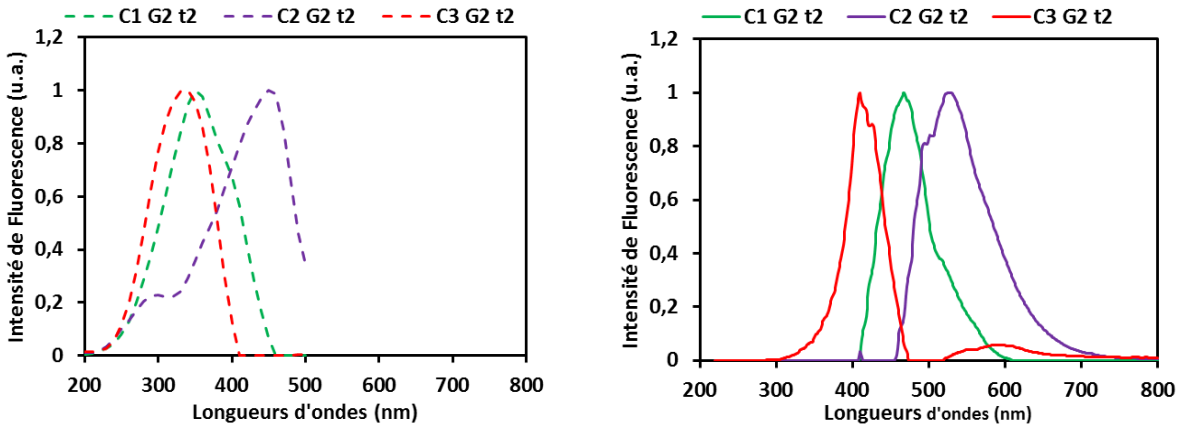


Figure V-21 Spectres d'excitation (tirets) et d'émission (ligne continue) de fluorescence des composés issus du modèle PARAFAC à 3 composants du groupe G2 t2 t1 (voir Annexe B figure A.B.5 pour les MEEFs des fluorophores).

Ces spectres ont été comparés avec ceux de référence résultant du traitement PARAFAC à deux composants des échantillons des fractions SH, AF et AH de référence et celui du BaP pur en superposant les spectres un à un (Figure V-22) et en calculant les coefficients de congruence r_c (Tableau V-8).

Les mêmes observations émises pour le groupe G2 t1 sont notées pour le groupe G2 t2. On a un décalage vers le rouge pour les spectres d'excitation (r_c = 0,91) et d'émission

(r_c = 0,78) de C1 G2 t2, un décalage vers le rouge pour le spectre d'excitation de C2 G2 t2 (r_c = 0,97) et la transformation du premier pic du spectre d'émission de ce composant en épaulement à la longueur d'onde 495 nm (r_c = 0,96). C3 G2 t2, de même que pour C3 G2 t1, a son spectre d'excitation de forme différente comparé à celui du BaP pur (r_c = 0,81), et son spectre d'émission est aussi déformé au niveau du second pic à la longueur d'onde 428 nm (r_c = 0,98).

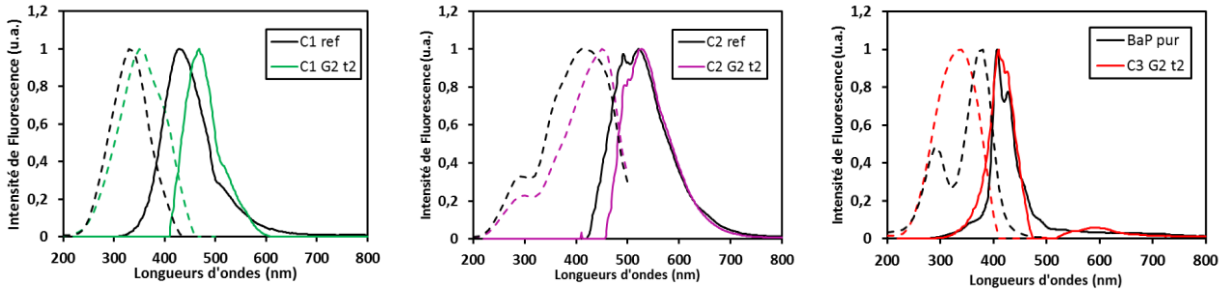


Figure V-22 Superposition des spectres d'excitation (tirets) et d'émission (ligne continue) des trois composants (A : C1 G2 t2, B : C2 G2 t2 et C : C3 G2 t2) issus du modèle PARAFAC du groupe G2 t2 et les spectres d'excitation et d'émission des composants du modèle PARAFAC à deux composants des fractions de référence (C1 ref et C2 ref) et celui du BaP pur.

Tableau V-8 Valeur des coefficients de similarité r_c des spectres d'excitation et d'émission des fluorophores issus du groupe G2 t2 avec un modèle PARAFAC à 3 composants (C1 G2 t2, C2 G2 t2 et C3 G2 t2) avec les composants de référence issus du modèle PARAFAC à deux composants (C1 ref et C2 ref) et ceux du BaP pur.

Excitation	C1 G2 t2	C2 G2 t2	C3 G2 t2
C1 ref	0,913		
C2 ref		0,972	
BaP pur			0,805

Émission	C1 G2 t2	C2 G2 t2	C3 G2 t2
C1 ref	0,782		
C2 ref		0,956	
BaP pur			0,977

Dans les trois fractions, les variations des pseudo-concentrations (Figure V-23) sont liées à la concentration en carbone organique dissous de la matière organique pour les trois composants C1 G2 t1, C2 G2 t2 et C3 G2 t2 dans les trois fractions. On constate que les pseudo-concentrations des trois fluorophores ont presque la même augmentation avec l'élévation de COD dans chaque fraction sauf pour C2 G2 t2 dans AF qui augmente plus lentement que C1 G2 t2 et C3 G2 t2.

Pour la fraction AH on constate que les trois fluorophores ont des concentrations très proches.

Les valeurs maximales des pseudo-concentrations sont aux alentours de 2500, 4500 et 470 (u.a.) pour SH, AF et AH respectivement.

La solubilisation du BaP (C3 G2 t2) est lié à la quantité de matière organique dans les trois fractions.

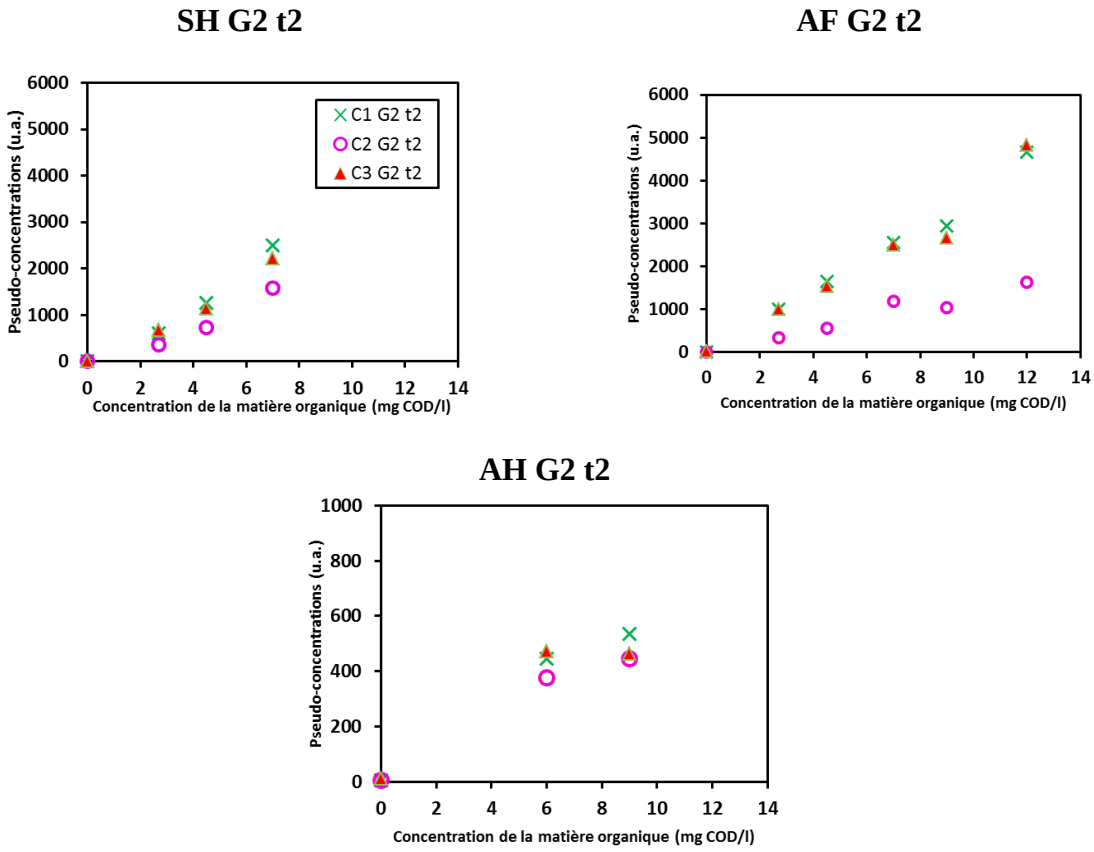


Figure V-23 Pseudo-concentrations des fluorophores présents dans les échantillons du groupe G2 t2.

V.4.2.3. Groupe G2 t3

Les spectres d'excitation et d'émission résultants du modèle PARAFAC à trois composants (CorConDia 66,5%) du groupe G2 t3 sont représentés dans la figure V-24.

Les couples des longueurs d'ondes d'excitation et d'émission de chaque fluorophore sont les suivants :

- C1 G2 t3 (λex/λem) : 350/468 nm
- C2 G2 t3 (λex/λem) : 450/(495)527 nm
- C3 G2 t3 (λex/λem) : 340/411(426) nm

Ces trois composants sont similaires à ceux observés pour G2 t1 et G2 t2.

Les comparaisons des spectres d'excitation et d'émission de fluorescence des composants obtenus avec ceux de référence et du BaP pour évaluer les changements spectraux sont effectuées par superposition des spectres (Figure V-25) et par le calcul des coefficients de similarité r_c (Tableau V-9). Ces comparaisons spectrales ont souligné des modifications identiques à celles subies par les composants des groupes G2 t1 et G2 t2.

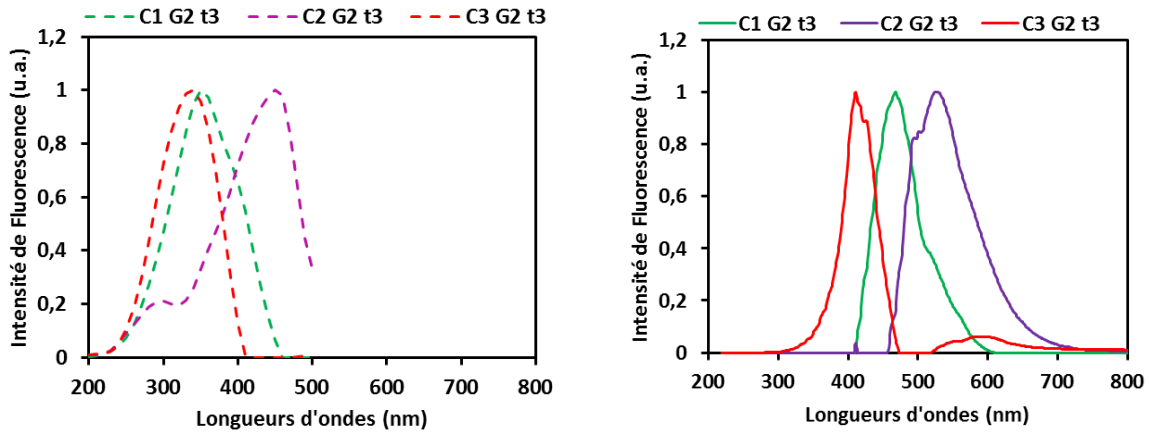


Figure V-24 Spectres d'excitation (tirets) et d'émission (ligne continue) de fluorescence des composés issus du modèle PARAFAC à 3 composants du groupe G2 t3 t1 (voir Annexe B figure A.B.6 pour les MEEFs des fluorophores).

La variation des pseudo-concentrations des trois fluorophores en fonction de la teneur de la matière organique en COD (Figure V-26) a montré que cette variation dépend de la nature de la fraction physique du sol. En effet dans SH, la pseudo-concentration de ces trois fluorophores augmente linéairement avec l'élévation de la teneur en COD, de même pour les composants C1 G2 t2 et C3 G2 t2 dans la fraction AF tandis que les pseudo-concentrations de C2 G2 t2 augmentent moins fortement.

Pour la fraction AH, les variations des pseudo-concentrations sont très faibles et on constate que les pseudo-concentrations de C3 G2 t3 diminuent quand la teneur en COD augmente tandis que les pseudo-concentrations de C1 G2 t3 et C2 G2 t3 restent constantes.

Les valeurs maximales des pseudo-concentrations (Figure V-26) sont aux alentours de 2200, 4000 et 800 (u.a.) pour SH, AF et AH respectivement.

Dans ce groupe, la quantité de matière organique favorise la solubilisation du BaP dans SH et AF mais la défavorise dans AH.

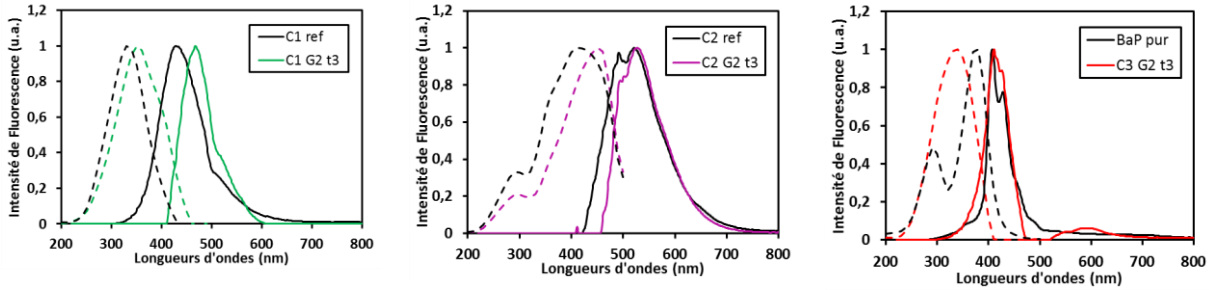


Figure V-25 Superposition des spectres d'excitation (tirets) et d'émission (ligne continue) des trois composants (C1 G2 t3, C2 G2 t3 et C3 G2 t3) issus du modèle PARAFAC du groupe G2 t3 et les spectres d'excitation et d'émission des composants du modèle PARAFAC à deux composants des fractions de référence (C1 ref et C2 ref) et celui du BaP pur.

Tableau V-9 Valeur des coefficients de similarité r_c des spectres d'excitation et d'émission des fluorophores issus du groupe 6 avec un modèle PARAFAC à 3 composants (C1, C2 et C3 du groupe G2 t3) avec les composants de référence issus du modèle PARAFAC à deux composants (C1 ref et C2 ref) et ceux du BaP pur.

Excitation	C1 G2 t3	C2 G2 t3	C3 G2 t3
C1 ref	0,915		
C2 ref		0,969	
BaP pur			0,804

Émission	C1 G2 t3	C2 G2 t3	C3 G2 t3
C1 ref	0,773		
C2 ref		0,956	
BaP pur			0,976

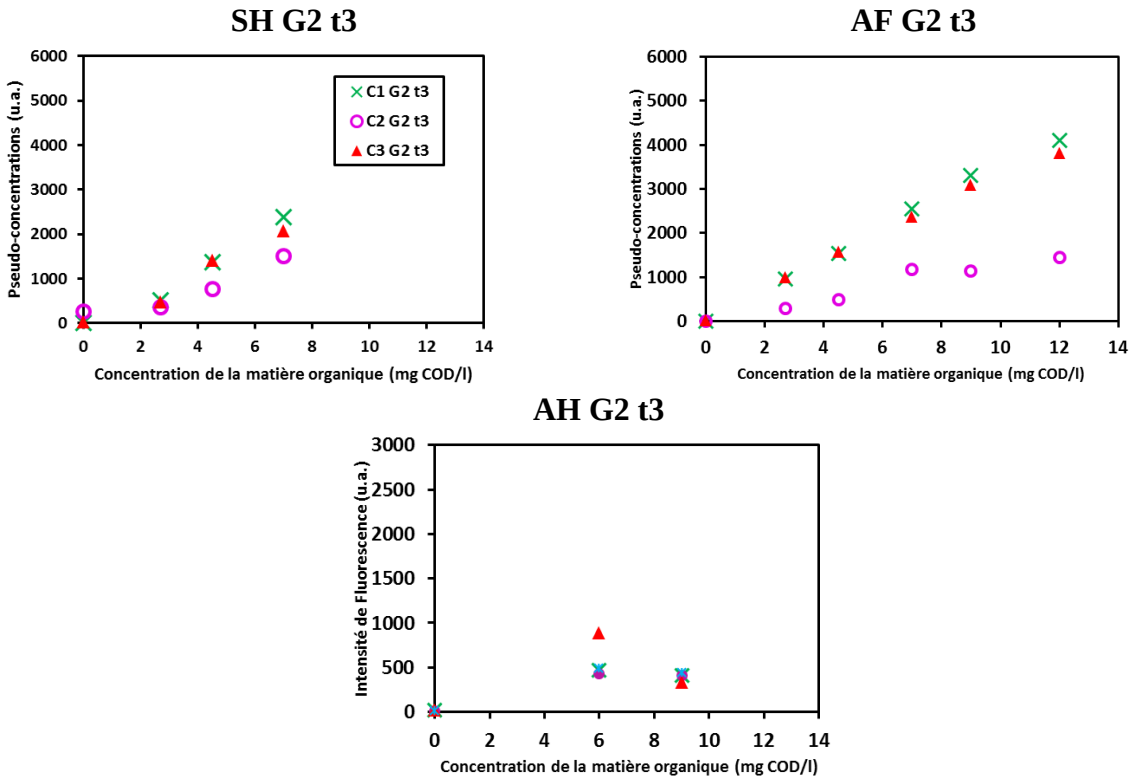


Figure V-26 Pseudo-concentrations des fluorophores présents dans les échantillons du groupe G2 t3.

V.4.2.4. Comparaison des groupes G2 t1, G2 t2 et G2 t3

Pour étudier l'évolution spectrales des fluorophores C1, C2 et C3 issus des groupes G2 t1, G2 t2 et G2 t3 en fonction du temps, on a superposé les spectres d'excitation et d'émission de fluorescence (Figure V-27). On constate que les spectres des trois composants sont parfaitement constants dans le temps et il n'existe aucune modification spectrale. Les variations des pseudo-concentrations présentées dans la figure V-28 montrent que les composants dans les fractions SH, AF et AH présentent de très légères variations avec le temps.

Dans ces groupes tous les composants sont liés à l'augmentation de la quantité de la matière organique quel que soit le temps sauf le composant C3 dans AH qui diminue. La solubilisation du BaP (C3) est plus élevée dans la fraction AF que dans SH et AH.

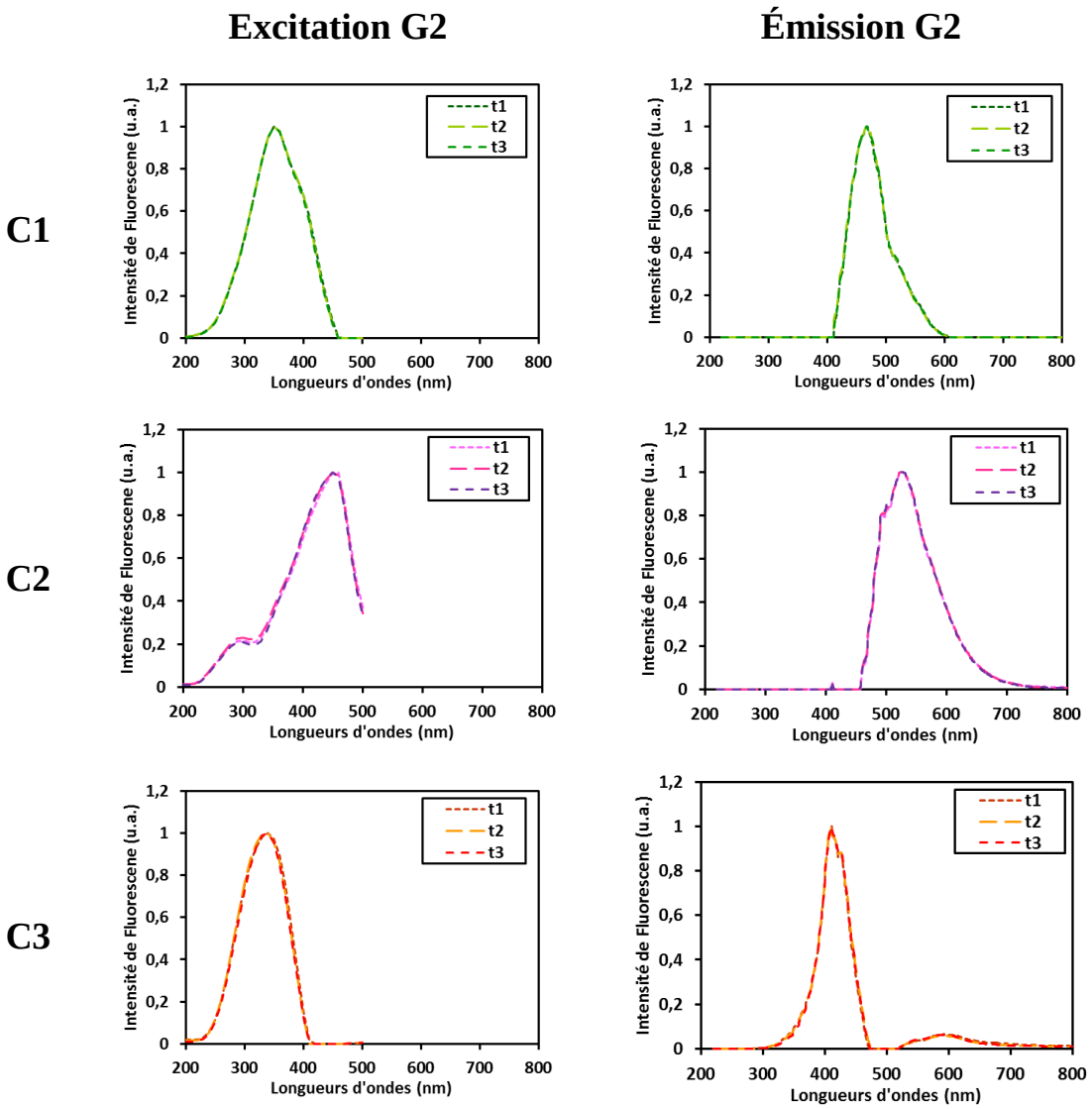


Figure V-27 Superposition des spectres d'excitation et d'émission des composants C1, C2 et C3 des groupes G2 t1, G2 t2 et G2 t3.

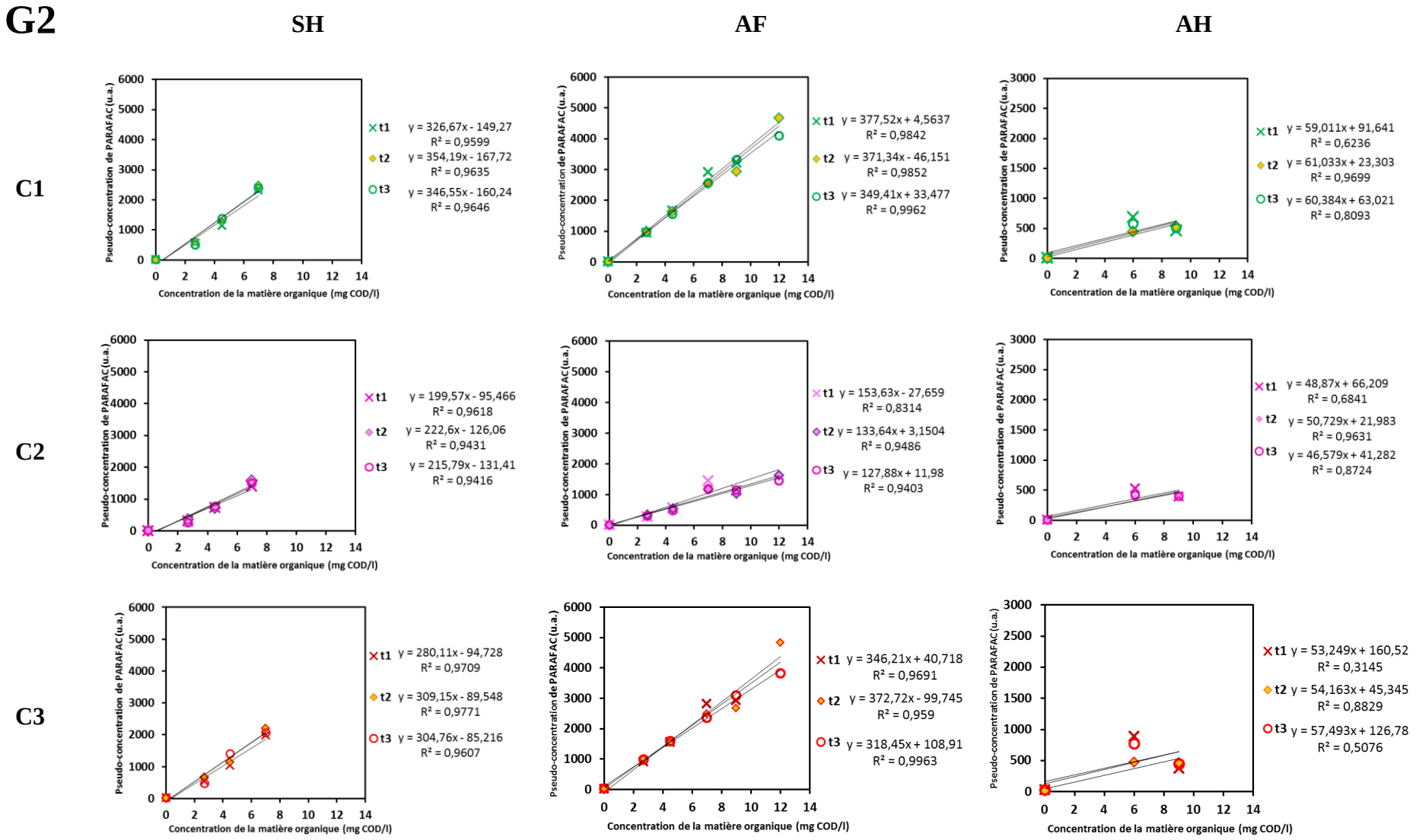


Figure V-28 Comparaison des pseudo-concentrations des trois composants issus des modèles PARAFAC des groupes G2 t1, G2 t2 et G2 t3.

V.4.3. Groupe G3

V.4.3.1. Groupe G3 t1

Le modèle PARAFAC à 3 composants appliqués au groupe G3 t1 a un CorConDia de 66,102 %. Les spectres d'excitation et d'émission de fluorescence des trois composants fluorescents présents dans les échantillons des trois fractions testées sont présentés dans la figure V-29.

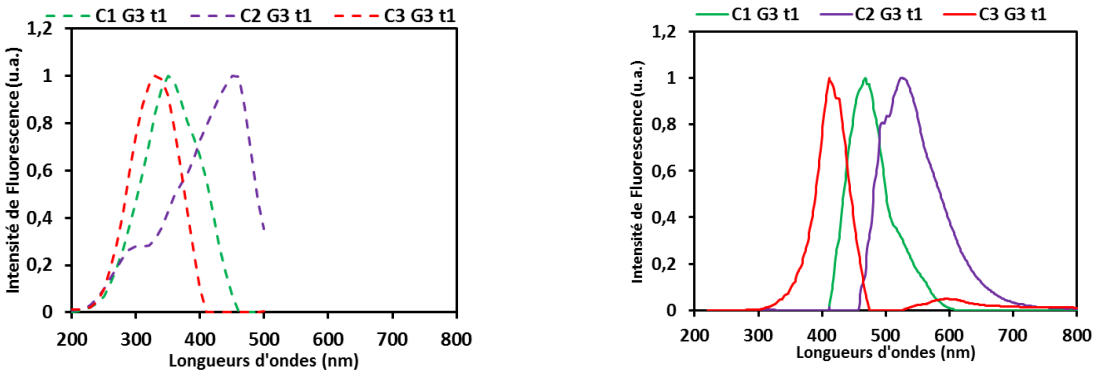


Figure V-29 Spectres d'excitation (tirets) et d'émission (ligne continue) de fluorescence des composés issus du modèle PARAFAC à 3 composants du groupe G3 t1 t1 (voir Annexe B figure A.B.7 pour les MEEFs des fluorophores).

Les couples des longueurs d'ondes d'excitation et d'émission de chaque fluorophore sont les suivants :

- C1 G3 t1 (λex/λem) = 350/468 nm
- C2 G3 t1 (λex/λem) = (300)450/(495)525 nm
- C3 G3 t1 (λex/λem) = 330/411(425) nm

Les comparaisons des spectres d'excitation et d'émission de fluorescence des composants obtenus avec ceux de référence et du BaP pour évaluer les similarités spectrales sont effectuées par superposition des spectres (Figure V-30) et par le calcul des coefficients de similarité r_c (Tableau V-10). Ces comparaisons spectrales ont souligné des modifications identiques à celles subies par les composants des groupes G2 t1 et G2 t2 et G2 t3.

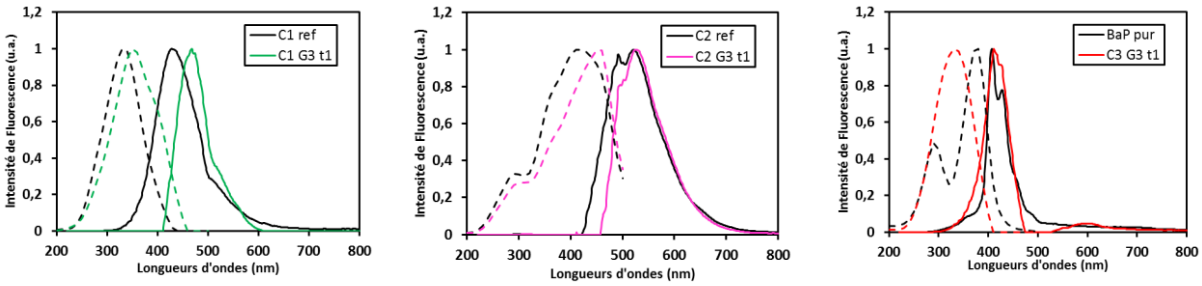


Figure V-30 Superposition des spectres d'excitation (tirets) et d'émission (ligne continue) des trois composants (C1 G3 t1, C2 G3 t1 et C3 G3 t1) issus du modèle PARAFAC du groupe G3 t1 et les spectres d'excitation et d'émission des composants du modèle PARAFAC à deux composants des fractions de référence (C1 ref et C2 ref) et celui du BaP pur.

Tableau V-10 Valeur des coefficients de similarité r_c des spectres d'excitation et d'émission des fluorophores issus du groupe G3 t1 avec un modèle PARAFAC à 3 composants (C1 G3 t1, C2 G3 t1 et C3 G3 t1) avec les composants de référence issus du modèle PARAFAC à deux composants (C1 ref et C2 ref) et ceux du BaP pur.

Excitation	C1 G3 t1	C2 G3 t1	C3 G3 t1
C1 ref	0,911		
C2 ref		0,980	
BaP pur			0,775

Émission	C1 G3 t1	C2 G3 t1	C3 G3 t1
C1 ref	0,770		
C2 ref		0,954	
BaP pur			0,973

D'après la figure V-30 et le tableau V-10, on peut constater que le composant 2 semble le moins modifié ; son spectre d'excitation présente pourtant un décalage vers le rouge (r_c = 0,98) et son spectre d'émission est plus étroit et présente un seul pic (r_c = 0,95). De même, le composant 1 présente un décalage vers le rouge (r_c = 0,77) et le composant C3 G3 t1 a un spectre d'excitation qui ne ressemble pas au BaP (r_c = 0,77) ; son spectre d'émission est modifié malgré le r_c élevé de 0,973. Ce qui souligne l'importance d'avoir une validation visuelle et numérique en parallèle.

Les pseudo-concentrations des trois fluorophores dans les fractions SH et AH sont très proches. Dans la fraction AF, on constate que les pseudo-concentrations de C2 G3 t1 sont inférieures à celles de C1 G3 t1 et C3 G3 t1 (Figure V-31). Les pseudo-concentrations de tous les composants augmentent avec la quantité de matière organique dans les trois fractions ainsi que la solubilité du BaP (C3).

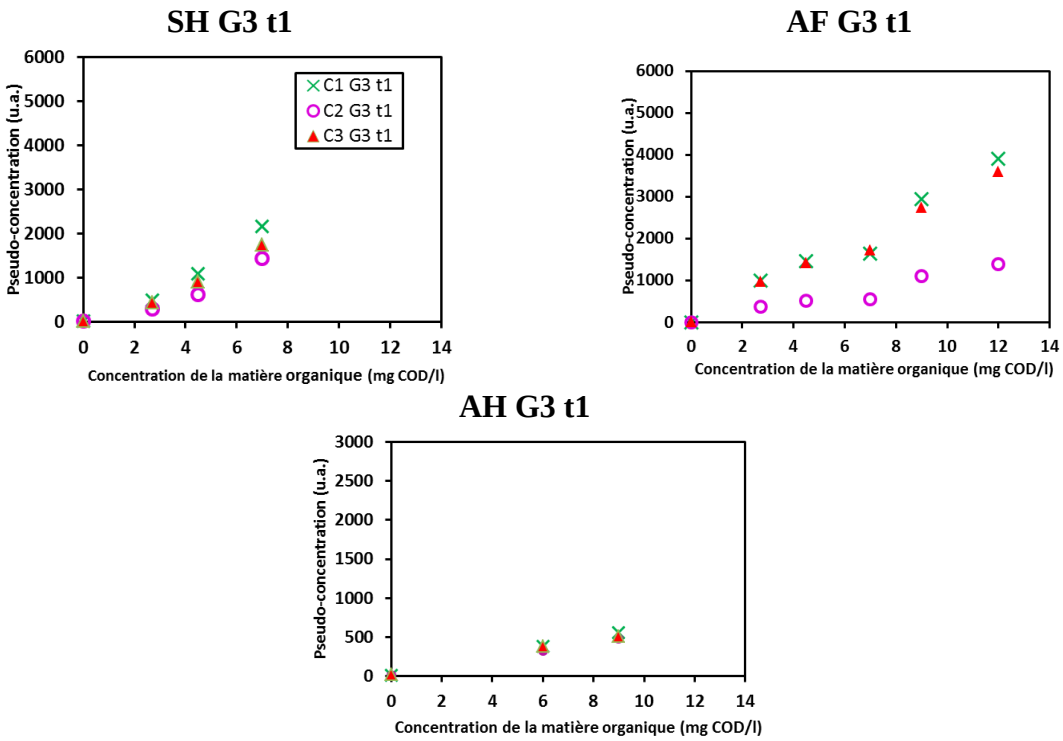


Figure V-31 Pseudo-concentrations des fluorophores présents dans les échantillons du groupe G3 t1.

V.4.3.2. Groupes G3 t2 et G3 t3

Le modèle PARAFAC à trois composants du groupe G3 t2 a un CorConDia de 64,267 % et celui du groupe G3 t3 est de 64,116 %. Les MEEFs des fluorophores sont présentés dans l'Annexe B figure A.B.8 et A.B.9.

Les composants résultants des modèles PARAFAC à trois composants des groupes G3 t2 et G3 t3 sont largement similaires à ceux du groupe G3 t1 d'après leurs spectres d'excitation et d'émission de fluorescence ainsi que leurs superpositions avec ceux de référence et du BaP pur ainsi que les valeurs des coefficients de similarité r_c et les pseudo-concentrations de chaque composant dans les échantillons. Tous ces résultats sont présentés dans l'Annexe C.

V.4.3.3. Comparaison des groupes G3 t1, G3 t2 et G3 t3

D'après la figure V-32 qui présente des superpositions des spectres d'excitation et d'émission de fluorescence des composants obtenus pour les trois groupes, on constate une grande similarité spectrale, ce qui montre qu'à faible concentration de BaP (godets à 10^{-7} M) il

n'existe pas de variations des formes ni de décalages des spectres des composants entre 24, 48 et 72 h.

Les variations des pseudo-concentrations des composants C1, C2 et C3 sont présentées dans les graphiques de la figure V-33. On constate que pour les fractions SH, AF et AH il n'existe pas différence de variations des pseudo-concentrations entre 24, 48 et 72 h. Dans ces groupes, tous les composants montrent une augmentation linéaire avec la quantité de matière organique quel que soit le temps. La solubilisation du BaP (C3) est plus élevée dans la fraction AF que dans les fractions SH et AH.

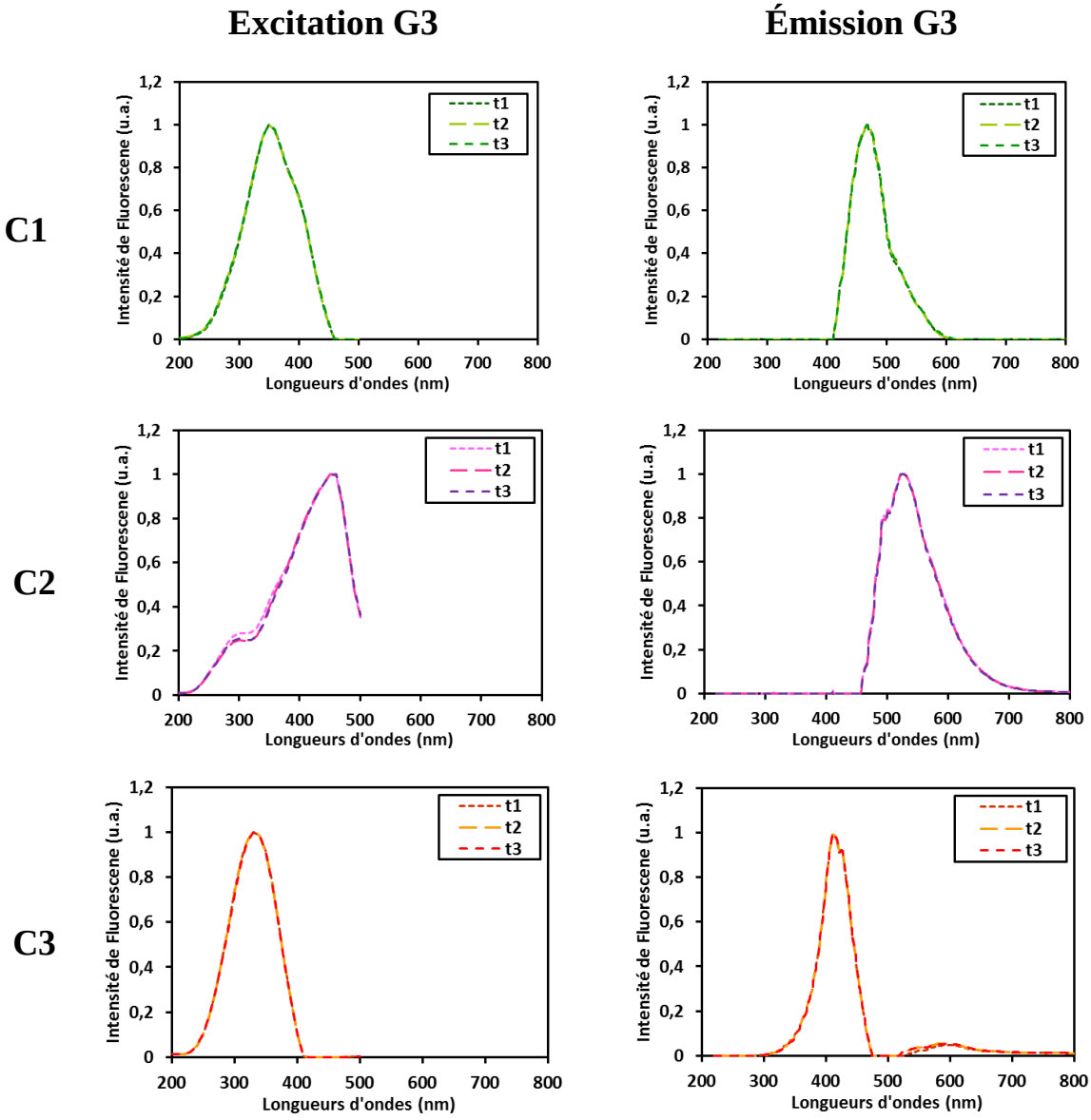


Figure V-32 Superposition des spectres d'excitation et d'émission des composants C1, C2 et C3 des groupes G3 t1, G3 t2 et G3 t3.

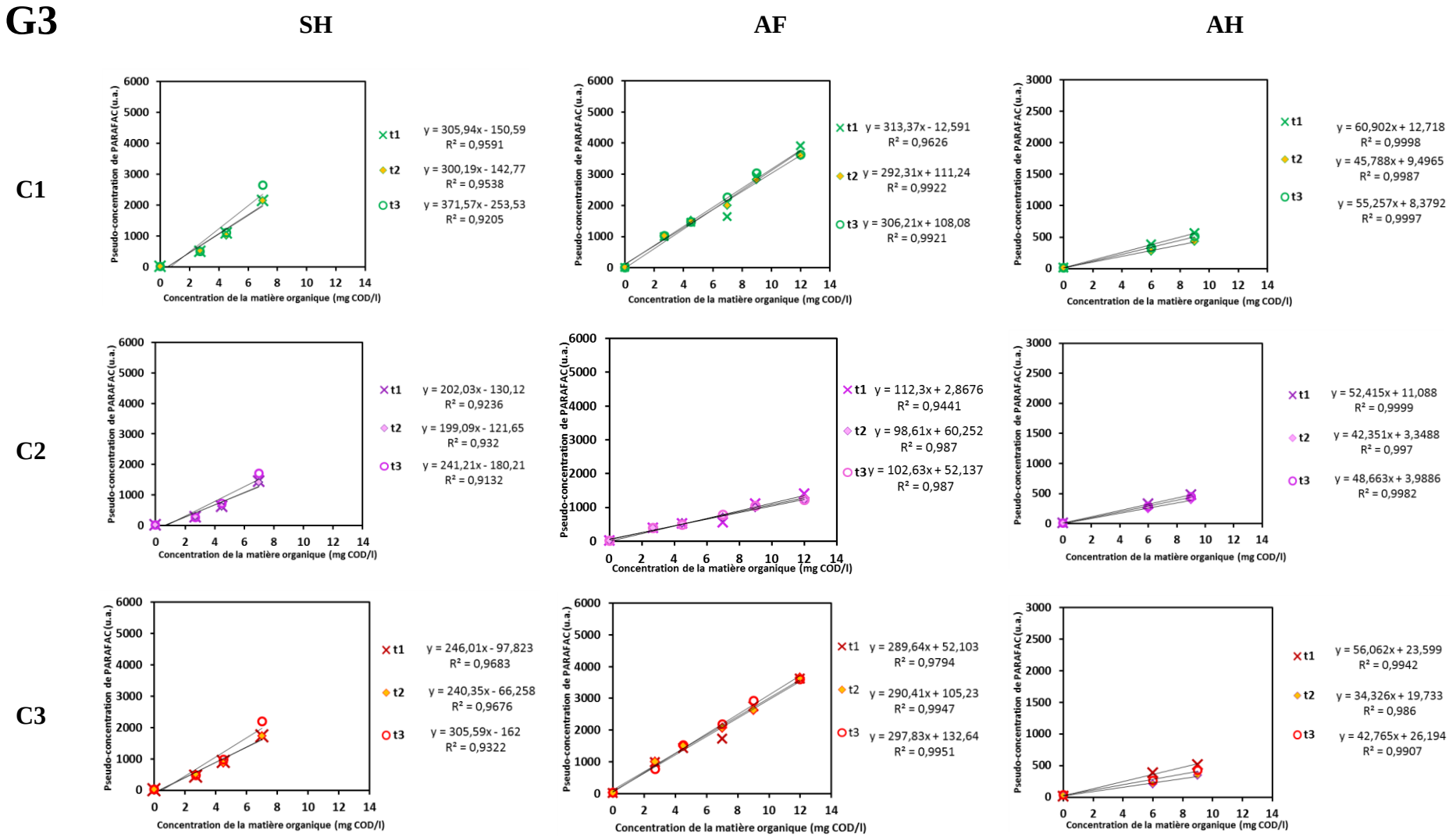


Figure V-33 Comparaison des pseudo-concentrations des trois composants issus des modèles PARAFAC des groupes G3 t1, G3 t2 et G3 t3.

V.4.4. Variation de la concentration de BaP

V.4.4.1. Comparaison des groupes G1 t1, G2 t1 et G3 t1 - 24 h d'agitation

Les groupes G1, G2 et G3 comprennent des échantillons qui ont différentes concentrations de BaP. Le groupe G1 comprend les godets qui sont à une concentration de BaP 10^{-4} M, G2 à 10^{-5} M et G3 à 10^{-7} M. Les caractéristiques spectrales des trois composants de ces trois groupes de concentrations différentes en BaP sont comparées au même temps de 24 h (t1). On constate qu'au temps t1 de 24 h, les spectres des composants des groupes G2 et G3 sont parfaitement similaires. Les composants du groupe G1 ne partagent pas cette similitude de formes spectrales et on observe un décalage vers le bleu pour les spectres des composants C1 et C2. Le composant C3 du groupe G1 est le seul à avoir une grande similarité avec le spectre du BaP pur (Figure V-34).

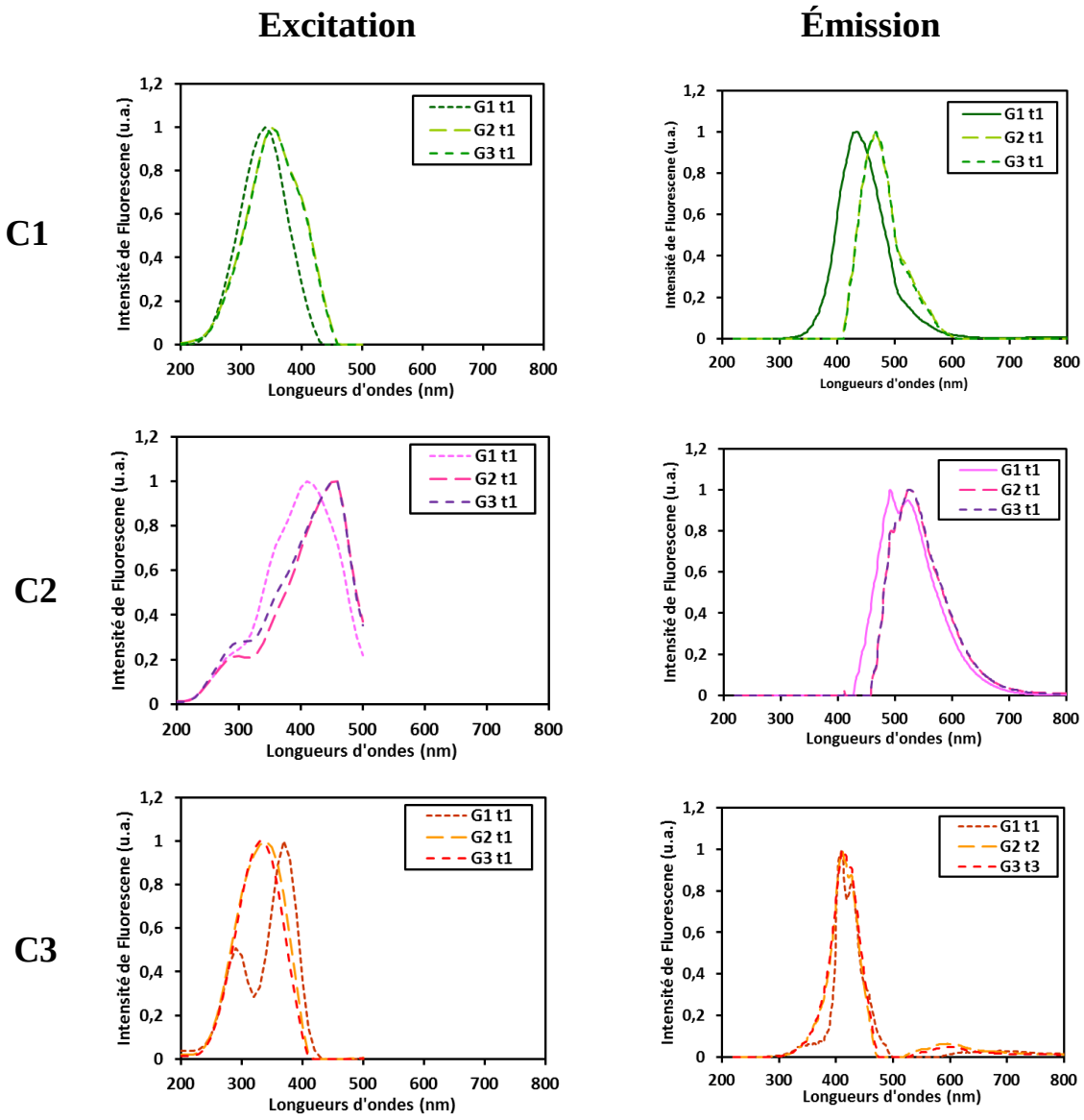


Figure V-34 Superposition des spectres d'excitation et d'émission de fluorescence des composants résultants de PARAFAC des groupes G1 t1, G2 t1 et G3 t1.

V.4.4.2. Comparaisons des groupes G1 t2, G2 t2 et G3 t2 – 48 h d'agitation

Les spectres d'excitation et d'émission de fluorescence des trois composants des groupes G1 t2, G2 t2 et G3 t2 ont été comparés en superposant leurs spectres respectifs (Figure V-35). À 48 h (t2), on observe que les spectres des composants présents dans les groupes G2 t2 et G3 t2 sont aussi parfaitement identiques. Le groupe G1 se distingue par des

composants C1 et C2 qui ont des spectres décalés vers le bleu et le composant C3 qui est assimilé au BaP pur.

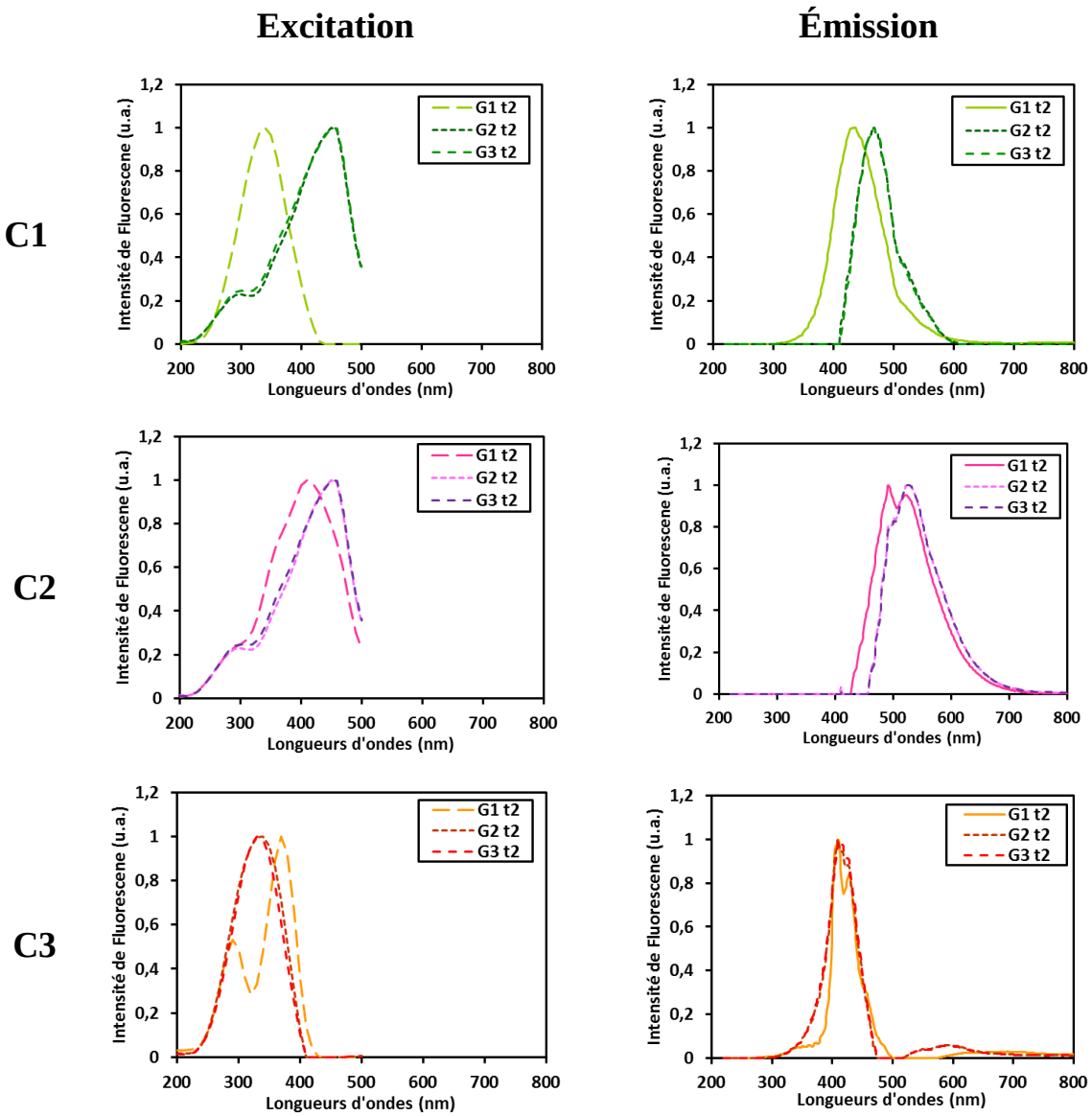


Figure V-35 Superposition des spectres d'excitation et d'émission de fluorescence des composants résultants de PARAFAC des groupes G1 t2, G2 t2 et G3 t2.

V.4.4.3. Comparaison des groupes G1 t3, G2 t3 et G3 t3 – 72 h d'agitation

Les composants des trois groupes G1 t3, G2 t3 et G3 t3 ont été comparés en superposant leurs spectres d'excitation et d'émission (Figure V-36). À 72h (t3), on constate que les spectres des trois composants des trois groupes G1 t3, G2 t3 et G3 t3 sont tous

parfaitement superposés. Notons que les spectres de C3 ne caractérisent plus la fluorescence du BaP pur.

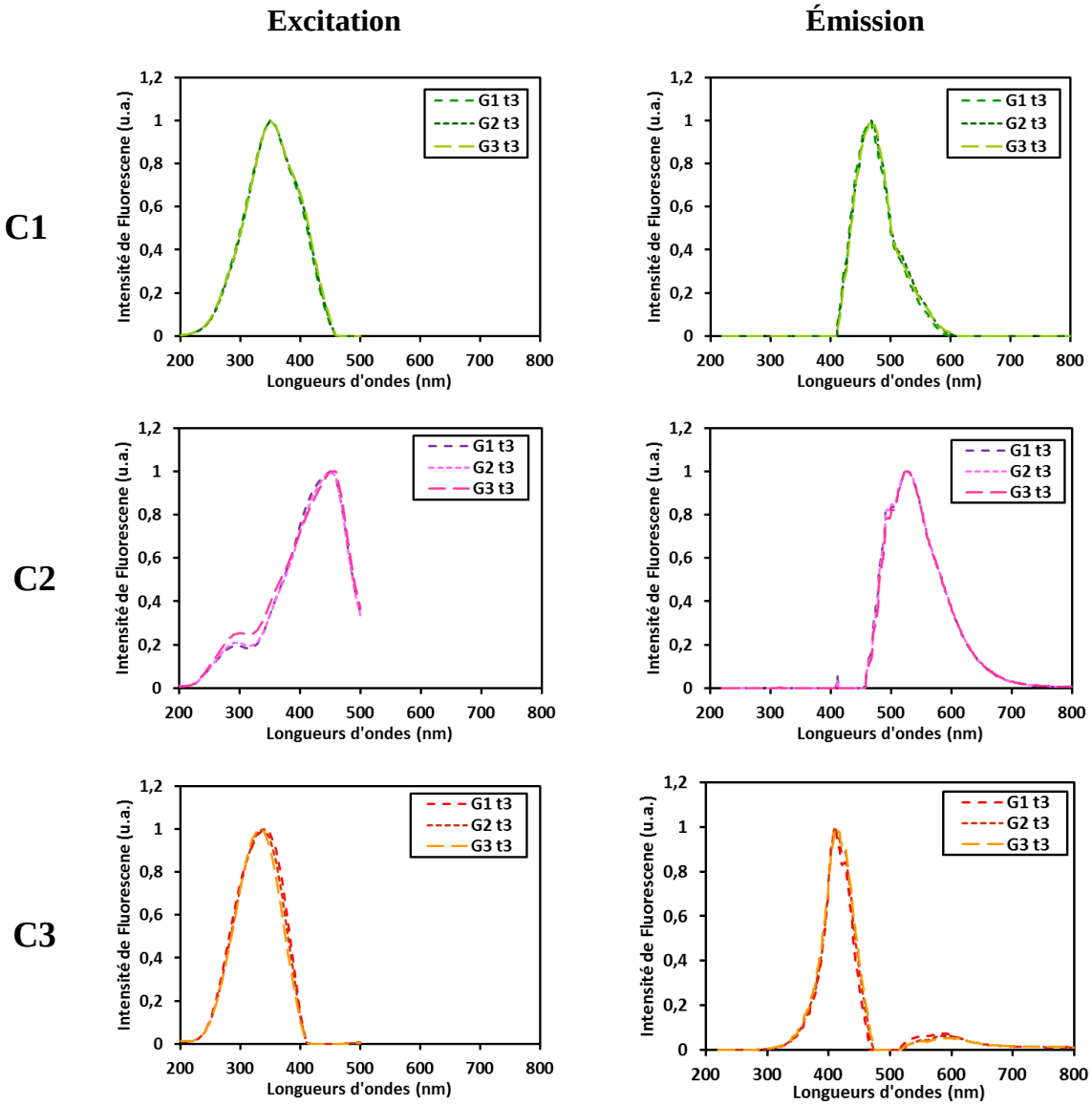


Figure V-36 Superposition des spectres d'excitation et d'émission de fluorescence des composants résultants de PARAFAC des groupes G1 t3, G2 t3 et G3 t3.

En conclusion, on constate que la concentration de BaP dans les godets et la durée d'agitation influencent sur les composants trouvés par PARAFAC. Les composants déterminés avec BaP à 10^{-4} M sont différents de ceux définis avec BaP à 10^{-5} M et 10^{-7} M pour 24 et 48h mais deviennent identiques à ceux trouvés pour BaP à 10^{-5} M et 10^{-7} M à 72h. A cette concentration (BaP 10^{-4} M), on retrouve les caractéristiques spectrales du BaP dans le composant C3 à 24 et 48h mais pas à 72h.

Pour les concentrations du BaP à 10^{-5} et 10^{-7} M, le composant C3 présente des déformations par rapport au spectre du BaP pur à 24, 48 et 72h. La concentration de BaP et le temps d'agitation doivent avoir des implications sur les modifications moléculaires de la matière organique.

V.5. Résultats des modèles PARAFAC à 4 composants

V.5.1. Groupe G1

V.5.1.1. Groupe G1 t1

Les spectres d'excitation et d'émission de fluorescence des fluorophores résultants du modèle PARAFAC à 4 composants sont présentés dans la figure V-37. Malgré le bas CorConDia (24,654%), les 4 fluorophores résultants ressemblent à ceux des références. Les couples des longueurs d'ondes d'excitation et d'émission de chaque fluorophore sont les suivants :

- C1 G1 t1 $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$: 330/434 nm
- C2 G1 t1 $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$: (280)460/(494)529 nm
- C3 G1 t1 $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$: 290-370/410-428 nm
- C4 G1 t1 $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$: 380/475 nm

D'après la superposition des spectres d'excitation et d'émission de ces fluorophores avec ceux de référence (résultant du modèle PARAFAC à 3 composants des fractions de référence) et ceux du BaP pur (Figure V-38) une grande similitude des propriétés spectrales apparaît. Ce modèle à 4 composants ne peut être validé faute de valeur faible de CorConDia. Les pseudo-concentrations des fluorophores de ce groupe sont présentées dans Annexe D (Figure A.D.1)

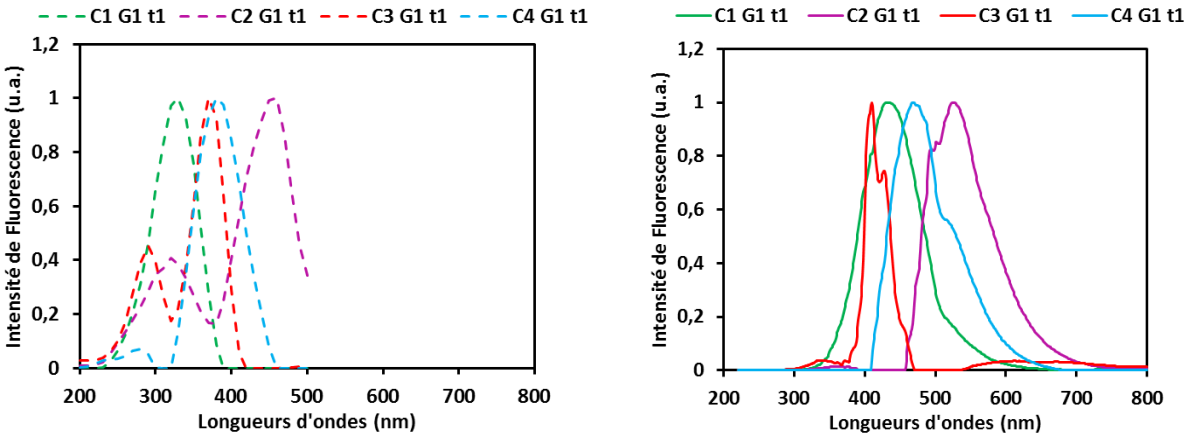


Figure V-37 Spectres d'excitation (tirets) et d'émission (ligne continue) de fluorescence des composés issus du modèle PARAFAC à 4 composants du groupe G1 t1.

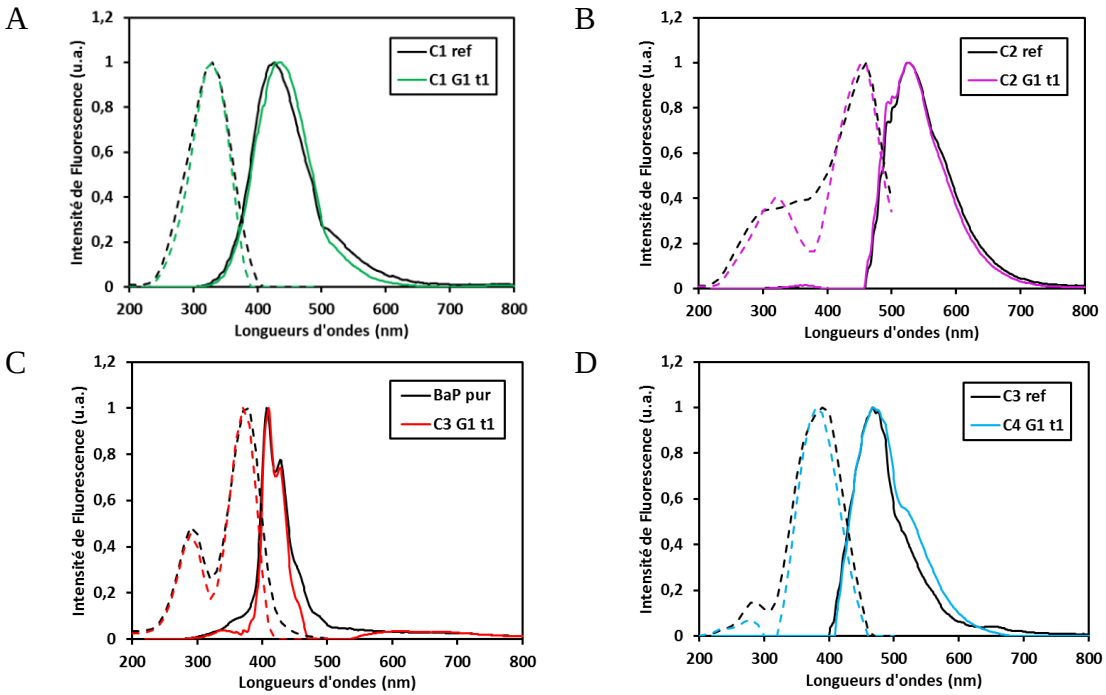


Figure V-38 Superposition des spectres d'excitation (tiret) et d'émission (ligne continue) des quatre composants (A :C1 G1 t1, B : C2 G1 t1, C : C3 G1 t1 et D : C4 G1 t1) issus du modèle PARAFAC du groupe G1 t1 et les spectres d'excitation et d'émission des composants du modèle PARAFAC à trois composant des fractions de référence (C1 ref et C2 ref et C3 ref) et celui du BaP pur.

V.5.1.2. Groupe G1 t2

Le modèle PARAFAC à 4 composants du groupe G1 t2 a eu un CorConDia de 45,691%. Celui-ci est meilleur que celui du groupe G1 t1 (24,654%), mais reste bas pour la

validation du modèle. Les spectres d'excitation et d'émission de fluorescence des quatre composants ainsi obtenus sont présentés dans la figure V-39. Les longueurs d'ondes maximales des fluorophores de ces groupes sont largement similaires à ceux du groupe G1 t1 :

- C1 G1 t2 $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$: 330/433 nm
- C2 G1 t2 $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$: (320)460/(495)527 nm
- C3 G1 t2 $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$: (290)370/410-428 nm
- C4 G1 t2 $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$: 380/468 nm

Les superpositions de ces spectres avec ceux de référence (C1 ref, C2 ref et C3 ref, résultants du modèle PARAFAC à 3 composants des fractions de référence) et du BaP pur sont présentées dans la figure V-40. Une très grande similarité est observée entre les spectres résultants du modèles PARAFAC et ceux de références malgré le faible pourcentage de CorConDia. Les pseudo-concentrations des quatre composants sont présentées dans l'Annexe D figure A.D.2.

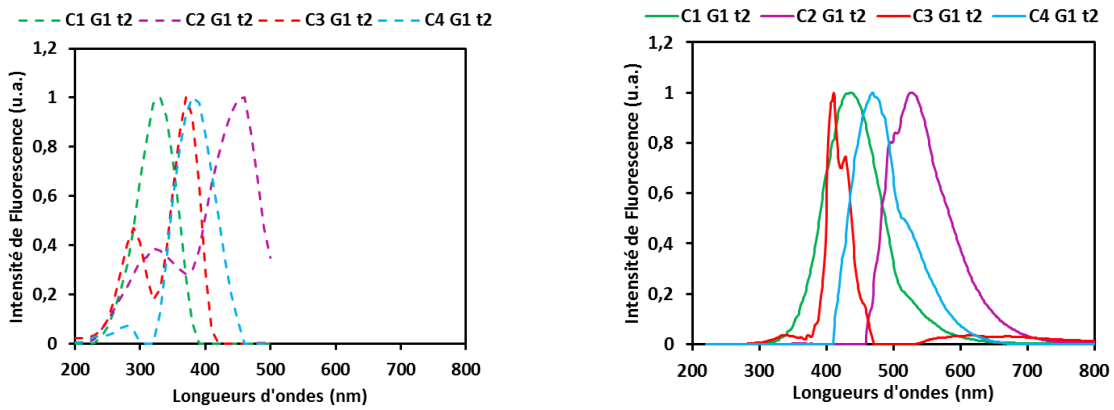


Figure V-39 Spectres d'excitation (tirets) et d'émission (ligne continue) de fluorescence des composés issus du modèle PARAFAC à 4 composants du groupe G1 t2.

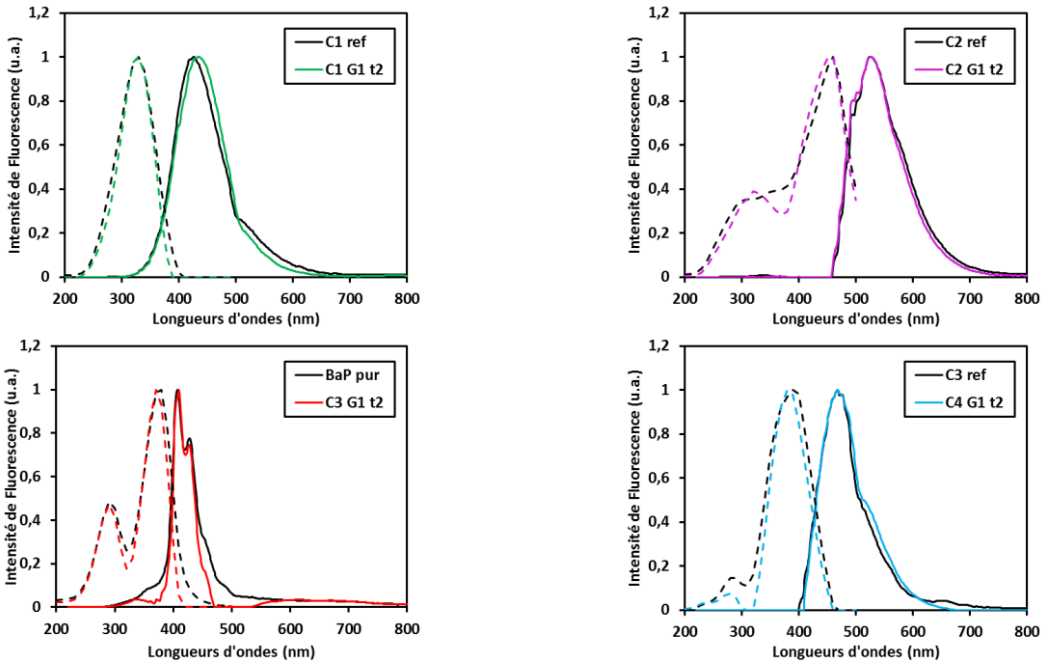


Figure V-40 Superposition des spectres d'excitation (tirets) et d'émission (ligne continue) des quatre composants (C1, C2, C3 et C4) issus du modèle PARAFAC du groupe G1 t2 et les spectres d'excitation et d'émission des composants du modèle PARAFAC à trois composant des fractions de référence (C1 ref et C2 ref et C3 ref) et celui du BaP pur.

V.5.1.3. Groupe G1 t3

Le modèle à 4 composants du groupe G1 t3 a eu un CorConDia faible de 41% mais on retrouve bien les caractéristiques spectrales des trois fluorophores présents dans les fractions du sol et un quatrième fluorophore qui ressemble à celui du BaP pur (Figure V-41). Les pseudo-concentrations de ces quatre fluorophores sont présentées dans l'Annexe D.

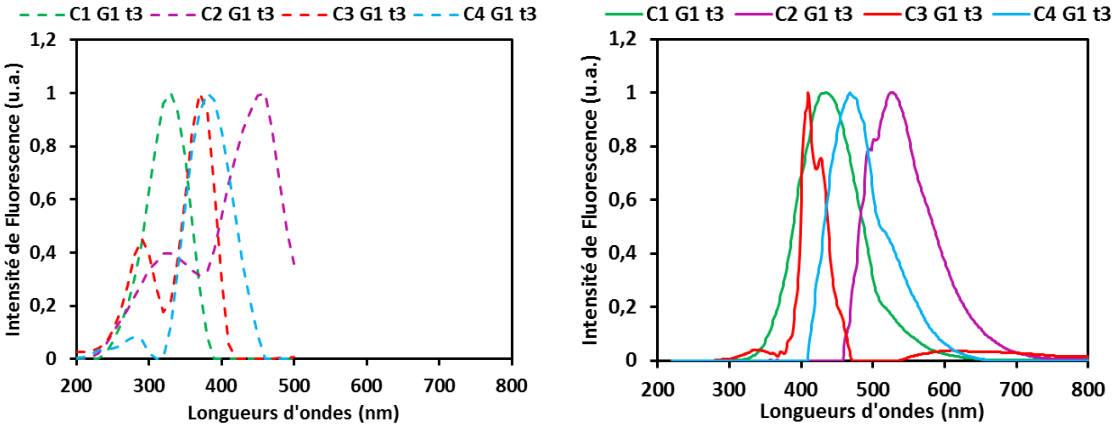


Figure V-41 Spectres d'excitation (tiret) et d'émission (ligne continue) de fluorescence des composés issus du modèle PARAFAC à 4 composants du groupe G1 t3.

V.5.1.4. Comparaison des groupes G1 t1 ; G1 t2 et G1 t3

On a procédé à une comparaison des spectres d'excitation et d'émission de fluorescence issus des modèles à quatre composants de PARAFAC des groupes G1 t1, G1 t2 et G1 t3. La superposition des spectres de ces composants montre qu'il n'y a pas de modifications spectrales et les fluorophores possèdent la même forme aux trois temps d'analyse (Figure V-42).

Il existe peu de variations des pseudo-concentrations aux différents temps de cinétique pour les composant de SH et AF qui présentent des pentes proches entre 24, 48 et 72h. Tandis que dans la fraction AH, les composants C1, C2, C3 et C3 C4 présentent les mêmes variations à 24 et 48 h qui diffèrent à 72 h (Figure V-43). Les composants montrent une augmentation linéaire avec la quantité de matière organique quel que soit le temps.

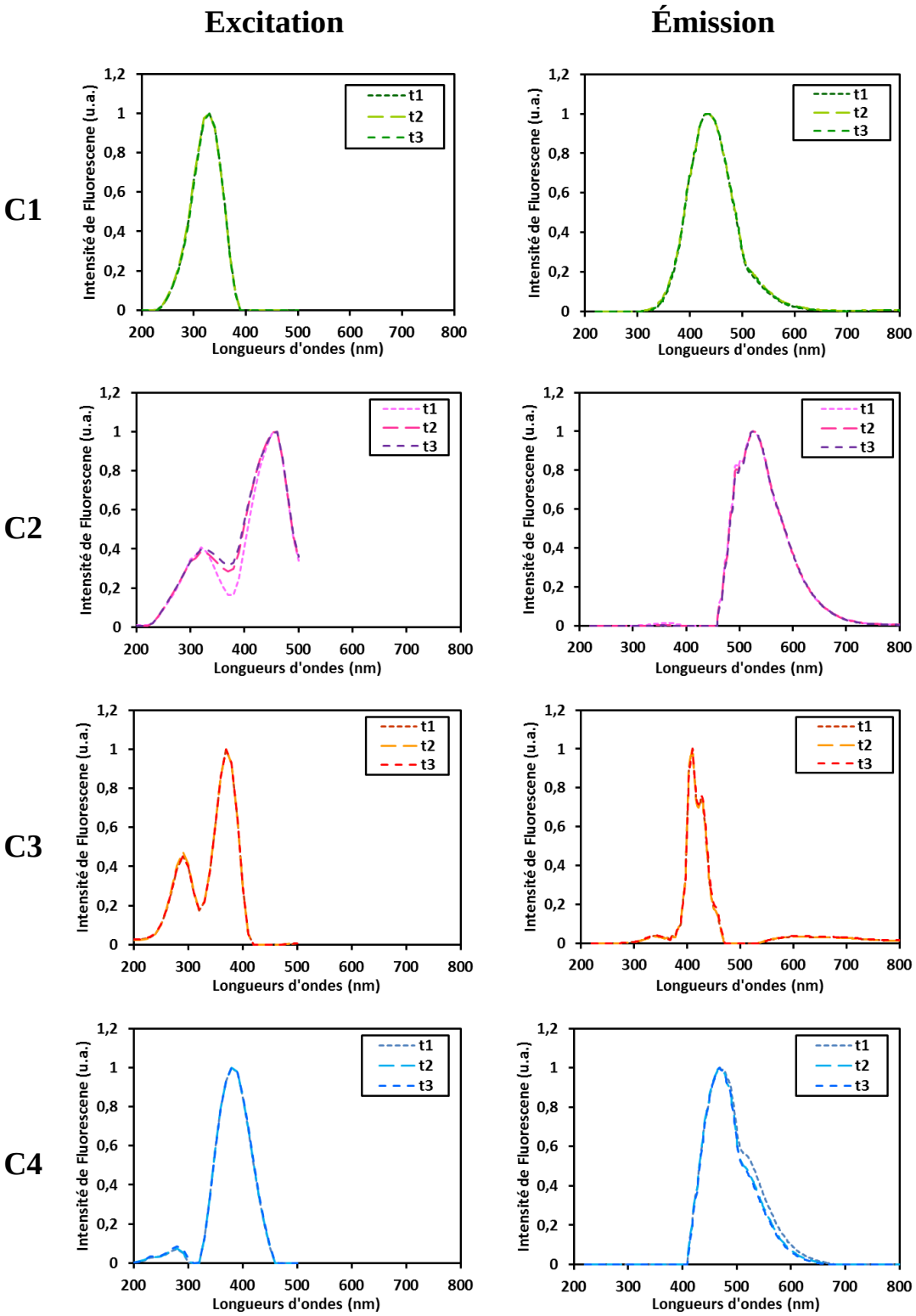


Figure V-42 Superposition des spectres d'excitation et d'émission des composants C1, C2, C3 et C4 des groupes G1 t1, G1 t2 et G1 t3 résultants des modèles PARAFAC à 4 composants.

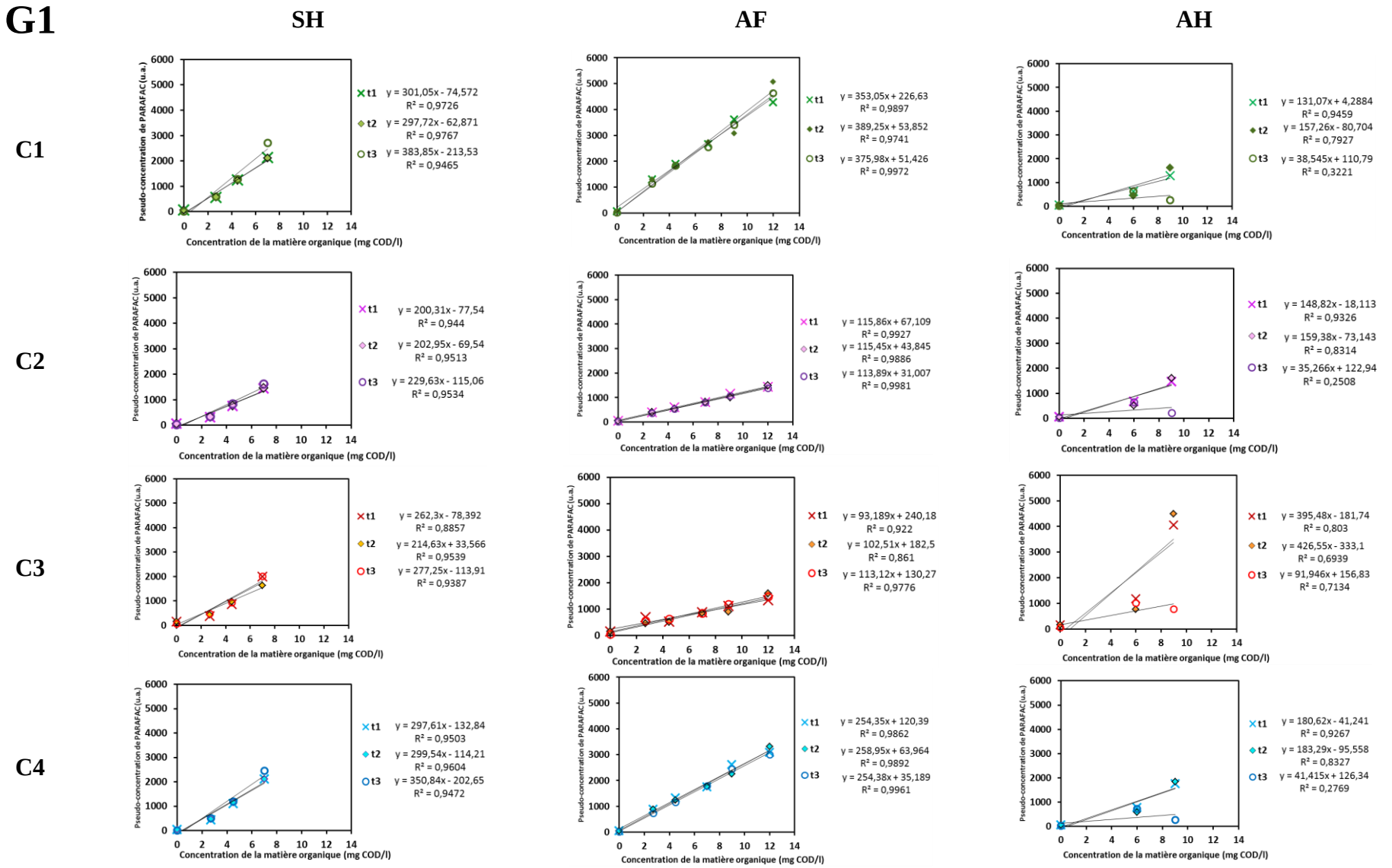


Figure V-43 Comparaison des pseudo-concentrations des composants issus des modèles PARAFAC à 4 composants des groupes G1 t1, G1 t2 et G1 t3.

V.5.1.5. Groupes G2 t1, G2 t2 et G2 t3

Les groupes G2 t1, t2 et t3 ont été traités par des modèles PARAFAC à quatre composants. Les spectres d'excitation et d'émission de fluorescence des composants résultants et leurs pseudo-concentrations sont présentés dans l'Annexe E. Une grande similarité a été constatée avec ceux de référence (Figure V- 44). Les CorConDia des modèles PARAFAC des groupes G2 t1, G2 t2 et G2 t3, ainsi que les longueurs d'onde des pics des 4 composants des groupes identifiés sont représentés dans le tableau V-11.

Les superpositions des spectres d'excitation et d'émission de fluorescence des composants issus de ces trois groupes sont identiques (Figure V-45). Les variations des pseudo-concentrations (Figure V-46) ont la même tendance pour tous les composants à tous les temps de cinétique avec quelques variations de pentes et les composants montrent une augmentation linéaire avec la quantité de matière organique quel que soit le temps.

Tableau V-11. CorConDia et longueurs d'onde λex / λem des composants identifiés par des modèles PARAFAC à 4 composants des groupes G2 t1, G2 t2 et G2 t3.

	G2 t1 (36,371%)	G2 t2 (39,656%)	G2 t3 (25,604%)
C1 (λex/λem) nm	330/436	330/433	330/435
C2 (λex/λem) nm	(280)460/(494)529	(320)460/(495)527	320-460/(495)527
C3 (λex/λem) nm	290-370/411(428)	(290)370/411-428	290-370/410-428
C4 (λex/λem) nm	380/475	380/468	390/476(517)

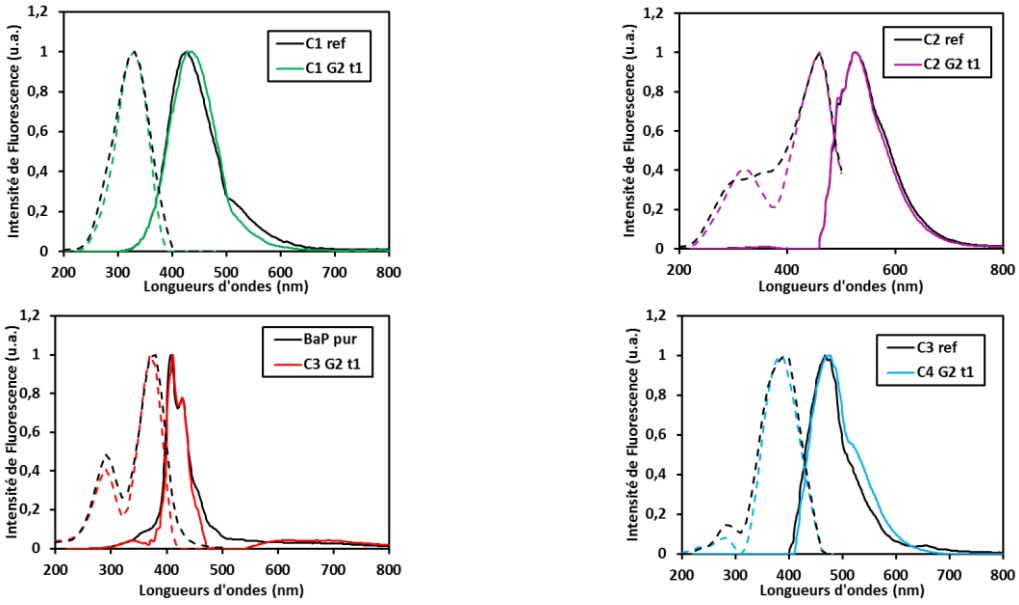


Figure V-44 Superposition des spectres d'excitation et d'émission de fluorescence des quatre composants résultants du modèle PARAFAC du groupe G2 t1 (exemple).

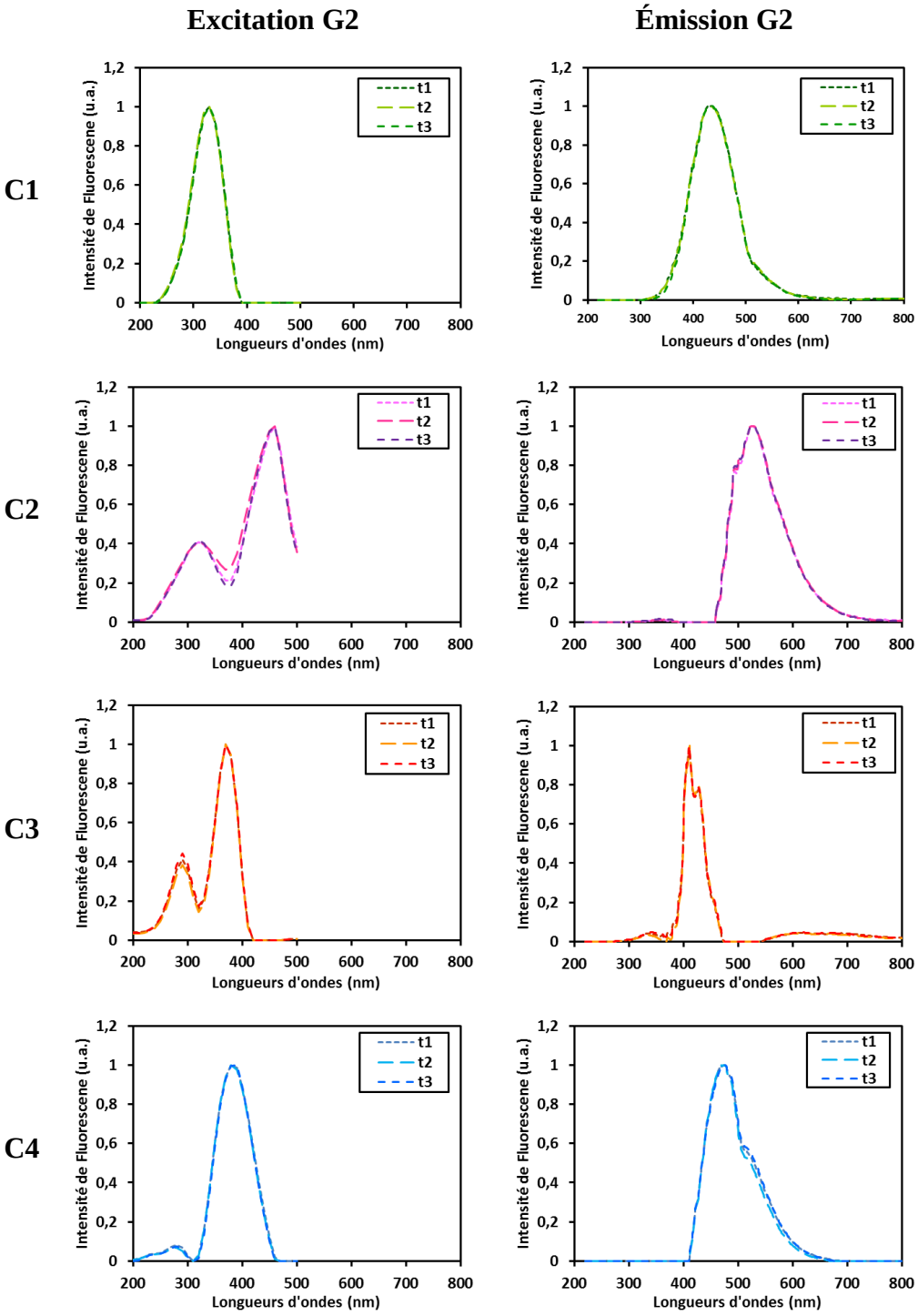


Figure V-45 Comparaison des spectres d'excitation et d'émission de fluorescence des 4 composants résultants des modèles PARAFAC des groupes G2 t1, G2 t2 et G2 t3.

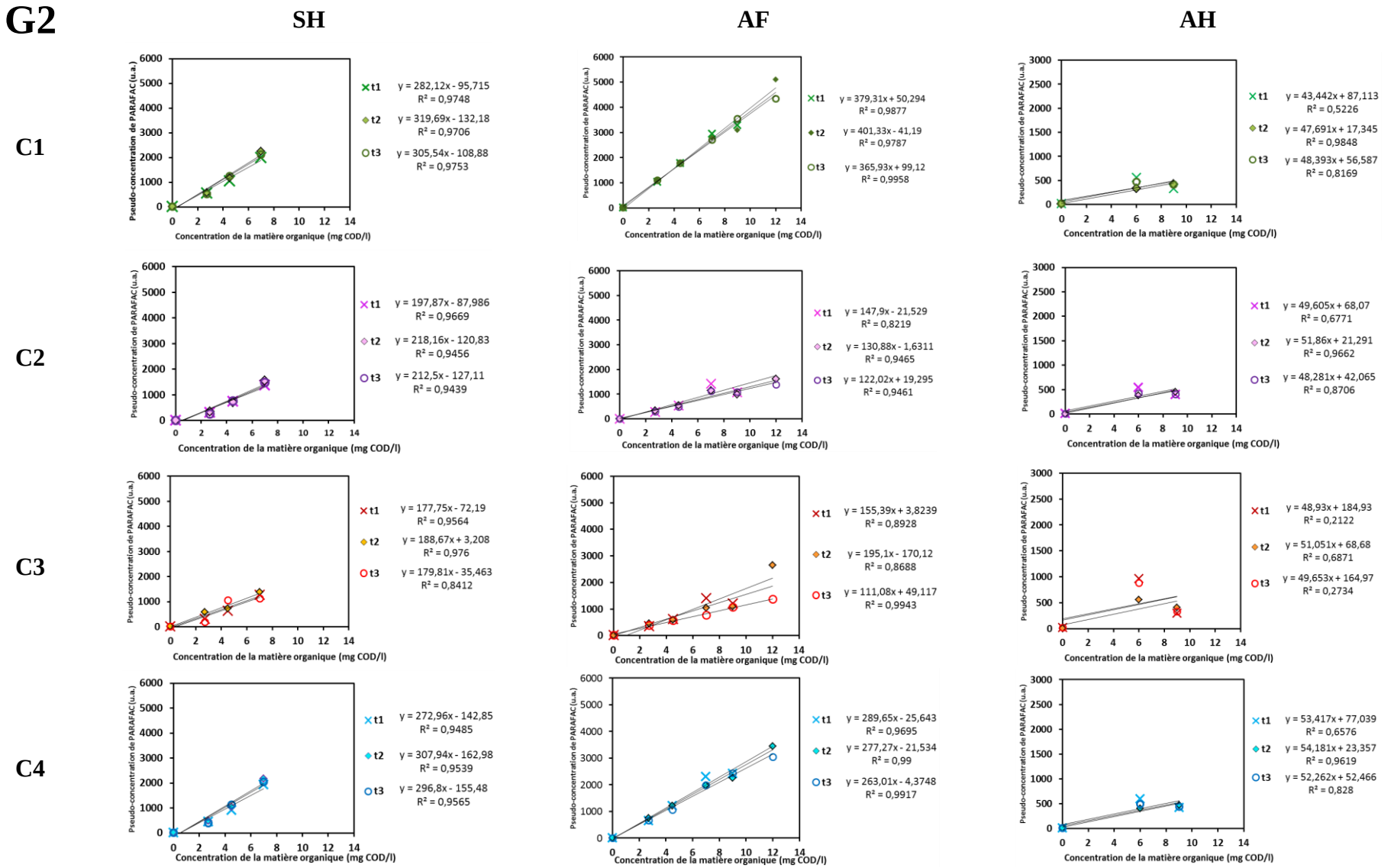


Figure V-46 Comparaison des pseudo-concentrations des composants issus des modèles PARAFAC à 4 composants des groupes G2 t1, G2 t2 et G2 t3.

V.5.1.6. Groupe G3 t1, G3 t2 et G3 t3

Les composants obtenus du traitement PARAFAC des groupes G3 t1, G3 t2 et G3 t3 sont très similaires. Les CorConDia des modèles ainsi que les longueurs d'ondes $\lambda ex/\lambda em$ des composants sont présentés dans le tableau V-12. Les spectres d'excitation et d'émission de fluorescence et les pseudo-concentrations des composants sont présentés dans l'Annexe F. Les composants montrent une évolution identique à G1 et G2.

Tableau V-12 CorConDia et longueurs d'ondes λex / λem des composants identifiés par des modèles PARAFAC à 4 composants de groupes G3 t1, G3 t2 et G3 t3.

	G3 t1 (33,404 %)	G3 t2 (27,758 %)	G3 t3 (21,633 %)
C1 (λex/λem) nm	330/437	330/436	330 / 437
C2 (λex/λem) nm	320- 460/526	320-460/526	320- 460/526
C3 (λex/λem) nm	290-370/410-428	290-370/ 410-428	290-370 /410-428
C4 (λex/λem) nm	390/468	390/468	390 / 468

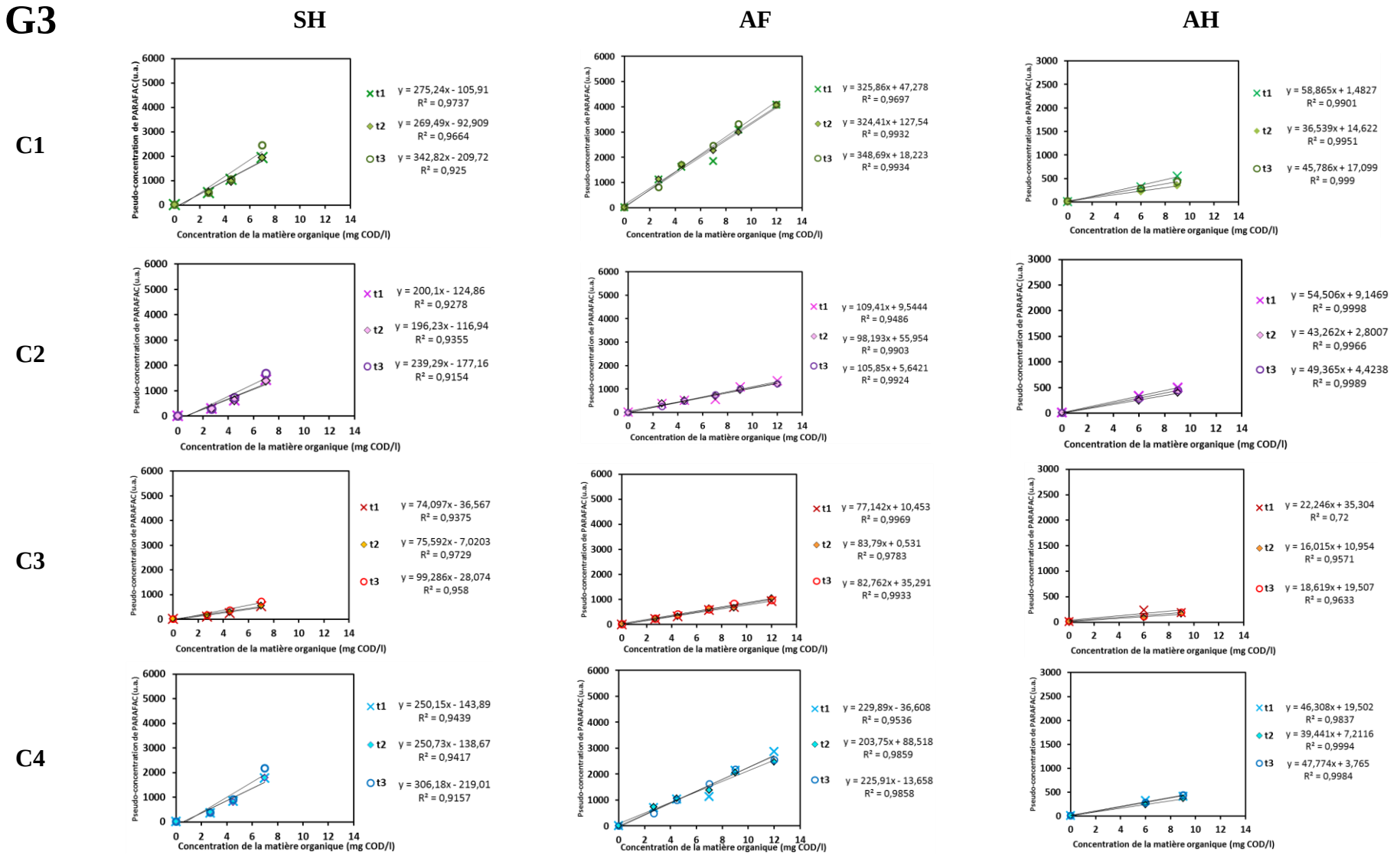


Figure V-47 Comparaison des pseudo-concentrations des composants issus des modèles PARAFAC à 4 composants des groupes G3 t1, G3 t2 et G3 t3.

V.5.1.7. Comparaison des deux modèles à 3 et 4 composants

Les modèles PARAFAC à trois composants des groupes testés ont tous des CorConDia plus élevés que ceux des modèles à quatre composants.

On constate que les spectres d'excitation et d'émission des composants obtenus par les modèles à quatre composants ne subissent pas de modifications spectrales au cours du temps avec les variations soit de la concentration du BaP ou soit de la matière organique dissoute, ce qui n'est pas le cas pour ceux obtenus par les modèles à trois composants. D'après le tableau V-13 on constate bien que pour les traitements à 4 composants le composant 1 ne se décale pas quels que soit la concentration de BaP et le temps de cinétique, alors que dans les modèles à trois composants, on constate que pour le groupe G1, avec la concentration BaP de 10^{-4} M, les spectres d'excitation et d'émission de fluorescence du composant C1 sont décalés entre t1 et t2 d'une part et t3 d'autre part.

Tableau V-13 Longueurs d'ondes λex /λem des composants C1 dans tous les groupes testés en fonction des modèles PARAFAC.

Composants	λex /λem (nm)	Modèles PARAFAC
C1 G1 t1 C1 G1 t2	340/434 (±1)	3 composants
C1 G1 t3 C1 G2 t1 C1 G2 t2 C1 G2 t3 C1 G3 t1 C1 G3 t2 C1 G3 t3	350/467 (±1)	3 composants
C1 G1 t1 C1 G1 t2 C1 G1 t3 C1 G2 t1 C1 G2 t2 C1 G2 t3 C1 G3 t1 C1 G3 t2 C1 G3 t3	330/434 (±1)	4 composants

Pour le composant C2, on retrouve que les positions des spectres de celui-ci dépendent aussi du modèle, de la concentration de BaP et même du temps de cinétique. En effet, pour les

modèles à 3 composants, les propriétés spectrales du composant C2 G1 sont identiques à t1 et t2 alors qu'à t3, on observe un décalage en excitation et en émission. Les groupes G2 et G3 ont des composants C2 identiques (Tableau V-14).

Avec un modèle à 4 composants, les composants C2 des groupes G1 t1, G1 t2 et G1 t3 sont identiques entre eux et à quelques nanomètres près par rapport aux autres longueurs d'ondes λex /λem des composants C2 des autres groupes obtenus par des modèles à 4 composants.

Tableau V-14 Longueurs d'ondes λex /λem des composants C2 dans tous les groupes testés en fonction des modèles PARAFAC.

Composants	λex /λem (nm)	Modèles PARAFAC
C2 G1 t1 C2 G1 t2	(290) 410 / (492) 522	3 composants
C2 G1 t3	(290) 450 / (494) 526	3 composants
C2 G2 t1 C2 G2 t2 C2 G2 t3 C2 G3 t1 C2 G3 t2 C2 G3 t3	(300) 460 / (494) 525	3 composants
C2 G1 t1 C2 G1 t2 C2 G1 t3	(320) 460 / (501) 526	4 composants
C2 G2 t1 C2 G2 t2 C2 G2 t3 C2 G3 t1 C2 G3 t1 C2 G3 t3	(320) 460 / (494) 525	4 composants

Le composant C3 identifié comme étant le BaP se trouve aux mêmes longueurs d'ondes maximales λex /λem pour les groupe G1 t1 et G1 t2 obtenus par un modèle à trois composants, et pour tous les groupes obtenus par des modèles à 4 composants.

Les groupes G1 t3 et G2 t1, G2 t2, G2 t3, G3 t1, G3 t2 et G3 t3 traités par des modèles à 3 composants ont des composants C3 décalés par rapport aux autres identifiés BaP mais ils sont identiques entre eux (Tableau V-15).

Quant au composant C4, il se trouve aux longueurs d'ondes maximales λex /λem de 380/468 nm dans tous les groupes.

Tableau V-15 Longueurs d'ondes λex /λem des composants C3 dans tous les groupes testés en fonction des modèles PARAFAC.

Composants	λex /λem (nm)	Modèles PARAFAC
C3 G1 t1 C3 G1 t2	290-370 / 410-428	3 composants
C3 G1 t3 C3 G2 t1 C3 G2 t2 C3 G2 t3 C3 G3 t1 C3 G3 t2 C3 G3 t3	340/410 (426)	3 composants
C3 G1 t1 C3 G1 t2 C3 G1 t3 C3 G2 t1 C3 G2 t2 C3 G2 t3 C3 G3 t1 C3 G3 t2 C3 G3 t3	290-370/410-427	4 composants

Chapitre VI. Comparaison des concentrations du BaP obtenues par la méthode HPLC et par la méthode MEEFs-PARAFAC

Pour compléter l'étude qualitative des mélanges SH, AF, AH avec BaP développée grâce à la méthode MEEF-PARAFAC, il est utile de prendre en compte aussi l'aspect quantitatif à partir des résultats obtenus pour le BaP. Les concentrations de BaP dans les différents échantillons présentés dans le chapitre V ont été déterminées en introduisant une gamme d'étalonnage de BaP dans l'eau dans chaque traitement PARAFAC (III-3). Dans le but de tester la validité des quantifications de BaP par la méthode MEEF-PARAFAC, tous les échantillons ont été également analysés par HPLC qui est la méthode conventionnelle de quantification des HAP (INERIS, 2006 ; Poster et al., 2006).

VI.1. Quantification du BaP dans les mélanges SH, AF, AH avec BaP par HPLC

VI.1.1. Étalonnage du BaP pur en HPLC

Une série de solutions de BaP dans l'eau purifiée a été préparée pour être analysée en HPLC avec les conditions définies dans Matériel et Méthodes (III-3). Sur les chromatogrammes de ces solutions, le pic du BaP a été repéré à un temps de rétention de 13,5 ± 0,3 min. La mesure de l'aire des pics a permis de tracer la gamme d'étalonnage suivante (Figure VI-1).

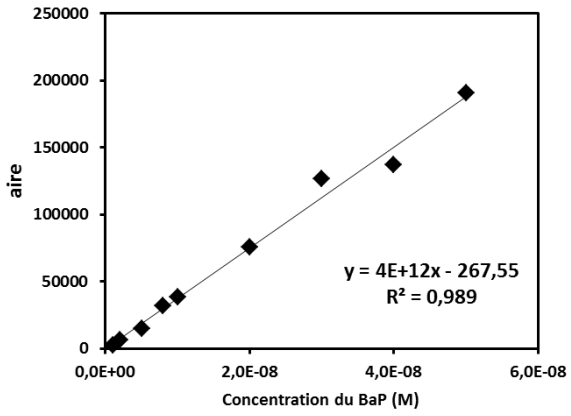


Figure VI-1 Gamme d'étalonnage du BaP pur dans l'eau purifiée par HPLC.

VI.1.2. Analyses des mélanges SH, AF, AH avec le BaP par HPLC

Tous les échantillons des groupes G1, G2 et G3 aux trois temps de cinétique (24, 48 et 72h) ont été aussi analysés par HPLC.

Sur les chromatogrammes, des pics sont apparus avant celui du BaP dans les différentes fractions (Tableau VI-1). Dans tous les échantillons, le BaP a un temps de rétention un peu plus court (t_{r3} = 12,82 ± 0,48 min) que dans les solutions pures de la gamme étalon (tr = 13,5 ± 0,3 min).

Un premier pic (t_{r1} = 3,32 ± 0,04 min) apparaît dans un seul échantillon de SH du groupe G3 et un seul échantillon de AF du groupe G2. Il est présent aussi dans la fraction AH pour les groupes G1 t1 et G1 t2 ainsi que dans un seul échantillon de G3 t2.

Un second pic (tr2 = 5,19 ± 0,09 min) est visible dans les groupes G1 et G2 de la fraction SH, dans un seul échantillon du groupe G1 t2 de la fraction AF ainsi que dans les groupes G1, G2 t1 et G2 t3 de la fraction AH.

La fraction SH est caractérisée par la présence du deuxième pic dans les groupes G1 et G2. Dans la fraction AF les deux pics apparaissent ponctuellement. La fraction AH se caractérise par la présence des deux pics dans le groupe G1 et seulement par le deuxième pic dans le groupe G2. Dans le groupe G3 les deux pics n'apparaissent jamais.

Tous les résultats d'HPLC sont indiqués dans l'Annexe G.

Les concentrations du BaP ont été déterminées dans tous les échantillons analysés à partir de la droite d'étalonnage (Figure VI-1).

Tableau VI-1 Temps de rétention des pics observés par HPLC des groupes G1, G2 et G3

temps de rétention (min)	3,32 ± 0,04	5,19 ± 0,09	12,82 ± 0,48
SH	1 échantillon de G3 t1 ; G3 t2 et G3 t3	G1 t1 ; G1 t2 ; G1 t3 G2 t1 ; G2 t2 ; G2 t3	G1 t1 ; G1 t2 ; G1 t3 G2 t1 ; G2 t2 ; G2 t3 G3 t1 ; G3 t2 ; G3 t3
AF	1 échantillon de G2 t1 ; G2 t2 et G2 t3	1 échantillon de G1 t2	G1 t1 ; G1 t2 ; G1 t3 G2 t1 ; G2 t2 ; G2 t3 G3 t1 ; G3 t2 ; G3 t3
AH	G1 t1 ; G1 t2 1 échantillon de G3 t2	G1 t1 ; G1 t2 ; G1 t3 G2 t1 et G2 t3	G1 t1 ; G1 t2 ; G1 t3 G2 t1 ; G2 t2 ; G2 t3 G3 t1 ; G3 t2 ; G3 t3

VI.2. Comparaison des quantifications du BaP par les deux méthodes

Les concentrations calculées à partir des intensités de fluorescence des composants identifiés comme étant le BaP dans les modèles PARAFAC à 3 et à 4 composants et la gamme d'étalonnage du BaP pur dans l'eau par spectroscopie de fluorescence (Figure VI-2) sont comparées aux concentrations calculées par HPLC dans ces mêmes échantillons. Pour le groupe G1, les résultats issus des modèles à 3 composants sont présentés dans la figure VI-3.

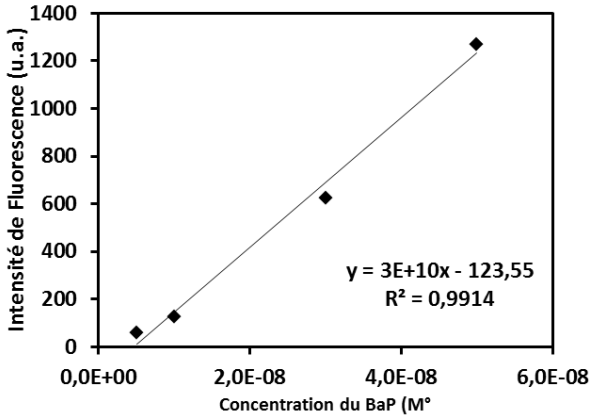


Figure VI-2 Gamme d'étalonnage du BaP pur dans l'eau purifiée par spectroscopie de fluorescence.

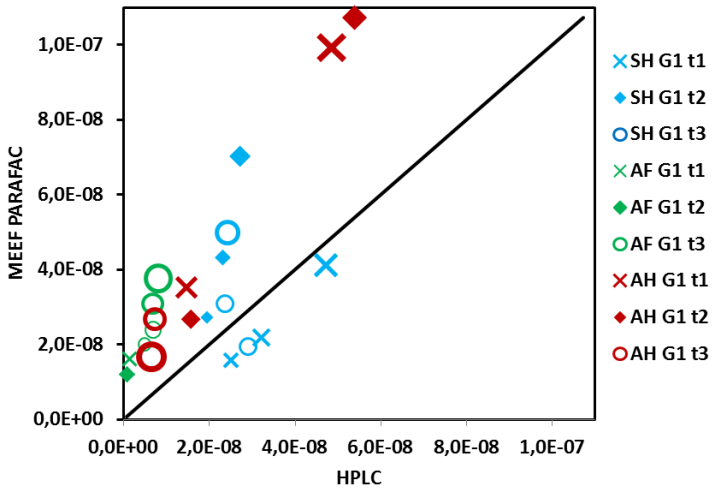


Figure VI-3 Comparaison des concentrations du BaP dans les échantillons des groupes G1 t1, G1 t2 et G1 t3 obtenues par HPLC et par les modèles à 3 composants de la méthode MEEFs-PARAFAC. La taille des marqueurs est proportionnelle à la concentration de la MOD (mg COD/l).

Les concentrations de BaP qui se rapprochent le plus de la validation par les deux méthodes sont celles de la fraction SH et quelques-unes de la fraction AH. Pour les autres échantillons il n'y a pas de validation des concentrations de BaP entre les deux méthodes. Le décalage des points reflète soit une sous-estimation des concentrations de BaP par HPLC soit une surestimation des concentrations du BaP par fluorescence.

Les résultats du groupe G1 issus des modèles à 4 composants (Figure VI-4) montre la validation des concentrations du BaP par les deux méthodes pour la fraction SH sauf pour les échantillons de concentration élevée en matière organique. Pour les autres échantillons, on retrouve la même tendance que pour le modèle à 3 composants.

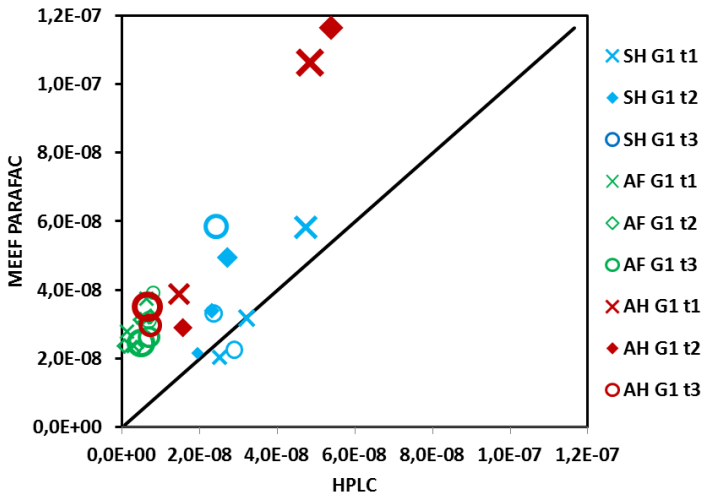


Figure VI-4 Comparaison des concentrations du BaP dans les échantillons des groupes G1 t1, G1 t2 et G1 t3 obtenues par HPLC et par les modèles à 4 composants de la méthode MEEFs-PARAFAC. La taille des marqueurs est proportionnelle à la concentration de la MOD (mg COD/l).

Dans la figure VI-5 sont représentées les variations des concentrations de BaP des échantillons en fonction de la quantité de matière organique pour le modèle à 3 composants, le modèle à 4 composants et l'HPLC.

Dans la fraction SH, les concentrations de BaP du groupe G1 t1 sont proches entre l'HPLC et le modèle à 4 composants pour les échantillons à faible teneur en matière organique. Dans le groupe G1 t2, l'écart entre les trois méthodes augmente avec la concentration en matière organique. L'HPLC donne des concentrations plus élevées que celle des modèles à 3 et du modèle à 4 composants.

Pour le groupe G1 t3, les concentrations des deux modèles PARAFAC sont similaires mais sont différentes de celles de l'HPLC.

Dans la fraction AF, le modèle à 3 composants a permis d'estimer la concentration du BaP seulement dans l'échantillon de faible teneur en matière organique dans les groupes G1 t1 et G1 t2. Dans ces deux groupes les concentrations du modèle à 4 composants sont proches de celles de l'HPLC sauf pour la faible teneur en matière organique. Par contre les concentrations du BaP sont identiques dans le groupe G1 t3 pour les trois méthodes.

Dans la fraction AH, les groupes G1 t1 et G1 t2 montrent des concentrations de BaP très similaires pour les deux modèles PARAFAC qui sont plus élevées que celles de l'HPLC. Pour le groupe G1 t3 il y a un écart entre les concentrations des trois méthodes ; celles obtenues par le modèle à 4 composants étant plus élevées que celles du modèle à 3 composants et celles de l'HPLC.

En conclusion, pour de grandes concentrations de BaP (G1) à 24h, la concentration de BaP dans les échantillons de SH de faible concentration en COD était très proche par HPLC et par les modèles PARAFAC. Pour la fraction AF à 24 h et 48 h le modèle à 3 composants n'a détecté le BaP que dans les échantillons AF ayant une concentration en COD de 2,7 mg/l, tandis qu'à 72h, les concentrations de BaP obtenus par HPLC et par les deux modèles PARAFAC sont très similaires. Pour AH, à t1 et t2 en augmentant la concentration de la MO, les concentrations obtenues par les deux modèles PARAFAC sont plus grandes que celles obtenues par HPLC alors qu'à t3 ces concentrations diminuent et se rapprochent des concentrations obtenues par HPLC.

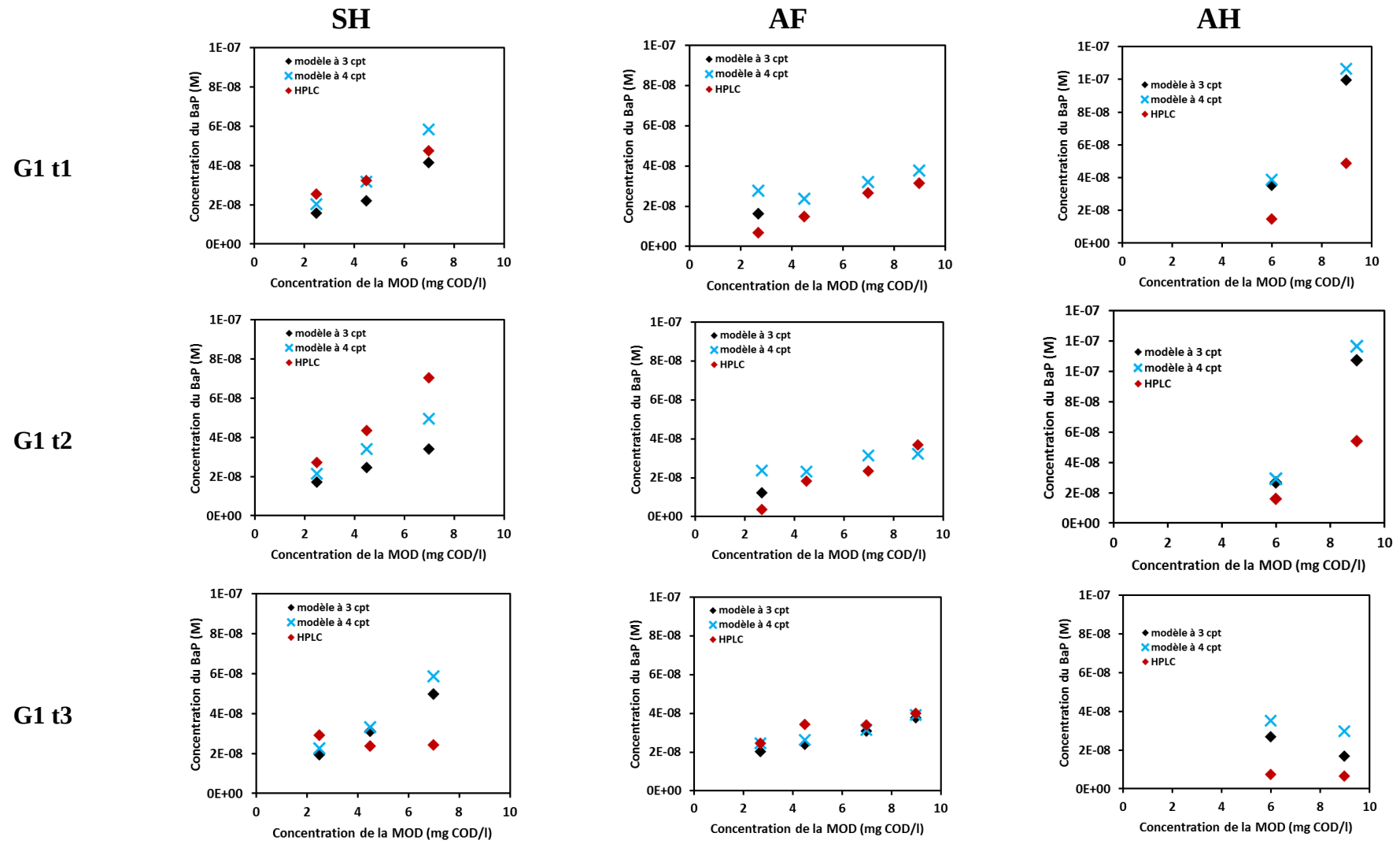


Figure VI-5 Comparaison des concentrations du BaP obtenus par les modèles PARAFAC à 3 et à 4 composants et par HPLC des groupes G1 t1, G1 t2 et G1 t3.

Pour le groupe G3 ; les concentrations de BaP sont comparées entre le modèle à 3 composants et l'HPLC (Figure VI-6) et entre le modèle à 4 composants et l'HPLC (Figure VI-7).

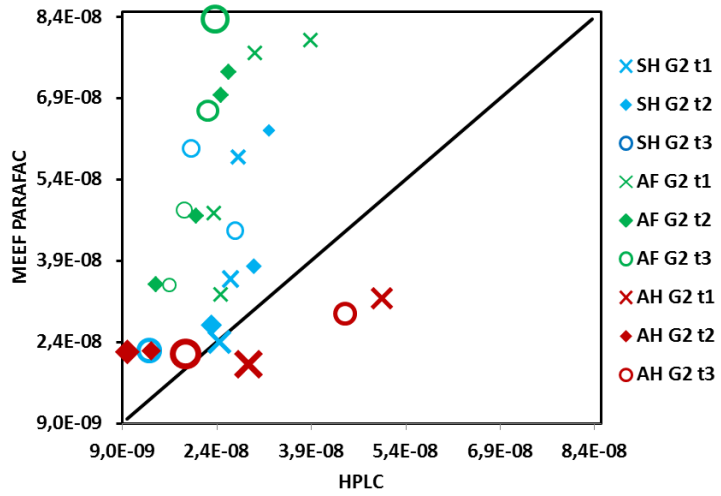


Figure VI-6 Comparaison des concentrations du BaP dans les échantillons des groupes G2 t1, G2 t2 et G2 t3 obtenues par HPLC et par les modèles à 3 composants de la méthode MEEFs-PARAFAC. La taille des marqueurs est proportionnelle à la concentration de la MOD (mg COD/l).

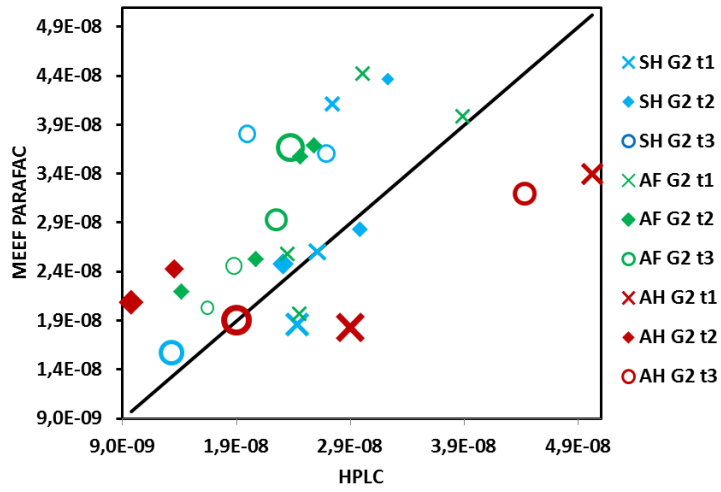


Figure VI-7 Comparaison des concentrations du BaP dans les échantillons des groupes G2 t1, G2 t2 et G2 t3 obtenues par HPLC et par les modèles à 4 composants de la méthode MEEFs-PARAFAC. (La taille des marqueurs est proportionnelle à la concentration de la MOD (mg COD/l).

Pour le groupe G2, il n'y a pas de validation des concentrations du BaP entre le modèle à 3 composants et l'HPLC. Par contre, la meilleure validation des concentrations de BaP est réalisée entre le modèle à 4 composants et l'HPLC surtout pour les échantillons à faible teneur en matière organique.

Les comparaisons des concentrations de BaP dans les échantillons de teneurs en matière organique différentes pour les trois méthodes sont présentées Figure VI-8.

Dans les groupes G2 t1, G2 t2 et G2 t3 de la fraction SH, les concentrations de BaP sont très similaires dans l'échantillon de faible teneur en matière organique pour les trois méthodes. L'écart entre les trois méthodes augmente avec la teneur en matière organique. Une surestimation des concentrations de BaP pour le modèle à trois composants est marquée par rapport à celles du modèle à 4 composants et surtout à celles de l'HPLC.

On constate que les concentrations du BaP présentes dans les échantillons AF des groupes G2 t1 ; G2 t2 et G2 t3 obtenues par HPLC et par le modèle PARAFAC à 4 composants sont très proches alors que celles des modèles à 3 composants ont des valeurs surestimées. On constate de même que cet écart entre les concentrations obtenues par un modèle à 3 composants d'une part et par HPLC ou le modèle à 4 composants d'autre part augmente avec la concentration en COD.

Pour la fraction AH, à t1, t2 et t3 les concentrations du BaP obtenues par les modèles PARAFAC à 3 et 4 composants sont identiques. Elles sont inférieures à celles obtenues par HPLC pour t1 et supérieures pour t2. À t3, l'écart entre HPLC et modèles PARAFAC diminue avec l'augmentation de la teneur en matière organique (Figure VI-8).

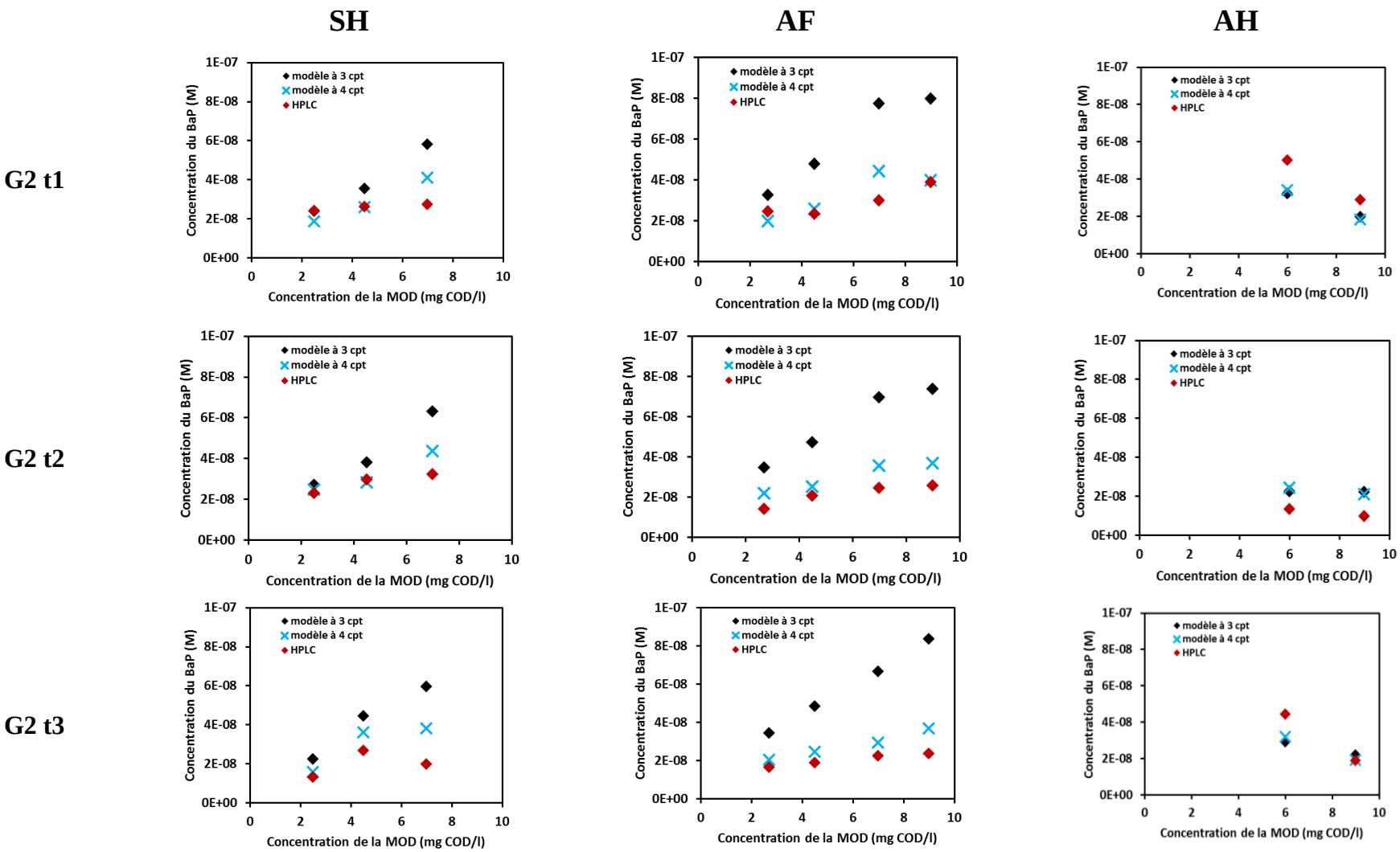


Figure VI-8 Comparaison des concentrations du BaP obtenues par les modèles PARAFAC à 3 et à 4 composants et par HPLC des groupes G2 t1, G2 t2 et G2 t3.

Pour G3, les comparaisons des concentrations de BaP entre le modèle à 3 composants et l'HPLC sont présentées dans la figure VI-9. Celles entre le modèle à 4 composants et l'HPLC sont présentées dans la figure VI-10.

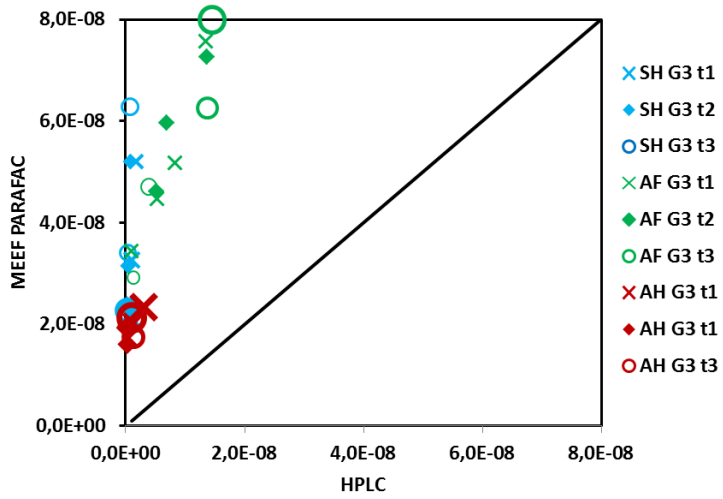


Figure VI-9 Comparaison des concentrations du BaP dans les échantillons des groupes G3 t1, G3 t2 et G3 t3 obtenues par HPLC et par les modèles à 3 composants de la méthode MEEFs-PARAFAC. La taille des marqueurs est proportionnelle à la concentration de la MOD (mg COD/l).

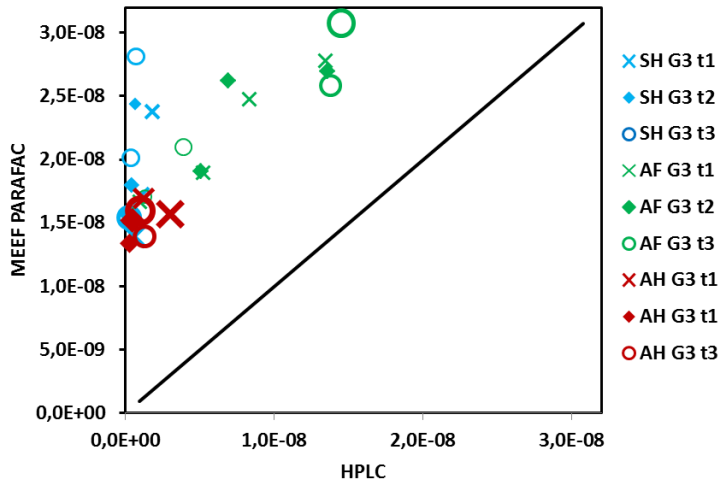


Figure VI-10 Comparaison des concentrations du BaP dans les échantillons des groupes G3 t1, G3 t2 et G3 t3 obtenues par HPLC et par les modèles à 4 composants de la méthode MEEFs-PARAFAC. La taille des marqueurs est proportionnelle à la concentration de la MOD (mg COD/l).

Les concentrations de BaP dans les échantillons des fractions SH et AH des groupes G3 t1, G3 t2 et G3 t3 ont été faiblement détectées par l'HPLC alors qu'elles sont bien détectées en fluorescence (Figure VI-9 et VI-10).

Les concentrations de BaP dans les échantillons de teneurs en matières organiques variables sont très différentes entre les trois méthodes pour les fractions SH et AF (Figure VI-11). Celles obtenues par le modèle à 3 composants sont surestimées par rapport à celles du modèle à 4 composants et surtout à celles de l'HPLC avec un écart croissant lié à la teneur en matière organique des échantillons.

Dans la fraction AH, l'évolution des concentrations de BaP est similaire à t1, t2 et t3 avec des valeurs identiques pour les deux modèles PARAFAC et des valeurs très faibles en HPLC.

La meilleure validation des concentrations de BaP entre MEEF-PARAFAC et HPLC a été obtenue pour le groupe G2 entre le modèle à 4 composants et l'HPLC. Pour les échantillons à faible teneur en matière organique, la validation entre fluorescence et HPLC est plus fiable pour G1 et G2.

Dans les groupes G2 et G3, les concentrations de BaP sont surestimées pour le modèle à 3 composants par rapport au modèle à 4 composants et à l'HPLC dans les fractions SH et AF. Par contre, les concentrations de BaP sont similaires entre les deux modèles pour la fraction AH dans les trois groupes G1, G2 et G3 avec des valeurs plus élevées que celles de l'HPLC sauf pour G2 t1.

Dans le groupe G1, les concentrations de BaP sont proches entre le modèle à 4 composants et l'HPLC pour SH et AF sauf pour G1 t3 de SH.

Globalement la validation des concentrations de BaP est meilleure entre le modèle à 4 composants et l'HPLC dans la fraction AF des groupes G1 et G2 et pour la fraction SH des groupes G1 t1, G2 t1 et G2 t2. Par contre les concentrations de BaP ne sont pas validées entre les deux modèles PARAFAC et l'HPLC dans la fraction AH ni dans le groupe G3.

Ces comparaisons de quantification du BaP dans les échantillons participent donc à la mise en valeur des résultats obtenus par le modèle PARAFAC à 4 composants et renforce la difficulté de faire le choix du bon modèle PARAFAC entre l'aspect qualitatif et quantitatif des résultats.

.

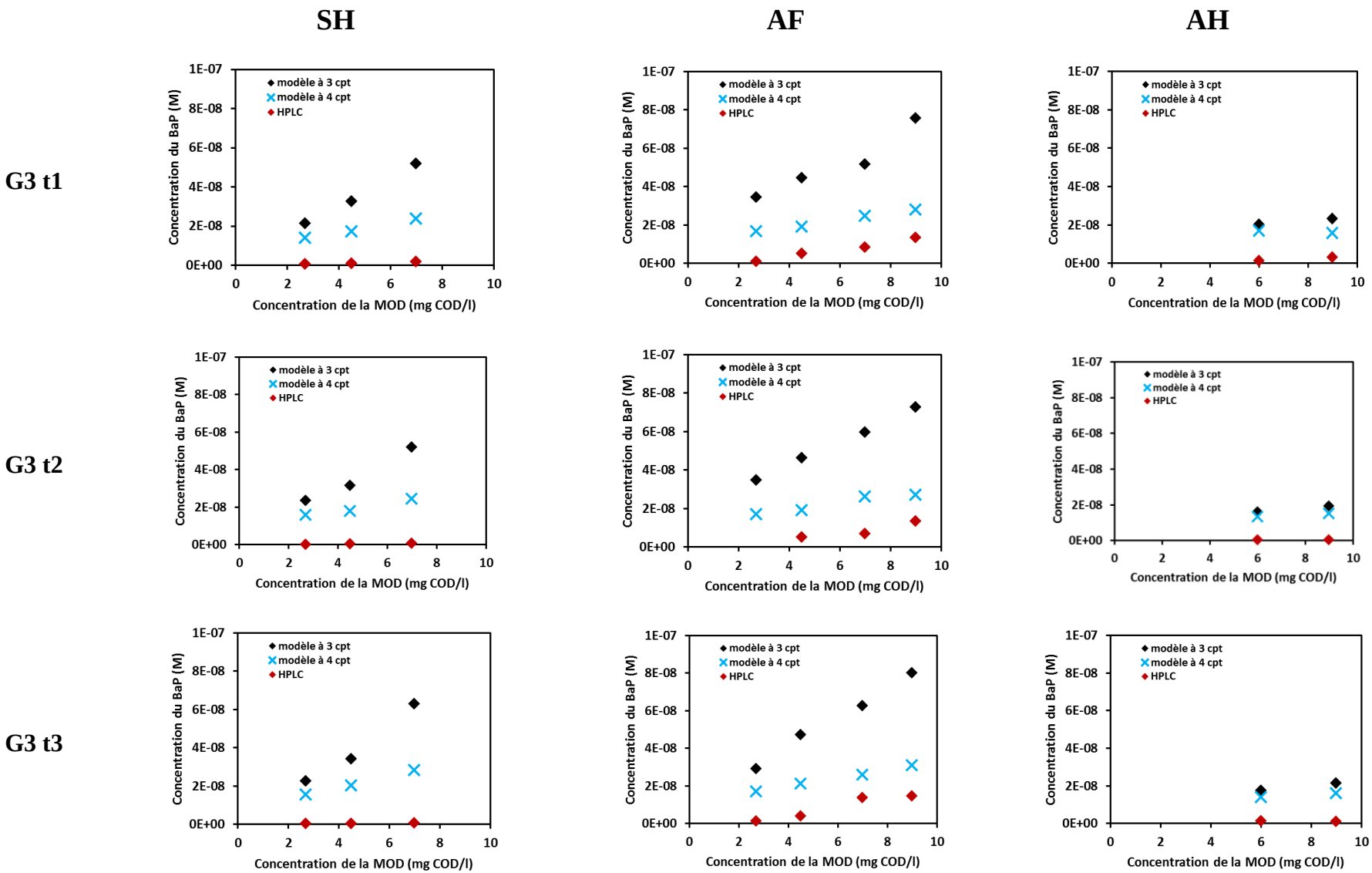


Figure VI-11. Comparaison des concentrations du BaP obtenues par les modèles PARAFAC à 3 et à 4 composants et par HPLC des groupes G3 t1, G3 t2 et G3 t3.

Chapitre VII. Détection du BaP dans des sols incendiés (SH, AF, AH)

VII.1. Préparation et analyses des sols

Des échantillons naturels provenant d'un sol incendié ont été sélectionnés pour appliquer la méthode MEEF-PARAFAC à la détection du BaP dans un sol contaminé naturellement suite à un incendie.

Un échantillon a été prélevé à proximité de la zone incendiée qui servira de 'sol témoin'. Deux échantillons ont été prélevés dans la zone incendiée : un situé au 'Départ du feu' et un autre situé à environ 300 m qui correspond à de la 'Terre brûlée' (Figure III-11).

Les échantillons de sols ont été séchés, broyés, tamisés (< 2 mm) comme indiqué dans le Matériels et Méthodes (III-1.1.)

L'extraction des substances humiques et le fractionnement en acides fulvique et acides humique ont été réalisé comme cité dans la section Matériels et Méthodes (III-1.3.). Des dilutions ont été effectuées afin d'éviter les effets d'écran. Les échantillons ont été analysés par la méthode MEEFs 3D (paragraphe III-4.2) à l'aide d'un spectrofluorimètre Jasco FP8300.

Les matrices ont été traitées par PARAFAC en deux jeux de données séparées. Le premier jeu contenant les trois fractions SH, AF et AH du sol témoin situé hors du périmètre du feu, et le deuxième jeu contenant les fractions SH, AF et AH des deux échantillons situés dans le périmètre du feu avec des solutions de BaP pur dans l'eau purifiée. Des modèles PARAFAC allant jusqu'à six composants ont été testés. Le modèle à deux composants a été choisi pour le premier jeu de données et pour le deuxième, le traitement PARAFAC à trois composants a été sélectionné. Le choix des modèles était basé comme précédemment sur la forme des spectres obtenus et le pourcentage de CorConDia.

VII.2. Caractéristiques spectrales des composants des sols témoins et incendiés

Le modèle PARAFAC à deux composants des échantillons SH, AF et AH du sol témoin a un CorConDia de 99,810%. Les MEEFs et les spectres d'excitation et d'émission de

fluorescence des deux composants ainsi obtenus sont présentés dans la figure VII-1. Le composant C1 a ces longueurs d'ondes maximales λex/λem à 230/417 nm avec un épaulement en excitation à la longueur d'onde 300 nm. Les λex/λem du composant C2 se situent aux longueurs d'ondes 260-370/475-(530) nm.

Pour les sols brûlés, le modèle PARAFAC à 3 composants a obtenu un CorConDia de 83,509 %. Les MEEFs et les spectres d'excitation et d'émission de fluorescence des 3 composants sont illustrés dans la figure VII-2. Le composant C1 a ses longueurs d'ondes maximales ($\lambda_{ex}/\lambda_{em}$) à 230-310/415 nm. Les longueurs d'ondes maximales $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ du composant C2 se situent à 270-370/476(522) nm. Le troisième composant a ses longueurs d'ondes maximales $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ à 270-360/408-430 nm.

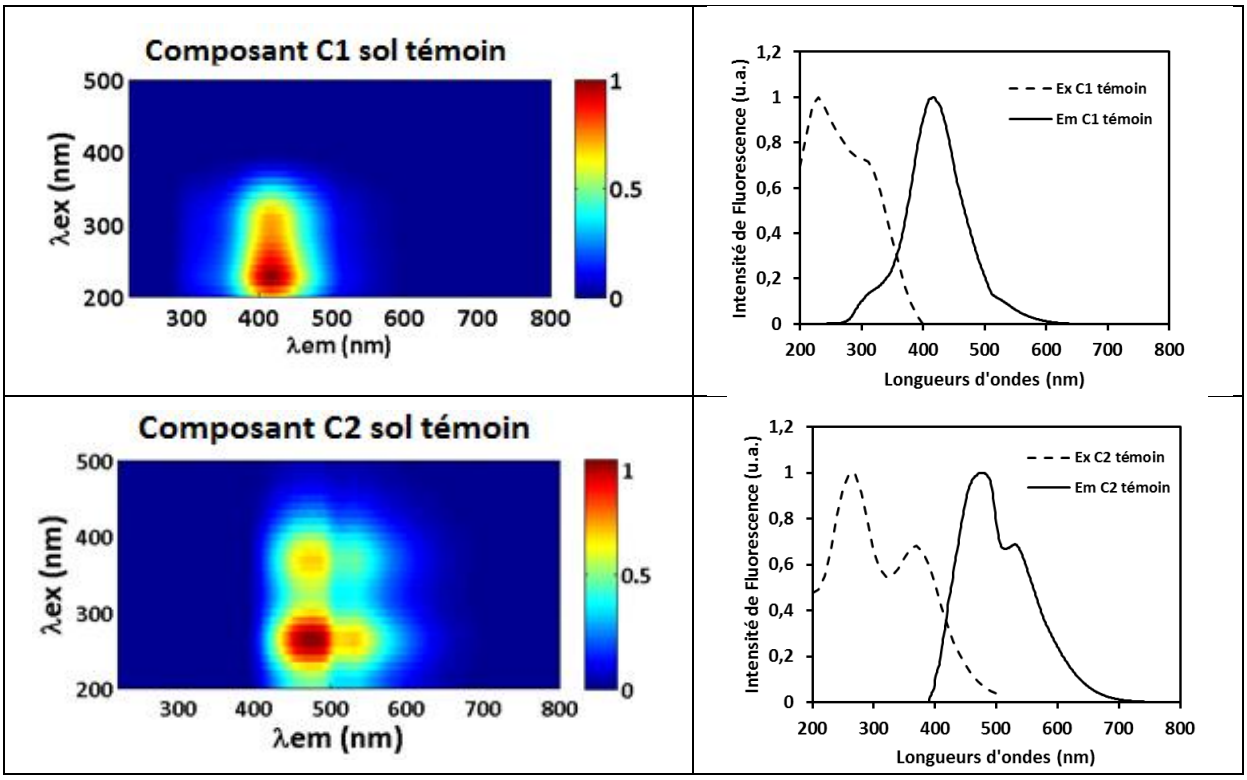


Figure VII-1 MEEFs et spectres d'excitation et d'émission de fluorescence des trois composants présents dans les échantillons des SH, AF et AH du sol témoin.

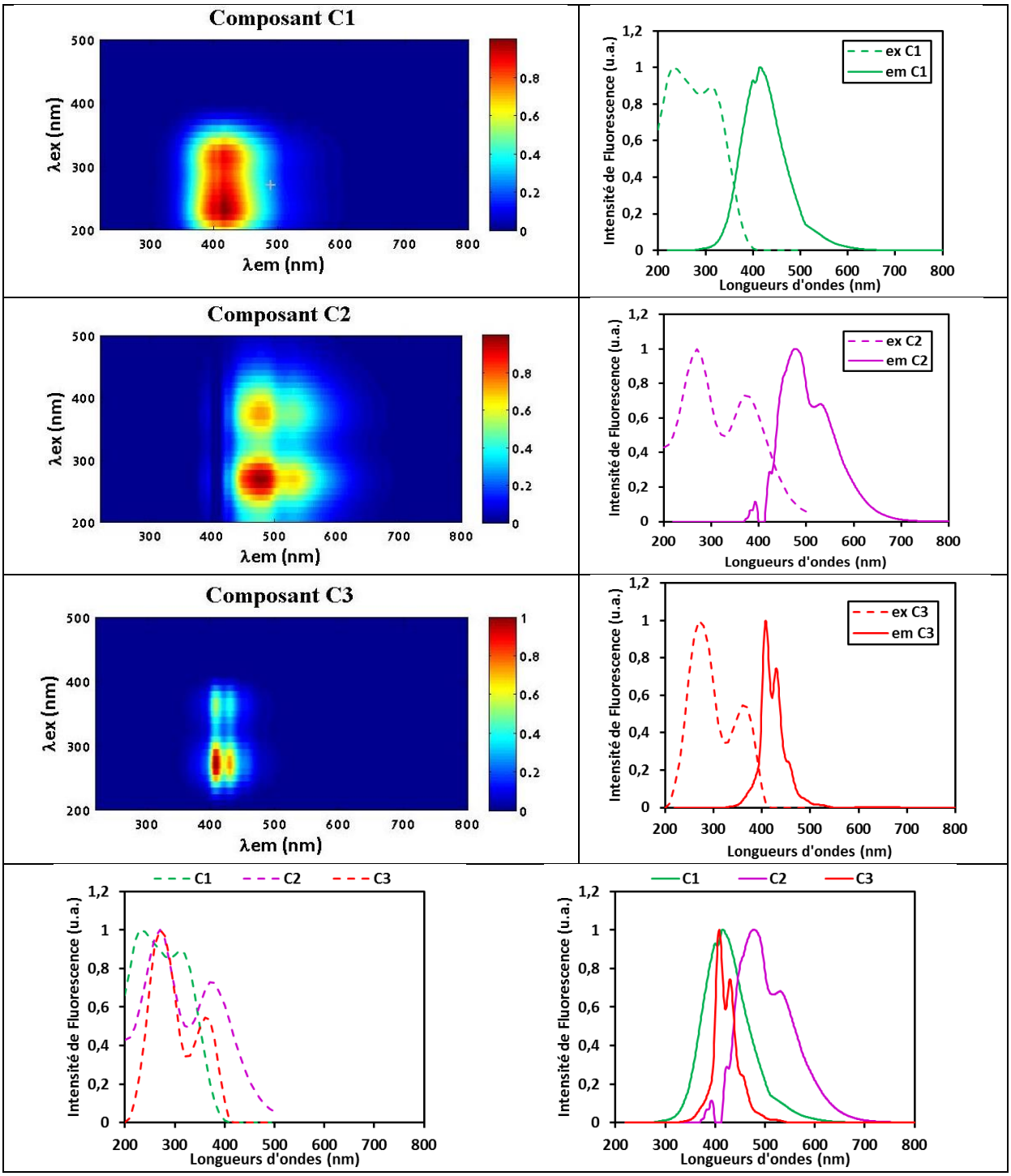


Figure VII-2 MEEFs et spectres d'excitation (tirets) et d'émission (ligne continue) de fluorescence des trois composants présents dans les échantillons des SH, AF et AH du sol brulé.

Les composants des sols brûlés sont comparés à ceux du sol témoin et du BaP (Figure VII-4). Une grande similarité existe entre les spectres d'émission des composants du sol témoins et ceux des sols brûlés (r_c = 0,995 pour C1 et r_c = 0,991 pour C2) (Tableau VII-1). L'excitation du composant C1 des sols brûlés diffère de celle du sol témoin au niveau du pic à

310 nm qui devient un épaulement dans les sols témoin (r_c = 0,994). L'excitation du composant C2 des sols brûlés est légèrement décalée par rapport à celle du composant C2 du sol témoin (r_c = 0,995). Le composant C3 identifié comme étant le BaP a été comparé au BaP pur. Pour l'excitation du composant C3 du sol brûlé on constate que le creux entre les deux pics est moins défini que celui présent sur le spectre du BaP pur (r_c = 0,979). L'émission du composant C3 et du BaP pur sont très similaires (r_c = 0,987).

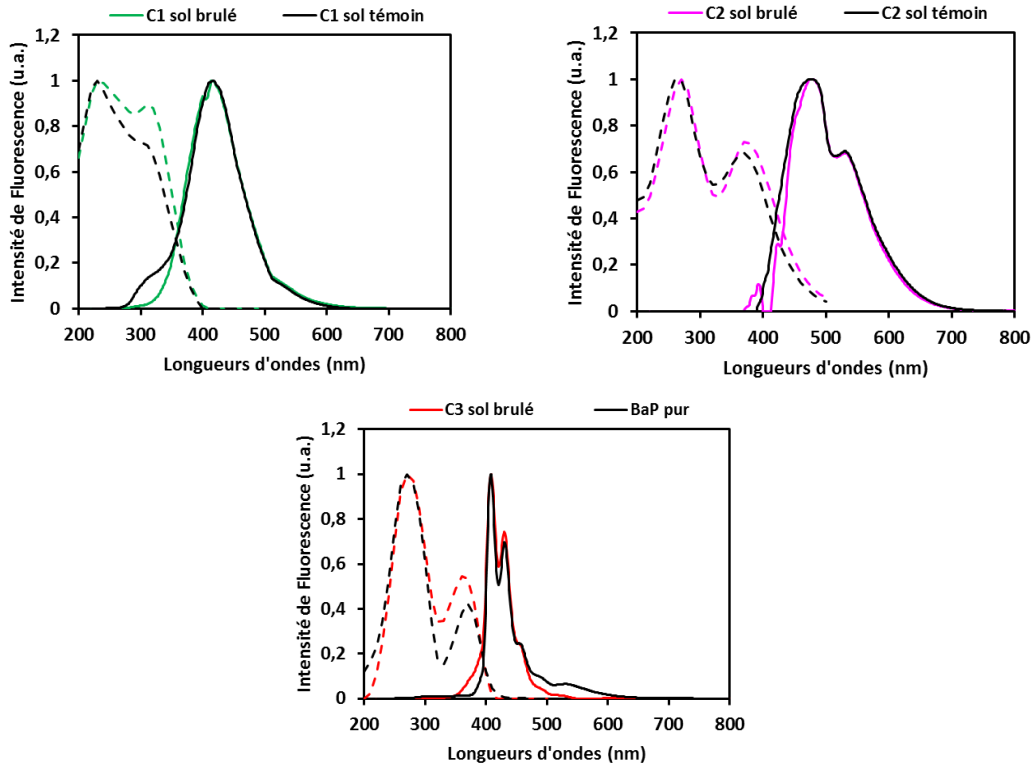


Figure VII-3 Superposition des spectres d'excitation (tirets) et d'émission (ligne continue) de fluorescence des trois composants obtenus par MEEF-PARAFAC sur échantillons de sols brulés avec ceux du sol témoin et du BaP pur.

Tableau VII-1. Valeur des coefficients de similarité r_c des spectres d'excitation et d'émission des fluorophores issus du modèle PARAFAC à 3 composants des échantillons DF et TB et les composants de issus du modèle PARAFAC à deux composants des échantillons du sol témoin et ceux du BaP pur.

Excitation	C1	C2	C3
C1 témoin	0,994		
C2 témoin		0,995	
BaP pur			0,979

Émission	C1	C2	C3
C1 témoin	0,995		
C2 témoin		0,991	
BaP pur			0,987

VII.3. Comparaisons des pseudo-concentrations entre les trois stations

Les pseudo-concentrations des composants C1, C2 et C3 dans le sol témoin et les sols incendiés sont présentées dans la figure (VII-4). Dans les trois fractions, ces pseudo-concentrations des composants sont bien plus élevées dans le sol Départ Feu (DF) comparé au sol plus éloigné (Terre brûlée TB) et que dans le sol témoin avec des valeurs maximales pour C1. Les pseudo-concentrations du BaP sont aussi plus élevées dans le sol DF comparé au sol TB dans les fractions SH et AH, par contre elles sont minimales dans la fraction AF.

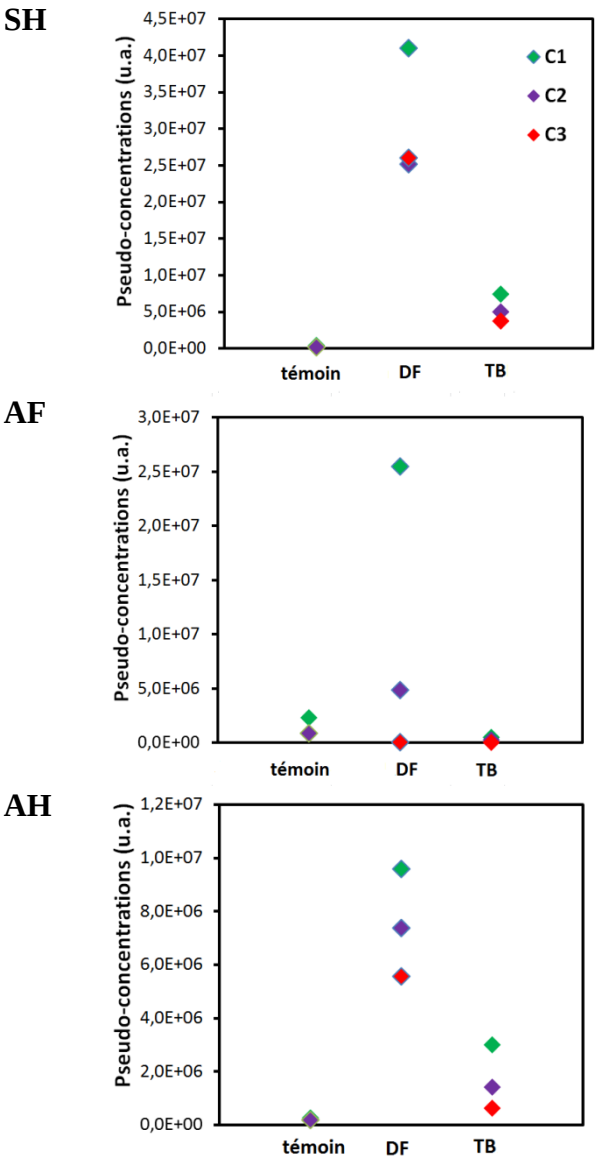


Figure VII-4 Pseudo-concentrations des composants C1, C2 et C3 dans le sol témoin et les sols incendiés (DF et TB).

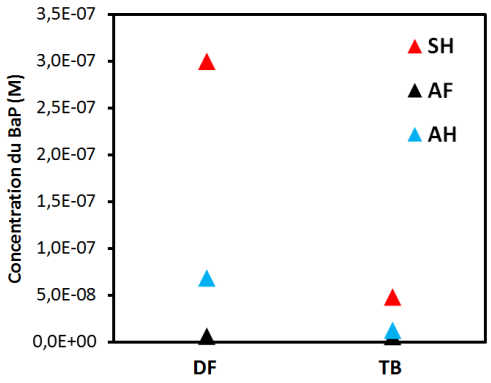


Figure VII-5 Concentration du BaP dans les fractions SH, AF et AH des échantillons DF et TB déterminés à partir de la gamme d'étalonnage du BaP par spectroscopie de fluorescence.

La figure VII-5 présente les concentrations du BaP calculé à partir de l'équation de la gamme étalon du BaP pur dans l'eau. Les concentrations du BaP dans les échantillons SH du sol DF sont plus élevées (3.10^{-7} M) que celles dans les fractions AF et AH. Il en est de même pour les échantillons de TB, mais avec un écart moins grand entre les concentrations du BaP dans la fraction SH d'une part et AF et AH d'autre part.

C'est la première application de la méthode MEEF-PARAFAC pour la détection du BaP dans les trois fractions du sol naturel qui permet la quantification du BaP dans les fractions SH, AF et AH.

Conclusion

Dans ce travail, le devenir du contaminant BaP dans un sol a été abordé à travers l'étude de la fluorescence des MOS dans les trois fractions physiques SH, AF et AH. Les mélanges des trois fractions avec le BaP ont été testés en fonction de la quantité de matière organique, de la concentration en BaP et en fonction du temps. Tous les échantillons ont été analysés par la méthode MEEFs-PARAFAC qui a permis l'étude qualitative et quantitative de ces mélanges complexes.

La présence du BaP dans le sol modifie les propriétés spectrales des composants de la matière organique de manière différente dans les trois fractions physiques SH, AF et AH d'où l'intérêt d'étudier ces trois fractions séparément.

Parmi les trois composants déterminés, deux correspondent à la matière organique (C1 et C2) alors que C3 représente le BaP. L'ajout de BaP influence les variations de pseudo-concentration du composant C2 dans les fractions SH et AF et celles du composant C1 dans la fraction AH. Ces modifications pourraient être dues à des transferts d'énergie du BaP vers les composants de la matière organique mais aussi à des processus de complexations pour AF et AH.

Concernant les transformations spectrales des composants de la matière organique et du BaP en fonction de la quantité de matière organique et du temps (24, 48 et 72h) pour trois concentrations de BaP (10^{-4}, 10^{-5}, 10^{-7} M), le choix des modèles PARAFAC s'est avéré difficile entre les modèles à 3 ou à 4 composants. Si on se base seulement sur les critères mathématiques (CorConDia), ce sont les modèles à 3 composants qu'il faut choisir. Si on rajoute l'aspect chimique (formes spectrales) alors les modèles à 4 composants ont leurs intérêts aussi. Les résultats des modèles à 3 composants montrent des modifications spectrales du BaP après 72h d'agitation et pour de faibles concentrations de BaP (10^{-7} M). Ces transformations n'apparaissent pas dans les modèles à 4 composants.

Pour l'aspect quantitatif, les concentrations de BaP déterminées par les modèles à 4 composants ont montré une meilleure validation avec celles définies par HPLC pour le groupe G2 (10^{-5} M de BaP) surtout dans la fraction SH. Dans le cas des modèles à 3 composants, les concentrations de BaP sont validées par celles d'HPLC dans le groupe G1 (10^{-4} M de BaP)

surtout dans la fraction SH. Aucune validation n'a pu être établie dans le groupe G3 (10^{-7} M de BaP).

La méthodologie MEEFs-PARAFAC a été appliquée à la détection du BaP dans des sols contaminés naturellement suite à un incendie. Deux composants caractéristiques de la matière organique ont été définis pour SH, AF et AH et un composant correspondant au BaP. Cette première application en condition de terrain a permis de quantifier la présence de BaP naturelle dans un sol incendié.

Cette étude a permis de mettre en évidence que la matière organique solubilise le benzo(a)pyrène qui est toxique ce qui met en danger l'environnement.

Perspectives

Afin de compléter cette étude, la principale perspective serait de développer les mesures en durée de vie sur les trois fractions séparées. Cette étude devrait permettre de mieux comprendre les processus de complexation et de transferts d'énergie entre le BaP et la matière organique. L'obtention des spectres liés aux durées de vie permettrait également de faire le lien avec les composants issus des traitements PARAFAC.

La validation de la quantification du BaP entre les méthodes MEEF-PARAFAC et HPLC doit être améliorée. La fiabilité de cette validation serait nécessaire pour le développement des applications par la méthode de fluorescence à la détection de contaminants de type HAP dans les sols.

Une étude statistique sera utile pour mieux présenter et exploiter les résultats du chapitre V.

Il sera utile de mener des études sur des sols brûlés dans d'autres sites, tels des terres agricoles en présence de végétation.

Annexe A

MEEFs et spectres d'excitation et d'émission de fluorescence des composants présents dans les fractions de référence SH, AF et AH par des traitements PARAFAC à deux et à trois composants.

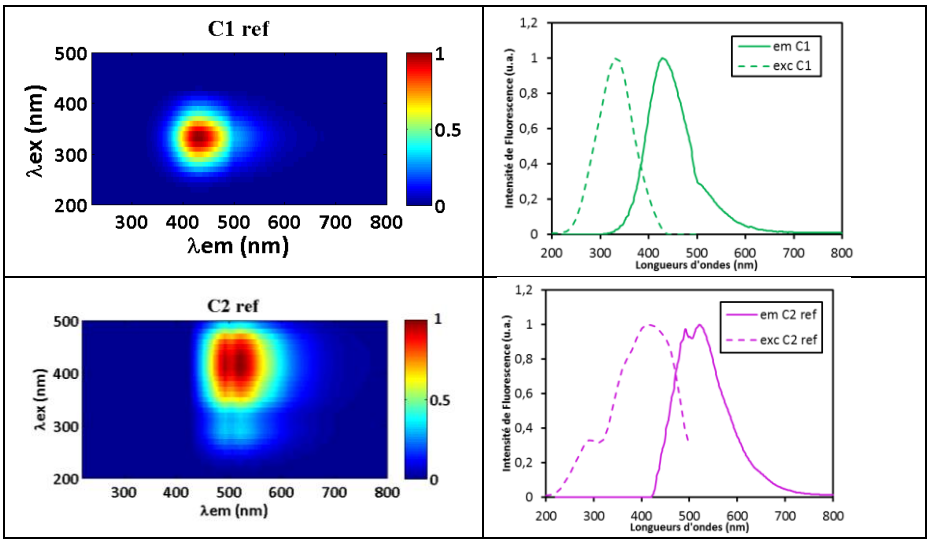


Figure A.A 1 MEEFS et spectres d'excitation et d'émission de fluorescence des fluorophores présents dans les fractions SH, AF et AH obtenus par un traitement PARAFAC à deux composants.

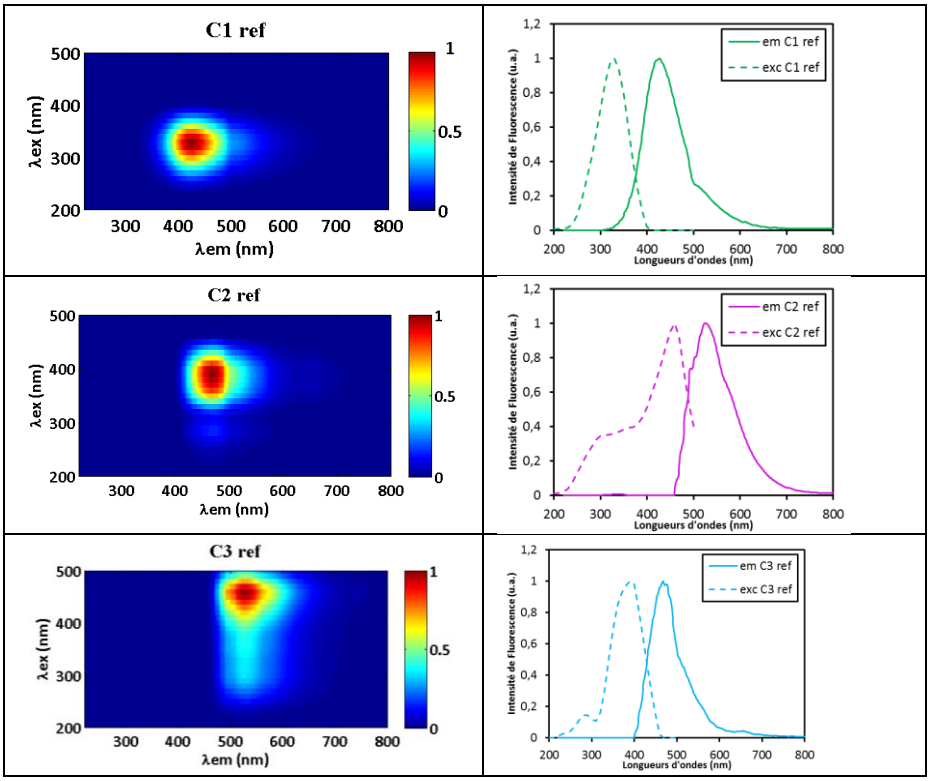


Figure A.A 2 MEEFS et spectres d'excitation et d'émission de fluorescence des fluorophores présents dans les fractions SH, AF et AH obtenus par un traitement PARAFAC à trois composants.

Annexe B

MEEFs des fluorophores présents dans les groupes G1 t1, G1 t2, G1 t3, G2 t1, G2 t2, G2 t3, G3 t1, G3 t2, G3 t3 obtenus par des modèles de PARAFAC à 3 composants

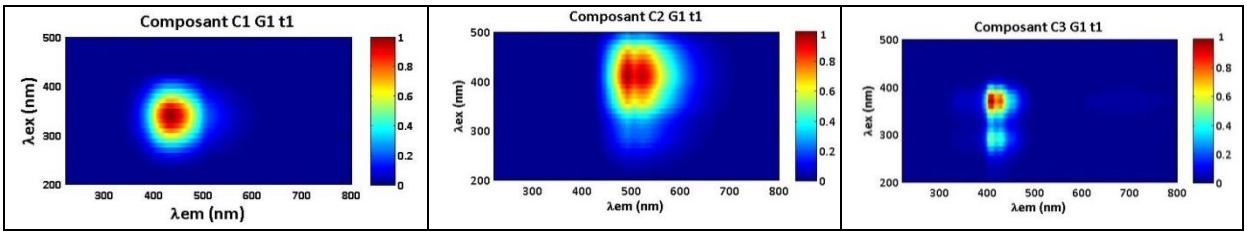


Figure A.B 1.MEEFs des fluorophores issus du modèle PARAFAC à trois composants du groupe G1 t1.

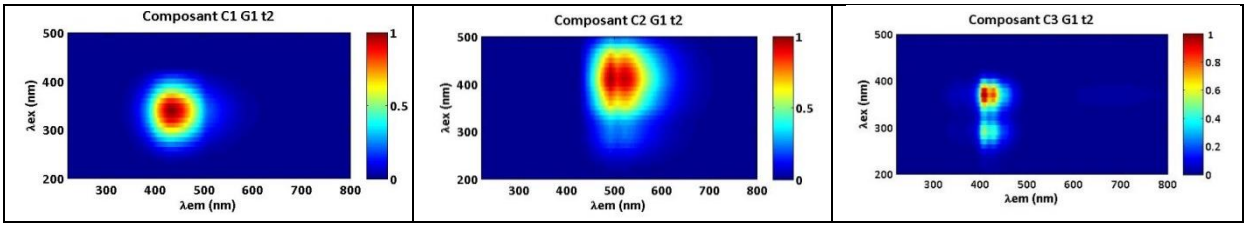


Figure A.B 2MEEFs des fluorophores issus du modèle PARAFAC à trois composants du groupe G1 t2.

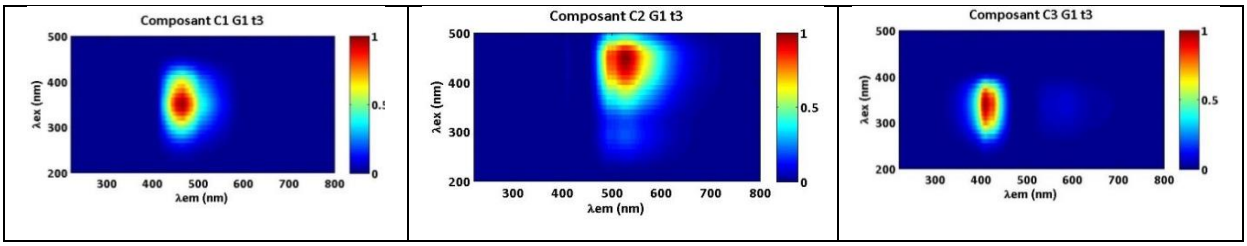


Figure A.B 3.FMEEFs des fluorophores issus du modèle PARAFAC à trois composants du groupe G1 t3.

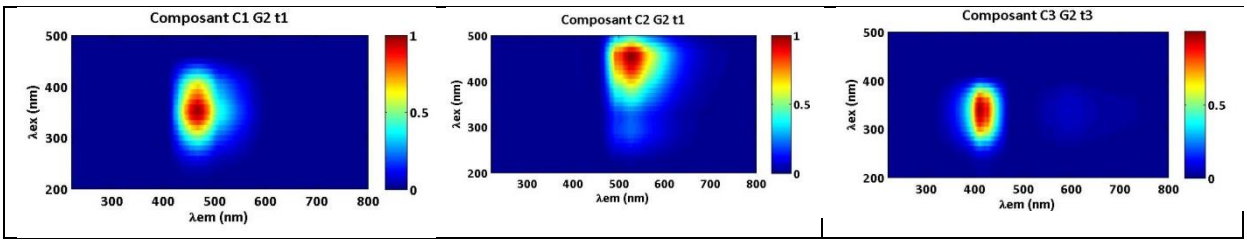


Figure A.B 4.MEEFs des fluorophores issus du modèle PARAFAC à trois composants du groupe G2 t1.

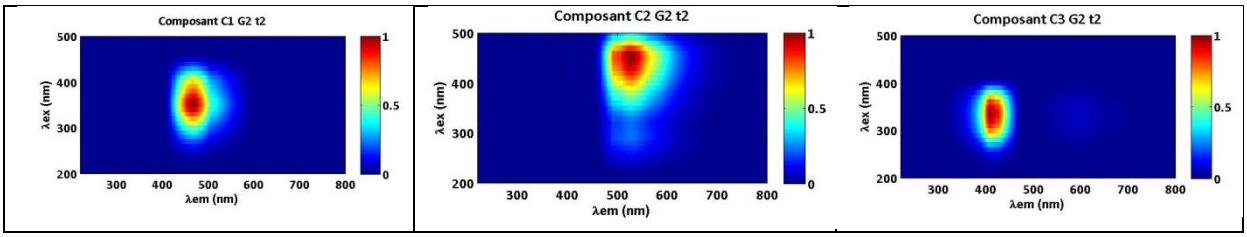


Figure A.B 5.MEEFs des fluorophores issus du modèle PARAFAC à trois composants du groupe G2 t2.

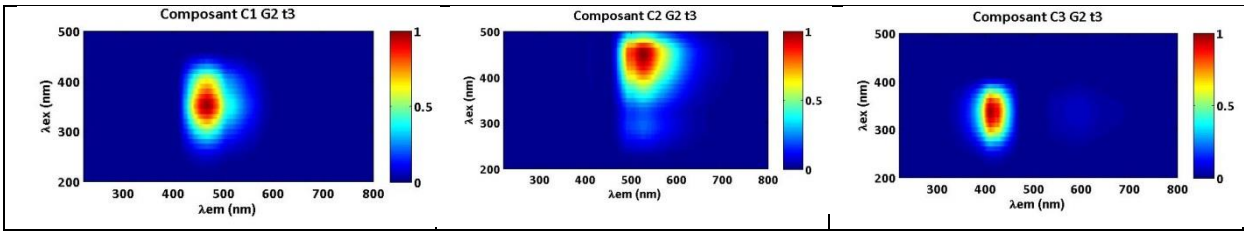


Figure A.B 6. MEEFs des fluorophores issus du modèle PARAFAC à trois composants du groupe G2 t3.

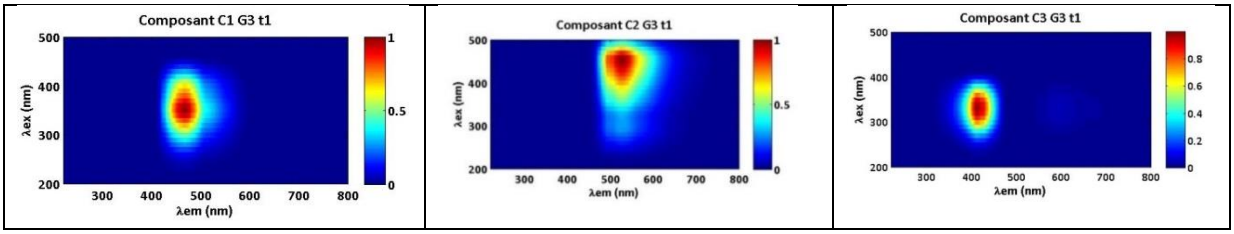


Figure A.B 7.MEEFs des fluorophores issus du modèle PARAFAC à trois composants du groupe G3 t1.

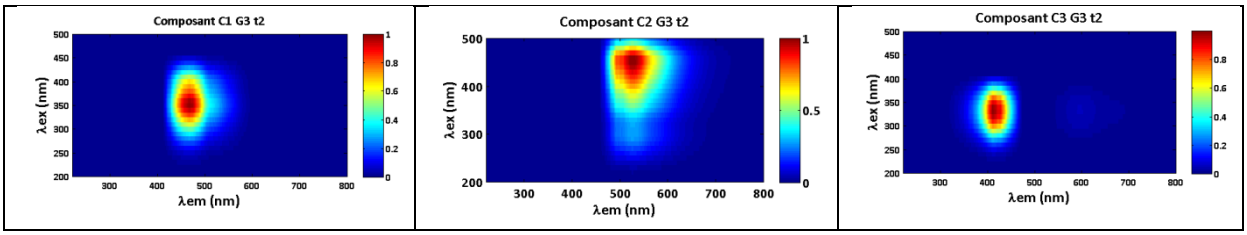


Figure A.B 8 MEEFs des fluorophores issus du modèle PARAFAC à trois composants du groupe G3 t2.

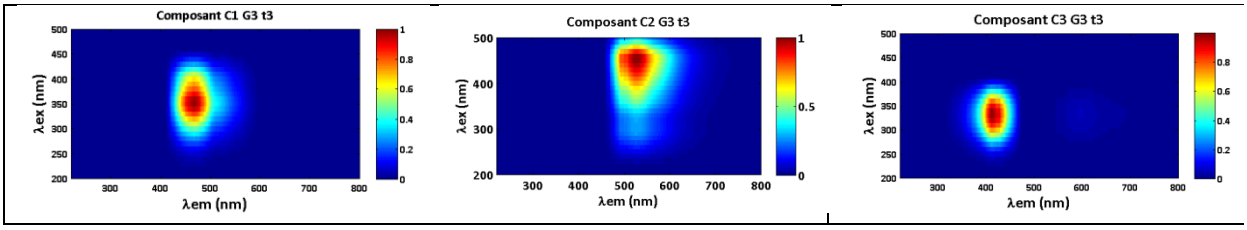


Figure A.B 9 MEEFs des fluorophores issus du modèle PARAFAC à trois composants du groupe G3 t3.

Annexe C

Résultats des modèles PARAFAC à trois composants des groupes G3 t2 et G3 t3

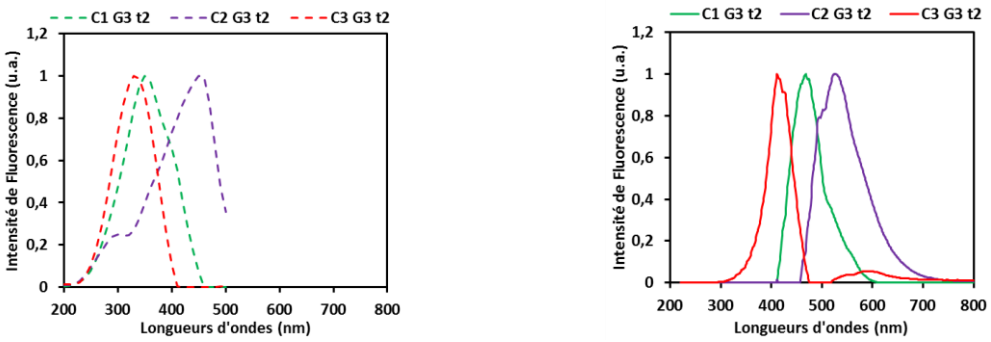


Figure A.C.1. Spectres d'excitation (gauche) et d'émission (droite) de fluorescence des composés issus du modèle PARAFAC à 3 composants du groupe G3 t2.

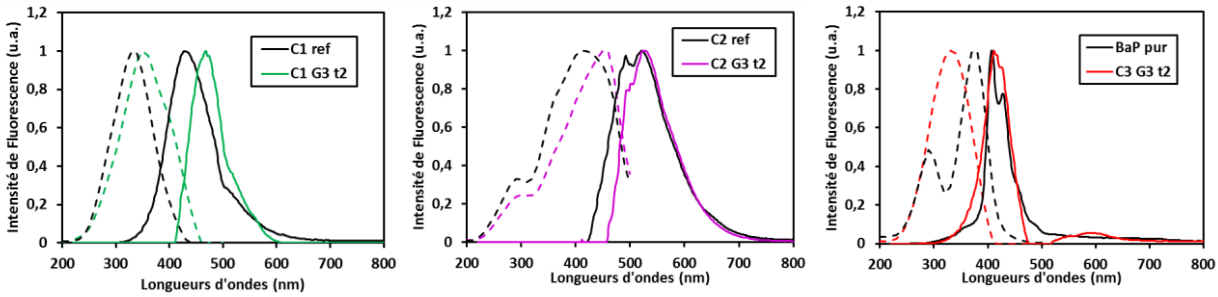


Figure A.C.2. Superposition des spectres d'excitation (tirets) et d'émission (ligne continue) des trois composants issus du modèle PARAFAC du groupe G3 t2 et les spectres d'excitation et d'émission des composants du modèle PARAFAC à deux composant des fractions de référence (C1 ref et C2 ref) et celui du BaP pur.

Tableau A.C.1. Valeur des coefficients de similarité r_c des spectres d'excitation et d'émission des fluorophores issus du groupe G3 t2 avec un modèle PARAFAC à 3 composants d'une part avec les composants de référence issus du modèle PARAFAC à deux composants (C1 ref et C2 ref) et ceux du BaP pur.

Excitation	C1 G3 t2	C2 G3 t2	C3 G3 t2
C1 ref	0,914		
C2 ref		0,977	
BaP pur			0,774

Émission	C1 G3 t2	C2 G3 t2	C3 G3 t2
C1 ref	0,769		
C2 ref		0,953	
BaP pur			0,973

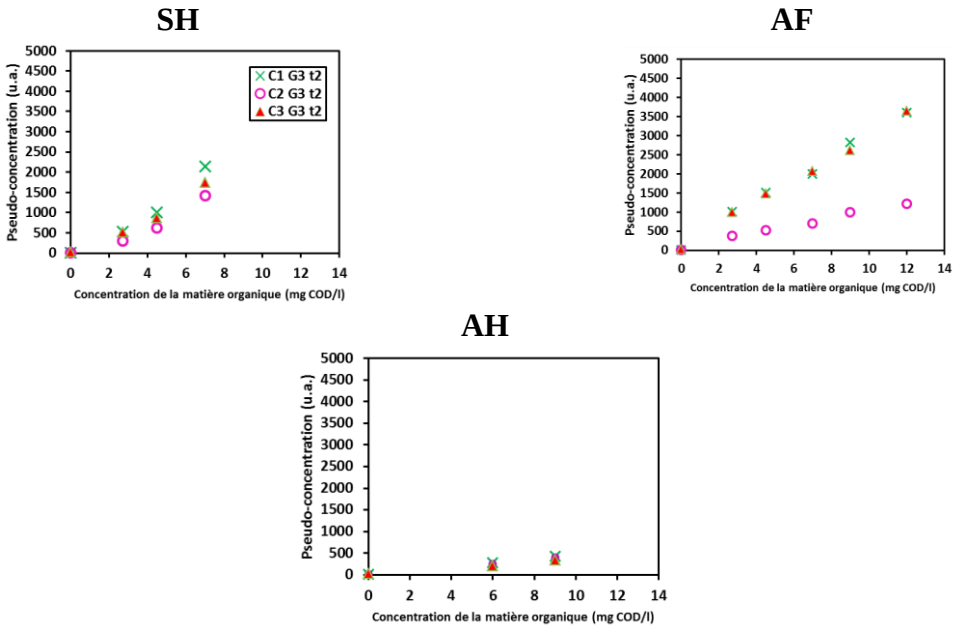


Figure A.C.3. Pseudo-concentrations des fluorophores présents dans les échantillons du groupe G3 t2.

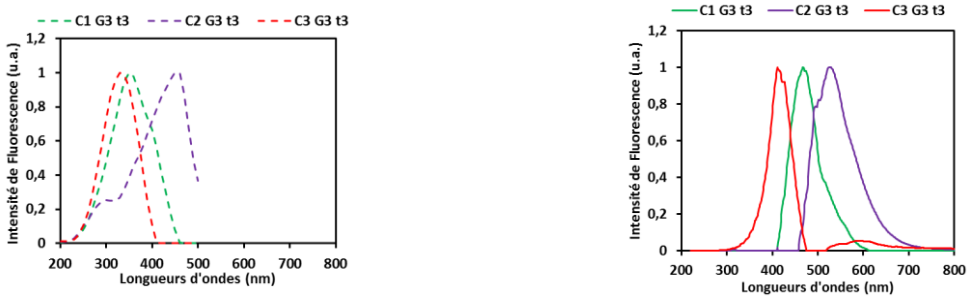


Figure A.C.4. Spectres d'excitation (tirets) et d'émission (ligne continue) de fluorescence des composés issus du modèle PARAFAC à 3 composants du groupe G3 t3.

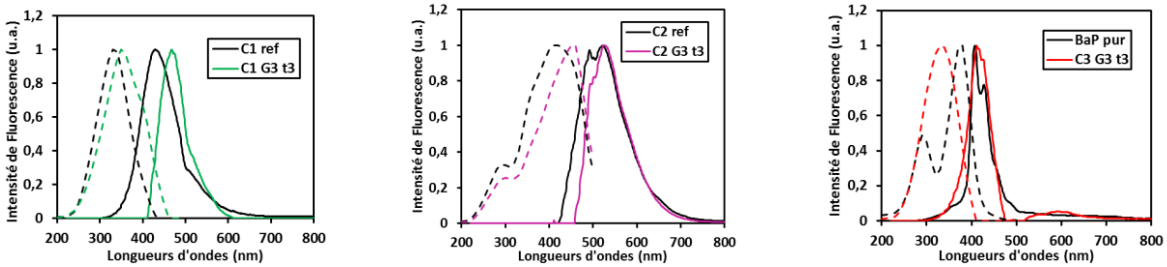


Figure A.C.5. Superposition des spectres d'excitation (tirets) et d'émission (ligne continue) de fluorescence des composants du groupe G3 t3 avec ceux de référence.

Tableau A.C.2. Valeur des coefficients de similarité r_c des spectres d'excitation et d'émission des fluorophores issus du groupe 9 avec un modèle PARAFAC à 3 composants (C1 G3 t3, C2 G3 t3 et C3 G3 t3) avec les composants de référence issus du modèle PARAFAC à deux composants (C1 ref et C2 ref) et ceux du BaP pur.

Excitation	C1 G3 t3	C2 G3 t3	C3 G3 t3
C1 ref	0,913		
C2 ref		0,975	
BaP pur			0,774

Émission	C1 G3 t3	C2 G3 t3	C3 G3 t3
C1 ref	0,767		
C2 ref		0,952	
BaP pur			0,973

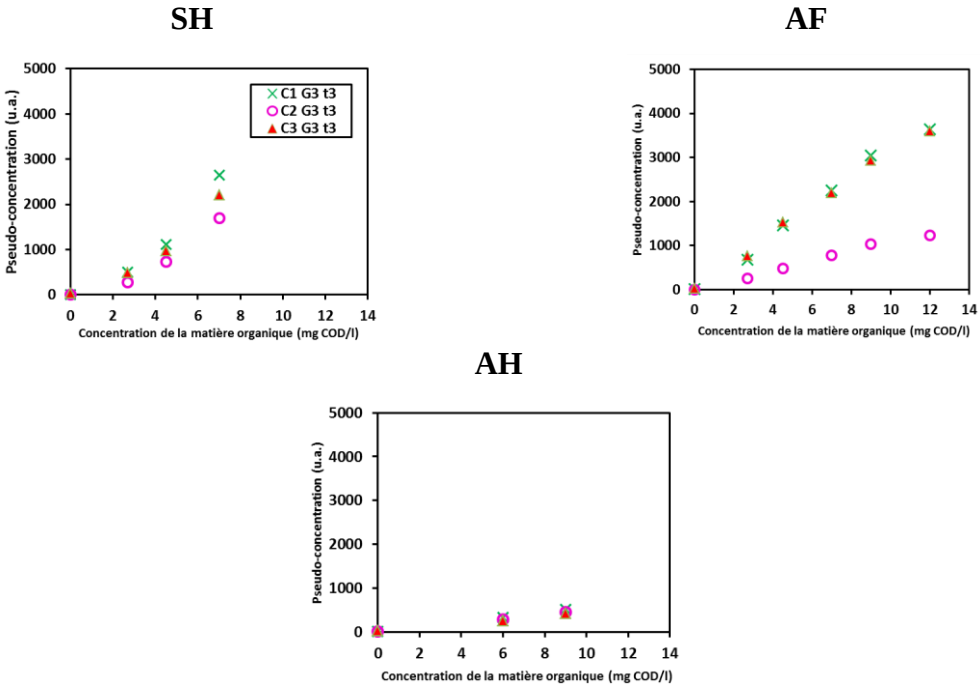


Figure A.C.6. Pseudo-concentrations des fluorophores présents dans les échantillons du groupe G3 t3.

Annexe D

Pseudo-concentrations des composants issus des modèles PARAFAC à 4 composants des groupes G1 t1, G1 t2 et G1 t3

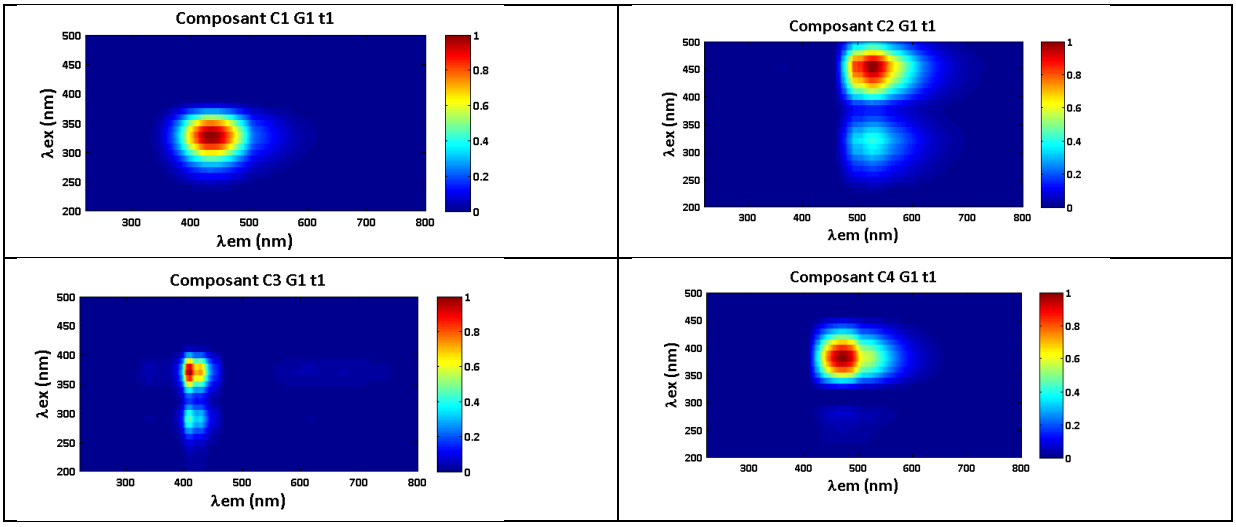


Figure A.D 1. MEEFs des fluorophores issus du modèle PARAFAC à 4 composants du groupe G1 t1.

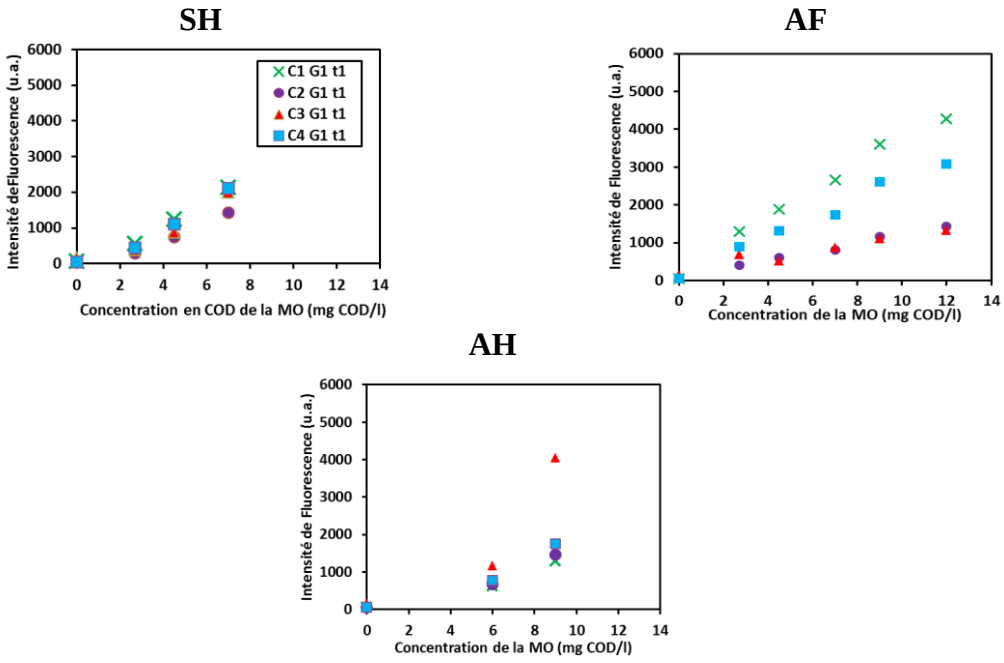


Figure A.D. 1 Pseudo-concentrations issus du modèle PARAFAC à 4 composants des fluorophores présents dans les échantillons du groupe G1 t1.

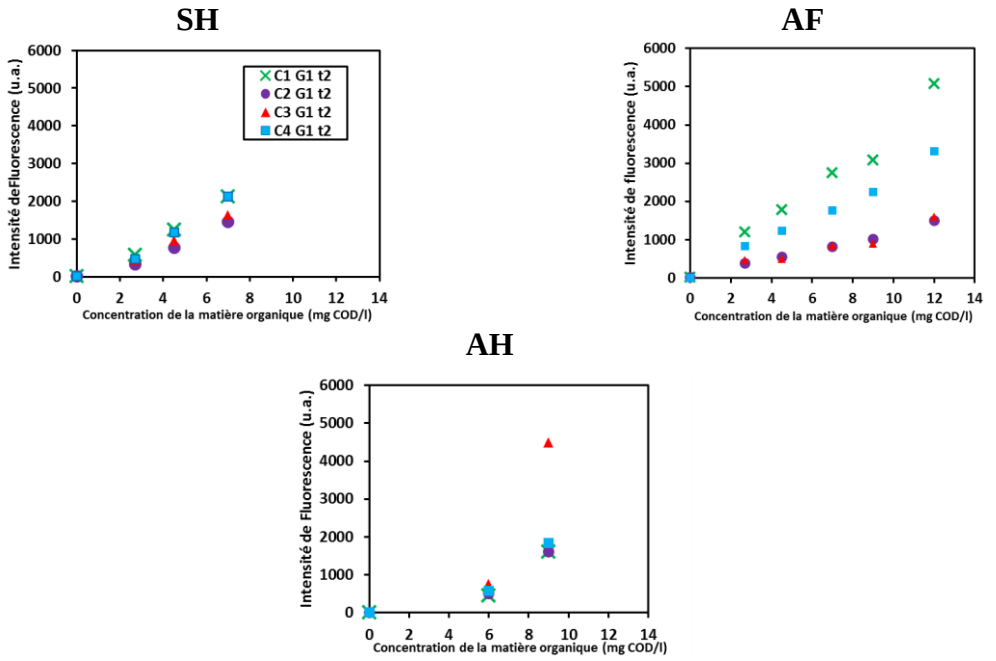


Figure A.D. 2. Pseudo-concentrations issus du modèle PARAFAC à 4 composants des fluorophores présents dans les échantillons du groupe G1 t2.

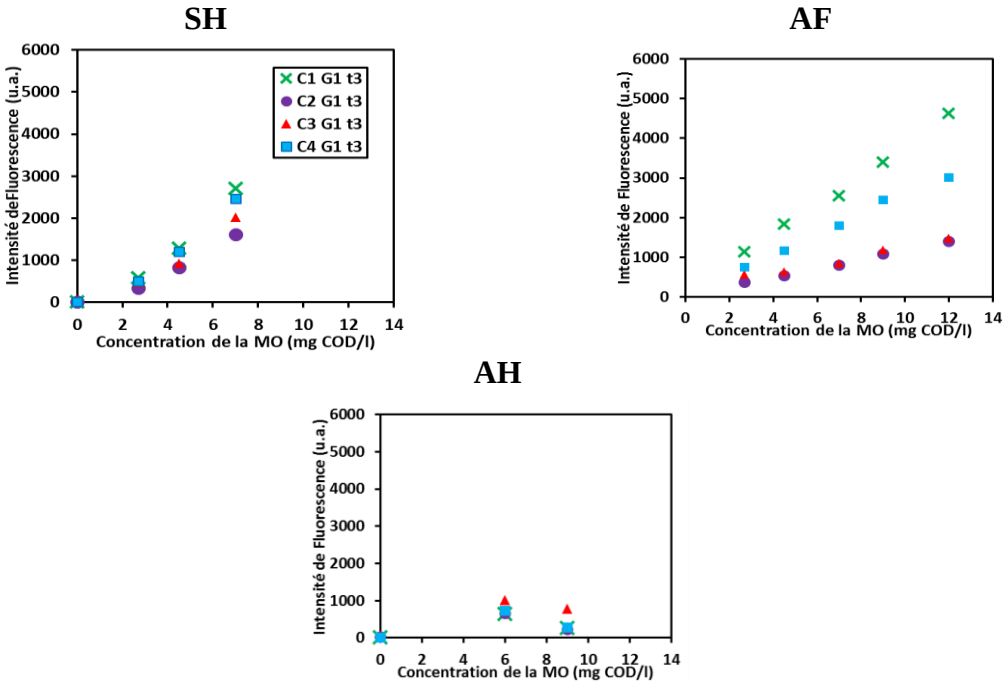


Figure A.D. 3. Pseudo-concentrations issus du modèle PARAFAC à 4 composants des fluorophores présents dans les échantillons du groupe G1 t3.

Annexe E

Spectres d'excitation et d'émission et pseudo-concentrations des composants issus des modèles PARAFAC à 4 composants des groupes G2 t1, G2 t2 et G2 t3 et MEEFs des fluorophores du groupe G2 t1

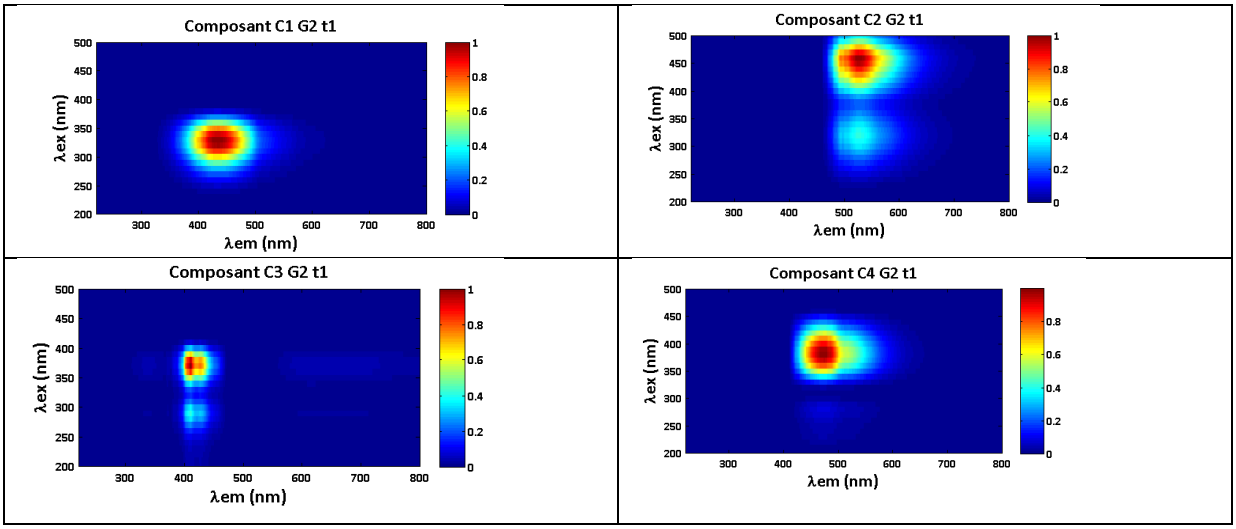


Figure A.E. 1. MEEFs des fluorophores issus du modèle PARAFAC à 4 composants du groupe G2 t1.

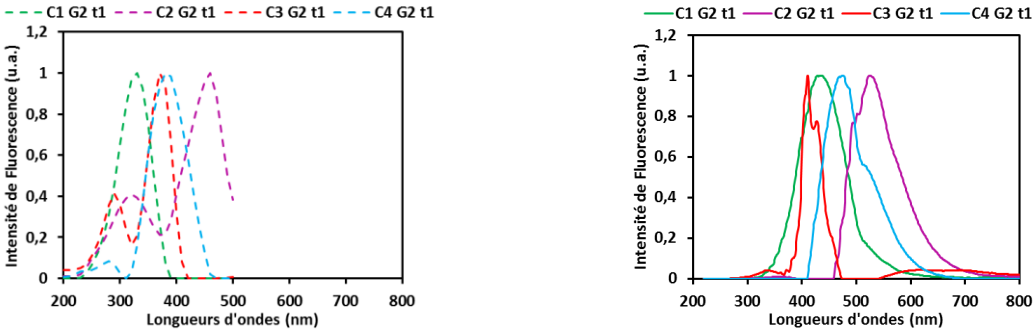


Figure A.E.4. Spectres d'excitation (tirets) et d'émission (ligne continue) des composants présents dans les échantillons du groupe G2 t1 obtenus par le modèle PARAFAC à 4 composants.

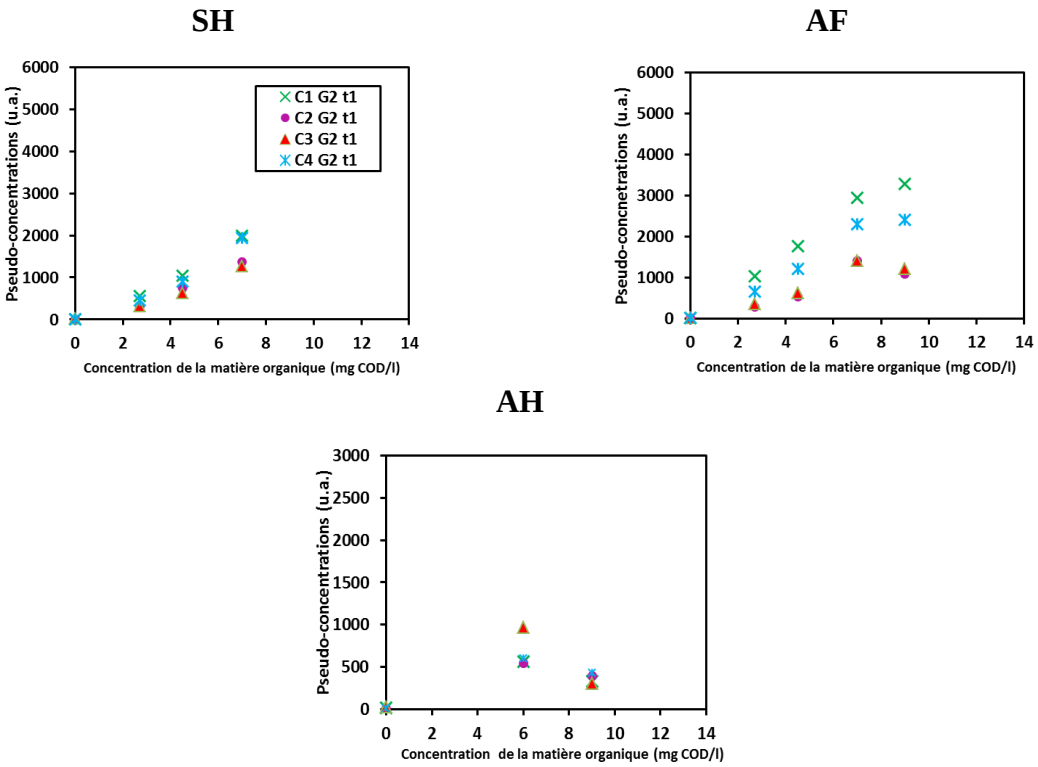


Figure A.E.5. Pseudo-concentrations issus du modèle PARAFAC à 4 composants des fluorophores présents dans les échantillons du groupe G2 t1.

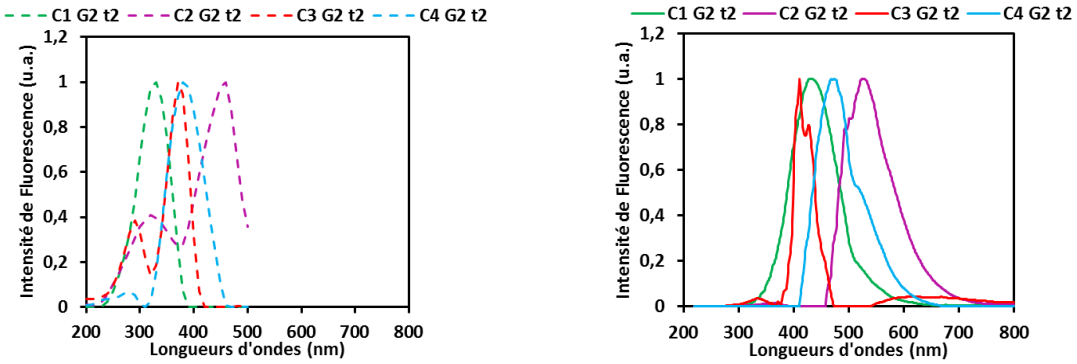


Figure A.E.6. Spectres d'excitation (tirets) et d'émission (ligne continue) des composants présents dans les échantillons du groupe G2 t2 obtenus par le modèle PARAFAC à 4 composants.

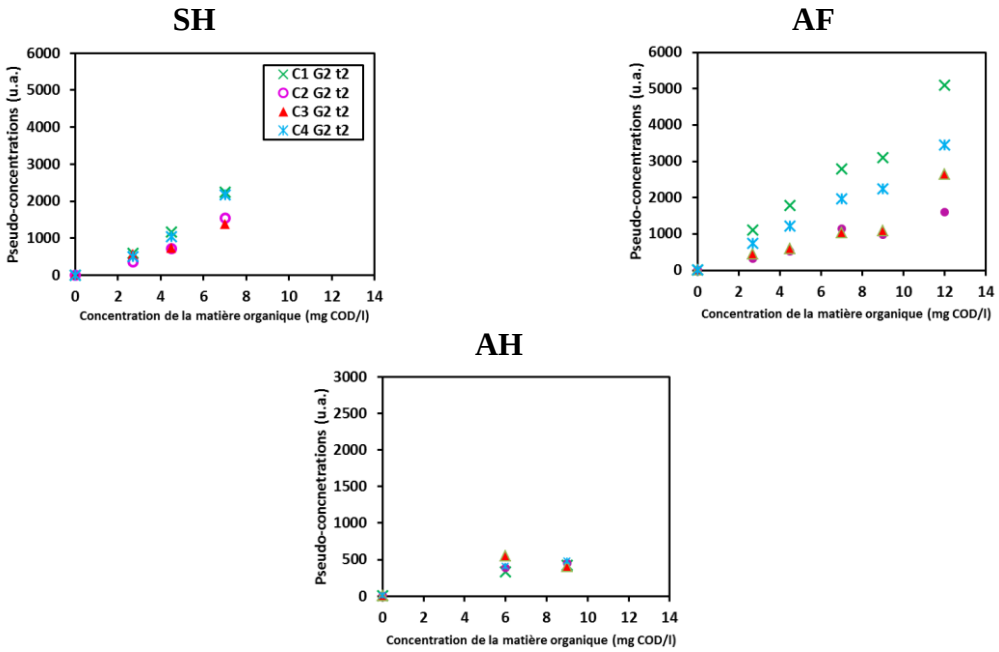


Figure A.E.7. Pseudo-concentrations issus du modèle PARAFAC à 4 composants des fluorophores présents dans les échantillons du groupe G2 t2.

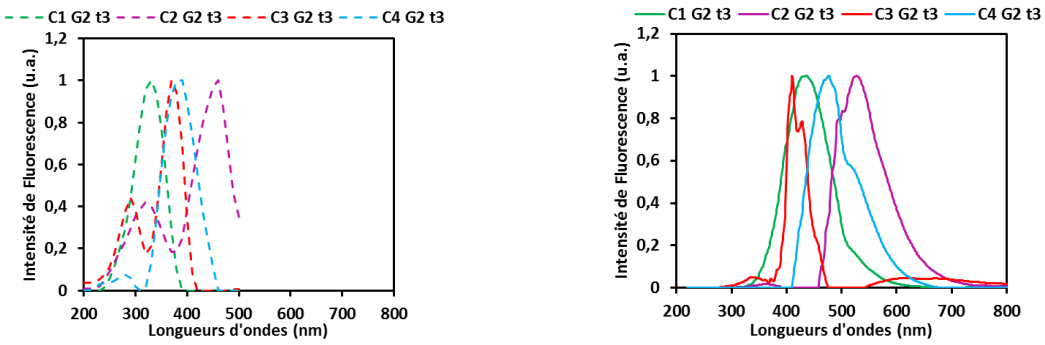


Figure A.E.8. Spectres d'excitation et d'émission des composants présents dans les échantillons du groupe G2 t3 obtenus par le modèle PARAFAC à 4 composants.

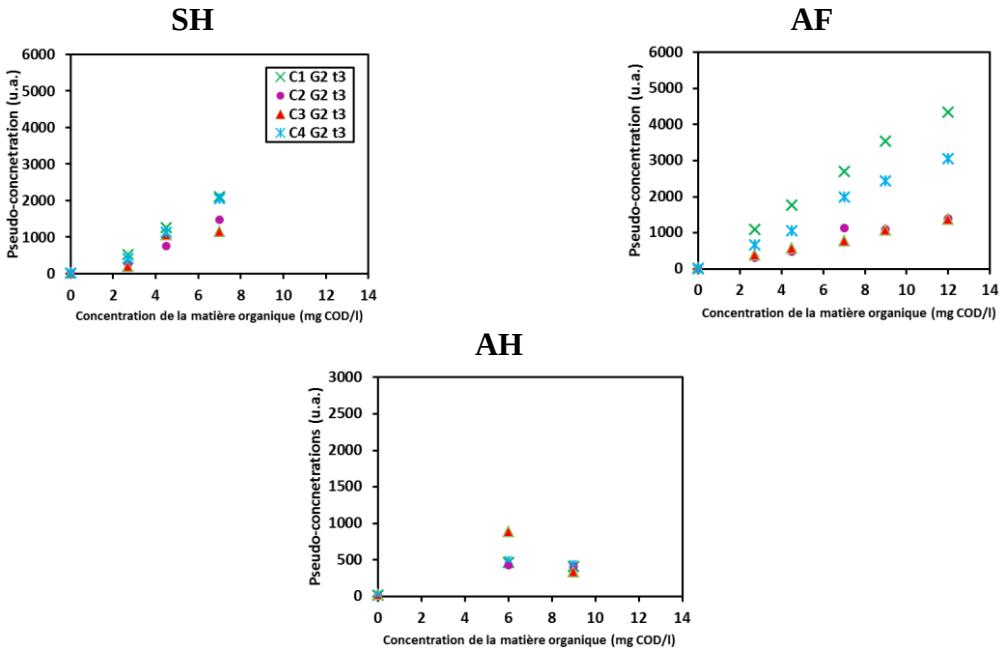


Figure A.E.9. Pseudo-concentrations issus du modèle PARAFAC à 4 composants des fluorophores présents dans les échantillons du groupe G3 t3.

Annexe F

Spectres d'excitation et d'émission et pseudo-concentrations des composants issus des modèles PARAFAC à 4 composants des groupes G3 t1, G3 t2 et G3 t3, et MEEFs des fluorophores du groupe G3 t1

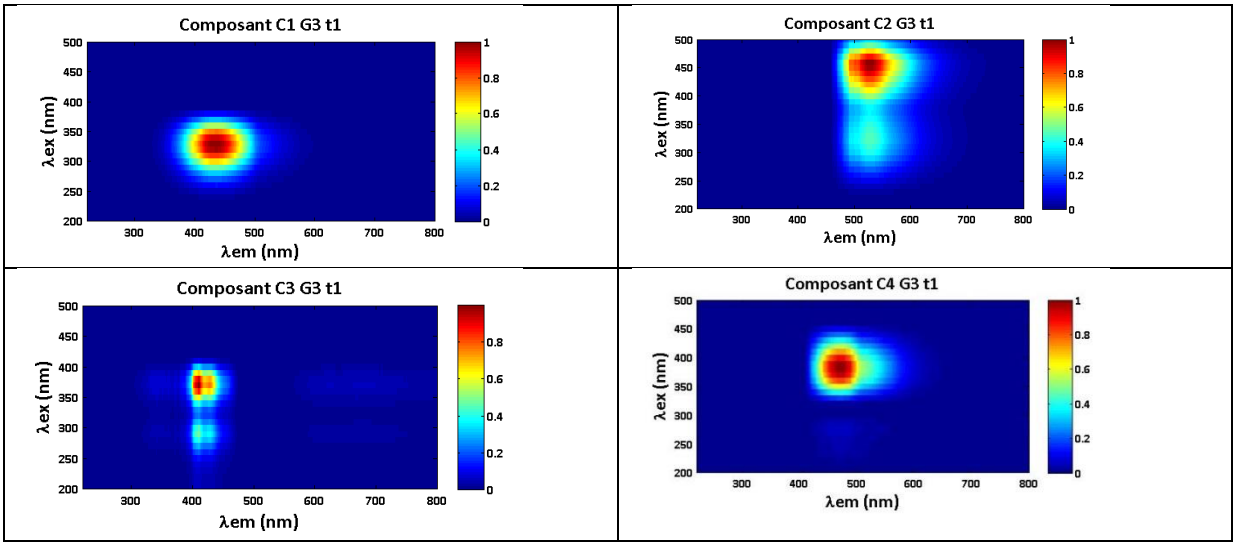


Figure A.F. 1. MEEFs des fluorophores issus du modèle PARAFAC à 4 composants du groupe G3 t1.

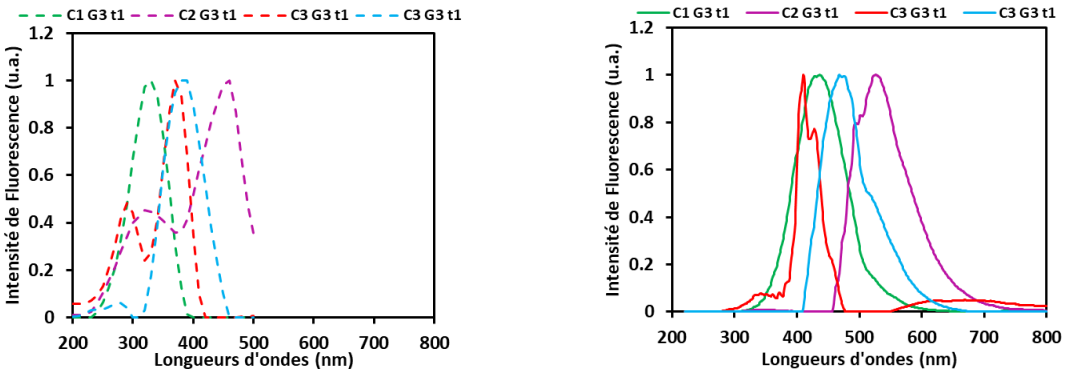


Figure A.F. 2. Spectres d'excitation et d'émission des composants présents dans les échantillons du groupe G3 t1 obtenus par le modèle PARAFAC à 4 composants.

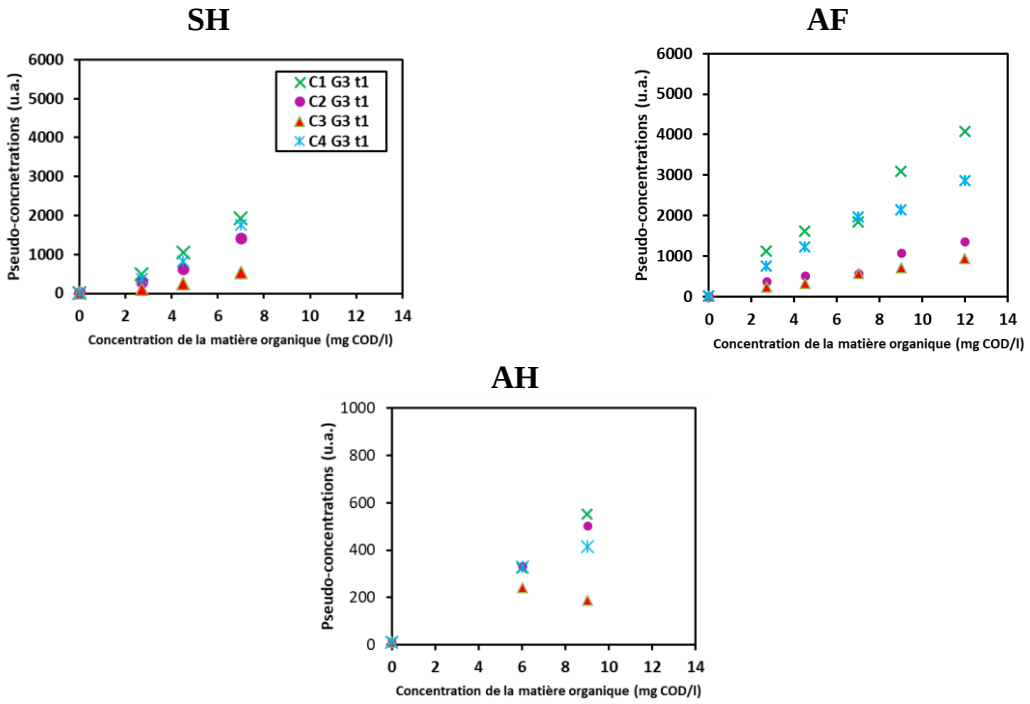


Figure A.F. 3. Pseudo-concentrations issus du modèle PARAFAC à 4 composants des fluorophores présents dans les échantillons du groupe G3 t1.

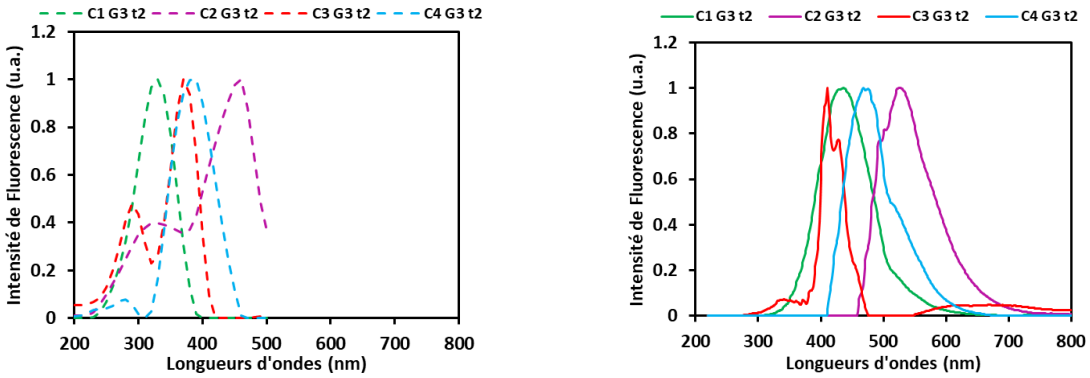


Figure A.F. 4. Spectres d'excitation et d'émission des composants présents dans les échantillons du groupe G3 t2 obtenus par le modèle PARAFAC à 4 composants.

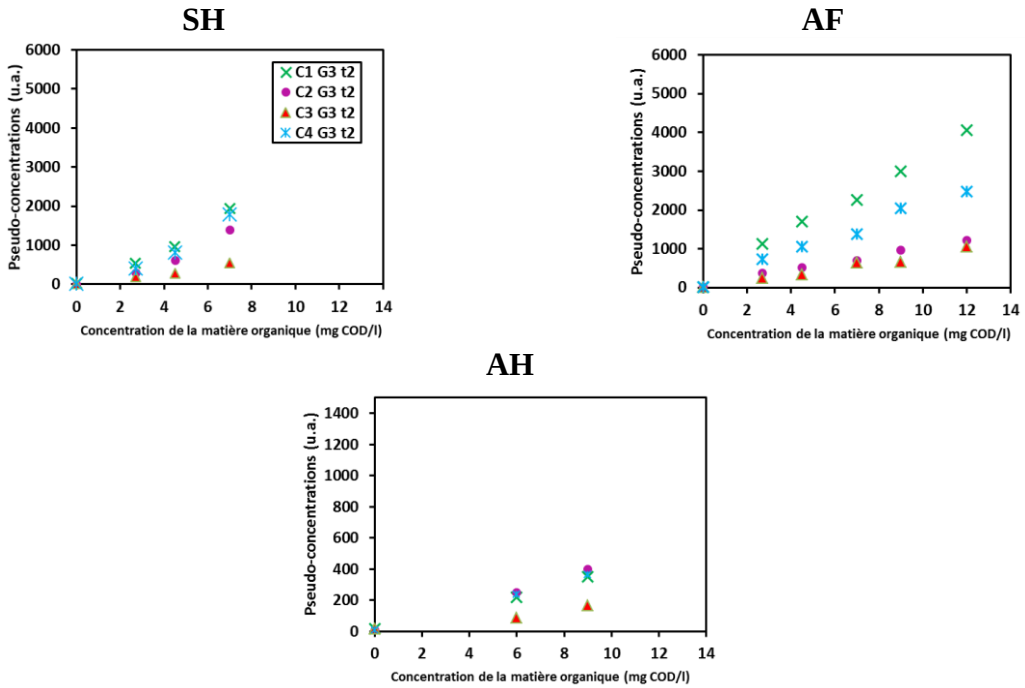


Figure A.F. 5. Pseudo-concentrations issus du modèle PARAFAC à 4 composants des fluorophores présents dans les échantillons du groupe G3 t2.

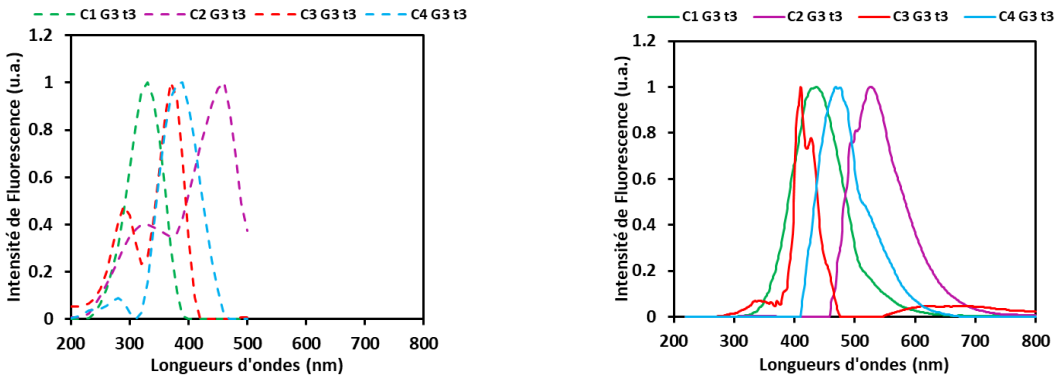


Figure A.F. 6. Spectres d'excitation et d'émission des composants présents dans les échantillons du groupe G3 t3 obtenus par le modèle PARAFAC à 4 composants.

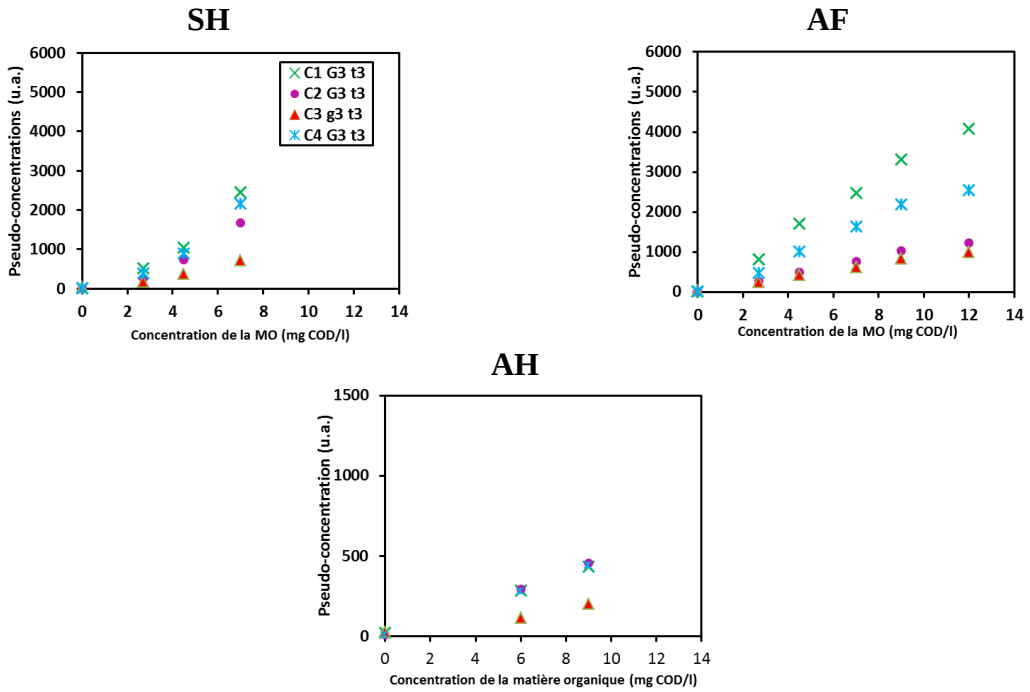


Figure A.F. 7. Pseudo-concentrations issus du modèle PARAFAC à 4 composants des fluorophores présents dans les échantillons du groupe G3 t3.

Annexe G

Temps de rétentions des pics observés dans les groupes G1, G2 et G3

	Tr 1	Tr 2	Tr3
SH1 G1 t1		5,21	13,14
SH2 G1 t1		5,31	12,45
SH3 G1 t1		5,11	12,63
AF1 G1 t1			12,06
AF2 G1 t1			12,07
AF3 G1 t1			12,07
AF4 G1 t1			11,86
AF5 G1 t1			11,72
AH1 G1 t1	3,3	5,15	12,99
AH2 G1 t1	3,3	5,1	13,15

	Tr 1	Tr 2	Tr3
SH1 G1 t2		5,38	12,49
SH2 G1 t2		5,27	12,72
SH3 G1 t2		5,19	13,63
AF1 G1 t2		4,97	13,25
AF2 G1 t2			13,11
AF3 G1 t2			12,99
AF4 G1 t2			12,95
AF5 G1 t2			12,73
AH1 G1 t2	3,29	5,11	13,28
AH3 G1 t2		5,22	13,29

	Tr 1	Tr 2	Tr3
SH1 G1 t3		5,27	12,47
SH2 G1 t3		5,13	12,49
SH3 G1 t3		5,16	12,62
AF1 G1 t3			12,85
AF2 G1 t3			12,94
AF3 G1 t3			12,8
AF4 G1 t3			12,85
AF5 G1 t3			12,94
AH1 G1 t3		5,27	13,25
AH3 G1 t3			13,25

	Tr 1	Tr 2	Tr3
SH1 G2 t1		5.28	13.32
SH2 G2 t1			13.05
SH3 G2 t1		5.25	13.08
AF1 G2 t1			12.08
AF2 G2 t1			12.06
AF3 G2 t1	3.27		11.94
AF4 G2 t1			11.85
AF5 G2 t1			12.84
AH1 G2 t1		5.1	12.79
AH2 G2 t1		5.12	12.66

	Tr 1	Tr 2	Tr3
SH1 G2 t2		5.26	13.6
SH2 G2 t2			13.72
SH3 G2 t2		5.29	13.35
AF1 G2 t2			13.16
AF2 G2 t2			13.02
AF3 G2 t2	3.36		13.07
AF4 G2 t2			12.89
AF5 G2 t2			12.68
AH1 G2 t2			13.03
AH3 G2 t2			13.32

	Tr 1	Tr 2	Tr3
SH1 G2 t3		5.08	12.81
SH2 G2 t3			12.63
SH3 G2 t3		5.14	12.56
AF1 G2 t3			12.84
AF2 G2 t3			12.92
AF3 G2 t3	3.3		12.84
AF4 G2 t3			12.85
AF5 G2 t3			12.86
AH1 G2 t3		5.23	13.35
AH3 G2 t3		5.25	13.28

	Tr 1	Tr 2	Tr3
SH1 G3 t1	3.39		13.44
SH2 G3 t1			12.95
SH3 G3 t1			13
AF1 G3 t1			12.08
AF2 G3 t1			12.1
AF3 G3 t1			11.86
AF4 G3 t1			11.77
AF5 G3 t1			11.73
AH1 G3 t1			12.79
AH2 G3 t1			12.62

	Tr 1	Tr 2	T*	Tr3
SH1 G3 t2	3.34			12.71
SH2 G3 t2			8.88	13.74
SH3 G3 t2				13.36
AF1 G3 t2				13.16
AF2 G3 t2				13.13
AF3 G3 t2				13.16
AF4 G3 t2				
AF5 G3 t2				12.71
AH1 G3 t2	3.38			13.37
AH3 G3 t2				13.32

	Tr 1	Tr 2	Tr3
SH1 G3 t3	3.28		12.77
SH2 G3 t3			12.59
SH3 G3 t3			12.56
AF1 G3 t3			12.96
AF2 G3 t3			12.87
AF3 G3 t3			12.83
AF4 G3 t3			12.97
AF5 G3 t3			12.48
AH1 G3 t3			13.34
AH3 G3 t3			13.24

Références

Ahangar, A.G., Smernik, R.J., Kookana, R.S., Chittleborough, D.J., 2008. Separating the effects of organic matter–mineral interactions and organic matter chemistry on the sorption of diuron and phenanthrene. Chemosphere 72, 886–890. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.03.059.

Aiken, G.R. (Ed.), 1985. Humic substances in soil, sediment, and water: geochemistry, isolation, and characterization. Wiley, New York.

Alarcón, F., Báez, M.E., Bravo, M., Richter, P., Escandar, G.M., Olivieri, A.C., Fuentes, E., 2013. Feasibility of the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in edible oils via unfolded partial least-squares/residual bilinearization and parallel factor analysis of fluorescence excitation emission matrices. Talanta 103, 361–370. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2012.10.080.

Alexander, M., 1995. How toxic are toxic chemicals in soil? Environmental Science and Technology, 29, 2713–2717.

Andersen, C.M., Bro, R., 2003. Practical aspects of PARAFAC modeling of fluorescence excitation-emission data. Journal of Chemometrics 17, 200–215. https://doi.org/10.1002/cem.790.

Anderson, T.R., Slotkin, T.A., 1975. Maturation of the adrenal medulla--IV. Effects of morphine. Biochem. Pharmacol. 24, 1469–1474.

Armstrong, B., Tremblay, C., Baris, D., Thériault, G., 1994. Lung cancer mortality and polynuclear aromatic hydrocarbons: a case-cohort study of aluminum production workers in Arvida, Quebec, Canada. Am. J. Epidemiol. 139, 250–262.

Baker, A., 2001. Fluorescence Excitation−Emission Matrix Characterization of Some Sewage-Impacted Rivers. Environmental Science & Technology 35, 948–953. https://doi.org/10.1021/es000177t.

Baker, A., Tipping, E., Thacker, S.A., Gondar, D., 2008. Relating dissolved organic matter fluorescence and functional properties. Chemosphere 73, 1765–1772. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.09.018.

Ball, W.P., Roberts, P.V., 1991. Long-term sorption of halogenated organic chemicals by aquifer material. 1. Equilibrium. Environmental Science & Technology 25, 1223–1237. https://doi.org/10.1021/es00019a002.

Ballesteros-Gómez, A., Rubio, S., Pérez-Bendito, D., 2008. Determination of priority carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons in wastewater and surface water by coacervative extraction and liquid chromatography–fluorimetry. Journal of Chromatography A 1203, 168–176. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2008.07.044.

Barriuso, E., Calvet, R., Schiavon, M., Soulas, G., 1996. Les pesticides et les polluants organiques des sols: transformations et dissipation. http://www.afes.fr/afes/egs/EGS_3_4_BARRIUSO.pdf.

Beck, A.J., Alcock, R.E., Wilson, S.C., Wang, M.-J., Wild, S.R., Sewart, A.P., Jones, K.C., 1995. Long-Term Persistence of Organic Chemicals in Sewage Sludge-Amended Agricultural Land: A Soil Quality Perspective, in: Advances in Agronomy. Elsevier, pp. 345–391.

Bedient, P.B., Rodgers, A.C., Bouvette, T.C., Tomson, M.B., Wang, T.H., 1984. Ground-Water Quality at a Creosote Waste Site. Ground Water 22, 318–329. https://doi.org/10.1111/j.1745-6584.1984.tb01404.x.

Beltrán, J.L., Guiteras, J., Ferrer, R., 1998. Parallel factor analysis of partially resolved chromatographic data. Journal of Chromatography A 802, 263–275. https://doi.org/10.1016/S0021-9673(97)01160-6.

Bengraïne, K., Marhaba, T.F., 2004. Predicting organic loading in natural water using spectral fluorescent signatures. Journal of Hazardous Materials 108, 207–211. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2003.12.002.

Berrueta, L.A., Fernández, L.A., Vicente, F., 1991. Fluorescence study of the solubilization of benzo[a]pyrene: application to its detection in coal washing waters. Analytica Chimica Acta 243, 115–119. https://doi.org/10.1016/S0003-2670(00)82548-9.

Bieroza, M., Baker, A., Bridgeman, J., 2011. Classification and calibration of organic matter fluorescence data with multiway analysis methods and artificial neural networks: an operational tool for improved drinking water treatment. Environmetrics 22, 256–270. https://doi.org/10.1002/env.1045.

Blumer, M., 1961. Benzpyrenes in Soil. Science 134, 474–475. https://doi.org/10.1126/science.134.3477.474.

Bortolato, S.A., Arancibia, J.A., Escandar, G.M., 2008. Chemometrics-Assisted Excitation−Emission Fluorescence Spectroscopy on Nylon Membranes. Simultaneous Determination of Benzo[*a*]pyrene and Dibenz[*a,h*]anthracene at Parts-Per-Trillion Levels in the Presence of the Remaining EPA PAH Priority Pollutants As Interferences. Analytical Chemistry 80, 8276–8286. https://doi.org/10.1021/ac801458a.

Bose, K.S., Sarma, R.H., 1975. Delineation of the intimate details of the backbone conformation of pyridine nucleotide coenzymes in aqueous solution. Biochem. Biophys. Res. Commun. 66, 1173–1179.

Bro, R., 1997. PARAFAC. Tutorial and applications. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems 38, 149–171. https://doi.org/10.1016/S0169-7439(97)00032-4.

Bro, R., Kiers, H.A.L., 2003. A new efficient method for determining the number of components in PARAFAC models. Journal of Chemometrics 17, 274–286. https://doi.org/10.1002/cem.801.

Butler, J.P., Post, G.B., Lioy, P.J., Waldman, J.M., Greenberg, A., 1993. Assessment of carcinogenic risk from personal exposure to benzo(a)pyrene in the Total Human Environmental Exposure Study (THEES). Air Waste 43, 970–977.

Capitán-Vallvey, L.F., del Olmo Iruela, M., Castañeda, R.A., Quero, J.L.V., 1993.

Determination of Benzo(a)pyrene in Water by Synchronous Fluorimetry Following Preconcentration on Sephadex Gels. Analytical Letters 26, 2443–2454. https://doi.org/10.1080/00032719308017483.

Caron, G., Suffet, I.H., 1988. Binding of Nonpolar Pollutants to Dissolved Organic Carbon: Environmental Fate Modeling, in: Suffet, I.H., MacCarthy, P. (Eds.), Aquatic Humic Substances. American Chemical Society, Washington, DC, pp. 117–130.

Caron, G., Suffet, I.H., Belton, T., 1985. Effect of dissolved organic carbon on the environmental distribution of nonpolar organic compounds. Chemosphere 14, 993–1000. https://doi.org/10.1016/0045-6535(85)90020-7.

Chefetz, B., Deshmukh, A.P., Hatcher, P.G., Guthrie, E.A., 2000. Pyrene Sorption by Natural Organic Matter. Environmental Science & Technology 34, 2925–2930. https://doi.org/10.1021/es9912877.

Chen, C., Rubao, J., Schwab, J.D., Beletsky, D., Fahnenstiel, L.G., Jiang, M., Johengen, T.H., Vanderploeg, H., Eadie, B., Wells Budd, J., Bundy, M.H., Gardner, W., Cotner, J., Lavrentyev, P.J., 2002. A model study of the coupled biological and physical dynamics in Lake Michigan. Ecological modelling (152)145–168.

Chen, J., Gu, B., LeBoeuf, E.J., Pan, H., Dai, S., 2002. Spectroscopic characterization of the structural and functional properties of natural organic matter fractions. Chemosphere 48, 59–68. https://doi.org/10.1016/S0045-6535(02)00041-3.

Chen, J., LeBoeuf, E.J., Dai, S., Gu, B., 2003. Fluorescence spectroscopic studies of natural organic matter fractions. Chemosphere 50, 639–647. https://doi.org/10.1016/S0045-6535(02)00616-1.

Chen, R.F., 1999. In situ fluorescence measurements in coastal waters. Organic Geochemistry 30, 397–409. https://doi.org/10.1016/S0146-6380(99)00025-X.

Chen, S., Inskeep, W.P., Williams, S.A., Callis, P.R., 1994. Fluorescence Lifetime Measurements of Fluoranthene, 1-Naphthol, and Napropamide in the Presence of Dissolved Humic Acid. Environmental Science & Technology 28, 1582–1588. https://doi.org/10.1021/es00058a008.

Chin, Y.-P., Aiken, G., O'Loughlin, E., 1994. Molecular Weight, Polydispersity, and Spectroscopic Properties of Aquatic Humic Substances. Environmental Science & Technology 28, 1853–1858. https://doi.org/10.1021/es00060a015.

Chin, Y.-P., Aiken, G.R., Danielsen, K.M., 1997. Binding of Pyrene to Aquatic and Commercial Humic Substances: The Role of Molecular Weight and Aromaticity. Environmental Science & Technology 31, 1630–1635. https://doi.org/10.1021/es960404k.

Coble, P.G., 1996. Characterization of marine and terrestrial DOM in seawater using excitation-emission matrix spectroscopy. Marine Chemistry 51, 325–346. https://doi.org/10.1016/0304-4203(95)00062-3.

Coble, P.G., Green, S.A., Blough, N.V., Gagosian, R.B., 1990. Characterization of dissolved organic matter in the Black Sea by fluorescence spectroscopy. Nature 348, 432–435.

https://doi.org/10.1038/348432a0.

Cook, J.W., Hewett, C.L., Hieger, I., 1933. 106. The isolation of a cancer-producing hydrocarbon from coal tar. Parts I, II, and III. Journal of the Chemical Society (Resumed) 395. https://doi.org/10.1039/jr9330000395.

Crépineau, C., Rychen, G., Feidt, C., Le Roux, Y., Lichtfouse, E., Laurent, F., 2003. Contamination of Pastures by Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in the Vicinity of a Highway. Journal of Agricultural and Food Chemistry 51, 4841–4845. https://doi.org/10.1021/jf0210371.

Crittenden, J.C., Montgomery Watson Harza (Firm) (Eds.), 2012. MWH's water treatment: principles and design, 3rd ed. ed. John Wiley & Sons, Hoboken, N.J.

DalCorso, G., Farinati, S., Maistri, S., Furini, A., 2008. How plants cope with cadmium: staking all on metabolism and gene expression. J Integr Plant Biol 50, 1268–1280. https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2008.00737.x.

Dec, J., Bollag, J.-M., 1997. DETERMINATION OF COVALENT AND NONCOVALENT BINDING INTERACTIONS BETWEEN XENOBIOTIC CHEMICALS AND SOIL: Soil Science 162, 858–874. https://doi.org/10.1097/00010694-199712000-00002.

Dell' Agnola, G., Ferrari, G., Nardi, S., 1981. Antidote action of humic substances on atrazine inhibition of sulfate uptake in barley roots. Pesticide Biochemistry and Physiology 15, 101–104. https://doi.org/10.1016/0048-3575(81)90075-4.

DiVincenzo, J.P., Sparks, D.L., 1997. Slow Sorption Kinetics of Pentachlorophenol on Soil: Concentration Effects. Environmental Science & Technology 31, 977–983. https://doi.org/10.1021/es9601494.

Doll, T.E., Frimmel, F.H., Kumke, M.U., Ohlenbusch, G., 1999. Interaction between natural organic matter (NOM) and polycyclic aromatic compounds (PAC) - comparison of fluorescence quenching and solid phase micro extraction (SPME). Fresenius' Journal of Analytical Chemistry 364, 313–319. https://doi.org/10.1007/s002160051342.

Duchaufour, P., Jacquin, F., 1966. Nouvelles recherches sur l'extraction et le fractionnement des composes humiques. Bull. E.N.S.A. 3–24.

Edwards, N.T., 1983. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH's) in the terrestrial environment—a review. Journal of Environmental Quality 12, 427–441.

Edwards, N.T., 1986. Uptake, translocation and metabolism of anthracene in bush bean (*Phaseolus Vulgaris* L.). Environmental Toxicology and Chemistry 5, 659–665. https://doi.org/10.1002/etc.5620050706.

Elcoroaristizabal, S., de Juan, A., García, J.A., Durana, N., Alonso, L., 2014. Comparison of second-order multivariate methods for screening and determination of PAHs by total fluorescence spectroscopy. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems 132, 63–74. https://doi.org/10.1016/j.chemolab.2014.01.005.

EPA, 1987. Locating and Estimating Air Emissions from Sources of Polycyclic Organic Matter (POM). EPA-45014-84-007.

C.E.E., Européenne, C.D.L. 1980. Directive 80/778/CEE. Journal Officiel de l'Union Européenne.

CIRC, Polynuclear Aromatic Compounds, Part 1, chemical, Environmental and Experimental Data, IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans, 32, Lyon, France, (2008), 33-91.

Cornelissen, G., Rigterink, H., Ferdinandy, M.M.A., Van Noort, P.C.M., 1998. Environ Sci Technol 32, 966–970.

Cory, R.M., McKnight, D.M., 2005. Fluorescence Spectroscopy Reveals Ubiquitous Presence of Oxidized and Reduced Quinones in Dissolved Organic Matter. Environmental Science & Technology 39, 8142–8149. https://doi.org/10.1021/es0506962.

De Laurentiis, E., Minella, M., Maurino, V., Minero, C., Brigante, M., Mailhot, G., Vione, D., 2012. Photochemical production of organic matter triplet states in water samples from mountain lakes, located below or above the tree line. Chemosphere 88, 1208-1213.

Del Castillo, C.E., Coble, P.G., Morell, J.M., Lopez, J.M., Corredor, J.E., 1999. Analysis of the optical properties of the Orinoco River plume by absorption and fluorescence spectroscopy66, 35-51.

Ferrer, R., Beltrán, J.L., Guiteras, J., 1998. Multivariate calibration applied to synchronous fluorescence spectrometry. Simultaneous determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples. Talanta 45, 1073–1080. https://doi.org/10.1016/S0039-9140(97)00212-9.

Ferretto, N., Tedetti, M., Guigue, C., Mounier, S., Redon, R., Goutx, M., 2014. Identification and quantification of known polycyclic aromatic hydrocarbons and pesticides in complex mixtures using fluorescence excitation–emission matrices and parallel factor analysis.Chemosphere107,344–353. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.12.087.

Ferretto, N., Tedetti, M., Guigue, C., Mounier, S., Raimbault, P., Goutx, M., 2017. Spatio-temporal variability of fluorescent dissolved organic matter in the Rhône River delta and the Fos-Marseille marine area (NW Mediterranean Sea, France). Environmental Science and Pollution Research 24, 4973–4989. https://doi.org/10.1007/s11356-016-8255-z.

Förster, T., 1948. Intermolecular energy migration and fluorescence. Ann Phys 2, 55–75.

France, Agence de l'environnement et de la maîtrise de l'énergie, Jauzein, M., Feix, I., Wiart, J., 1995. Les micro-polluants organiques dans les boues résiduaires des stations d'épuration urbaines. ADEME Editions, Paris.

Fritz, W., 1983. Untersuchungen zum Verhalten von Benzo(a)pyren im Boden und zum Ubergang aus dem Boden in Ernteguter. Zbl Mikrobiol 138, 605–616.

Gao, J., Liang, C., Shen, G., Lv, J., Wu, H., 2017. Spectral characteristics of dissolved organic matter in various agricultural soils throughout China. Chemosphere 176, 108–116. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.02.104.

García Falcón, M.S., González Amigo, S., Lage Yusty, M.A., Simal Lozano, J., 1999. Determination of benzo[a]pyrene in some Spanish commercial smoked products by HPLC-FL. Food Addit Contam 16, 9–14. https://doi.org/10.1080/026520399284271.

Gevao, B., Semple, K.T., Jones, K.C., 2000. Bound pesticide residues in soils: a review. Environ. Pollut. 108, 3–14.

Gourdon R., Perrodin Y., Fery F., Cambier P., Barriuso E., Monediaire G., Gouguet T J.J., Tacheix T., Giraudel C., 1994. Investigation sur les différentes approches de la définition et de la qualification des sites pollués. Rapport final, Contrat Association RE. CO.R.D. N°93-503.

Grasso, D., Chin, Y.-P., Weber, W.J., 1990. Structural and behavioral characteristics of a commercial humic acid and natural dissolved aquatic organic matter. Chemosphere 21, 1181–1197. https://doi.org/10.1016/0045-6535(90)90139-K.

Green, S.A., Blough, N.V., 1994. Optical absorption and fluorescence properties of chromophoric dissolved organic matter in natural waters. Limnology and Oceanography 39, 1903–1916. https://doi.org/10.4319/lo.1994.39.8.1903.

Guo, W.-D., Yang, L.-Y., Wang, F.-L., Chen, W.-Z., Wang, X.-H., Hong, H.-S., 2011. [Parallel factor analysis for excitation emission matrix fluorescence spectroscopy of dissolved organic matter from a reservoir-type river]. Guang Pu Xue Yu Guang Pu Fen Xi 31, 427–430.

Guthrie, E.A., Pfaender, F.K., 1998. Reduced Pyrene Bioavailability in Microbially Active Soils. Environmental Science & Technology 32, 501–508. https://doi.org/10.1021/es970670d.

Haitzer, M., Burnison, B.K., Höss, S., Traunspurger, W., Steinberg, C.E.W., 1999. Effects of quantity, quality, and contact time of dissolved organic matter on bioconcentration of benzo[a]pyrene in the nematode *Caenorhabditis elegans*. Environmental Toxicology and Chemistry 18, 459–465. https://doi.org/10.1002/etc.5620180314.

Hall, G.J., Clow, K.E., Kenny, J.E., 2005. Estuarial Fingerprinting through Multidimensional Fluorescence and Multivariate Analysis. Environmental Science & Technology 39, 7560–7567. https://doi.org/10.1021/es0503074.

Harshman, R.A., 1970. Foundations of the PARAFAC procedure: Models and conditions for an "explanatory" multimodal factor analysis. UCLA Working Papers in Phonetics 16, 1–84.

Harvey, G.R., Boran, D.A., Chesal, L.A., Tokar, J.M., 1983. The structure of marine fulvic and humic acids. Marine Chemistry 12, 119–132. https://doi.org/10.1016/0304-4203(83)90075-0.

Harvey, R.G., 1997. Polycyclic aromatic hydrocarbons. Wiley [u.a.], New York.

Hashi, Y., Wang, T.-R., Du, W., Lin, J.-M., 2008. Rapid and sensitive determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in atmospheric particulates using fast high-performance liquid chromatography with on-line enrichment system. Talanta 74, 986–991. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2007.08.011.

Hatzinger, P.B., Alexander, M., 1995. Effect of Aging of Chemicals in Soil on Their Biodegradability and Extractability. Environmental Science & Technology 29, 537–545. https://doi.org/10.1021/es00002a033.

He, X.S., Xi, B.D., Wei, Z.M., Jiang, Y.H., Yang, Y., An, D., Cao, J.L., Liu, H.L., 2011. Fluorescence excitationΓÇôemission matrix spectroscopy with regional integration analysis for characterizing composition and transformation of dissolved organic matter in landfill leachates. J. Hazard. Mater. 190, 293-299.

Hitchcock, F.L., 1928. Multiple Invariants and Generalized Rank of a P-Way Matrix or Tensor. Journal of Mathematics and Physics 7, 39–79. https://doi.org/10.1002/sapm19287139.

Holbrook, R.D., Yen, J.H., Grizzard, T.J., 2006. Characterizing natural organic material from the Occoquan Watershed (Northern Virginia, US) using fluorescence spectroscopy and PARAFAC. Science of The Total Environment 361, 249–266. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2005.11.020.

Howerton, S.B., Goodpaster, J.V., McGuffin, V.L., 2002. Characterization of polycyclic aromatic hydrocarbons in environmental samples by selective fluorescence quenching. Analytica Chimica Acta 459, 61–73. https://doi.org/10.1016/S0003-2670(02)00106-X.

HSDB, 2000. Benzo[a]pyrene. Hazardous Substances Data Bank, National Library of Medicine. htpp://www.toxnet.nlm.nih.gov.

Hua, G., Killham, K., Singleton, I., 2006. Potential application of synchronous fluorescence spectroscopy to determine benzo[a]pyrene in soil extracts. Environmental Pollution 139, 272–278. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2005.05.012.

Hudson, N., Baker, A., Reynolds, D., 2007. Fluorescence analysis of dissolved organic matter in natural, waste and polluted waters—a review. River Research and Applications 23, 631–649. https://doi.org/10.1002/rra.1005.

IARC, 1987. Benzo[a]pyrene- groupe 2A. IARC. http://www.inchem.org/.

INERIS, 2003. Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques, Benzo(a)pyrène.

INERIS, 2006. Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques, Benzo(a)pyrène.

Ishii, S.K.L., Boyer, T.H., 2012. Behavior of Reoccurring PARAFAC Components in Fluorescent Dissolved Organic Matter in Natural and Engineered Systems: A Critical Review. Environmental Science & Technology 46, 2006–2017. https://doi.org/10.1021/es2043504.

Ishizaki, A., Saito, K., Hanioka, N., Narimatsu, S., Kataoka, H., 2010. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in food samples by automated on-line in-tube solid-phase microextraction coupled with high-performance liquid chromatography-fluorescence detection. Journal of Chromatography A 1217, 5555–5563. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.06.068.

Jaffé, R., Boyer, J.N., Lu, X., Maie, N., Yang, C., Scully, N.M., Mock, S., 2004. Source characterization of dissolved organic matter in a subtropical mangrove-dominated estuary by fluorescence analysis. Marine Chemistry 84, 195–210. https://doi.org/10.1016/j.marchem.2003.08.001.

Jain, T.B., Graham, R.T., Adams, D.L., 1997. Carbon to Organic Matter Ratios for Soils in Rocky Mountain Coniferous Forests. Soil Science Society of America Journal 61, 1190. https://doi.org/10.2136/sssaj1997.03615995006100040026x.

JiJi, R.D., Cooper, G.A., Booksh, K.S., 1999. Excitation-emission matrix fluorescence based determination of carbamate pesticides and polycyclic aromatic hydrocarbons. Analytica Chimica Acta 397, 61–72. https://doi.org/10.1016/S0003-2670(99)00392-X.

Jin, D., Li, G.-G., Zhang, Y.-J., Xiao, X., Zhao, N.-J., Yin, G.-F., Liu, W.-Q., 2009. [Quantitative analysis of phenanthrene and humic acid in solution based on fluorescence method]. Guang Pu Xue Yu Guang Pu Fen Xi 29, 2213–2216.

JOCE, 2004. Commission Directive 2004/73/EC, 29th time Council directive 67/548EEC.Official Journal of the European Communities.

Joner, E.J., Corgié, S.C., Amellal, N., Leyval, C., 2002. Nutritional constraints to degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in a simulated rhizosphere. Soil Biology and Biochemistry 34, 859–864. https://doi.org/10.1016/S0038-0717(02)00018-4.

Jones, K.C., Alcock, R.E., Johnson, D.L., Northcott, G.L., Semple, K.T. & Woolgar, P.J. 1996. Organic chemicals in contaminated land: analysis, significance and research priorities. Land Contamination and Reclamation, 4, 189–197.

Kalbitz, K., Geyer, S., Geyer, W., 2000. A comparative characterization of dissolved organic matter by means of original aqueous samples and isolated humic substances. Chemosphere 40, 1305–1312. https://doi.org/10.1016/S0045-6535(99)00238-6.

Kalbitz, K., Kaiser, K., 2003. Ecological aspects of dissolved organic matter in soils. Geoderma 113, 177–178. https://doi.org/10.1016/S0016-7061(02)00359-2.

Kan, A.T., Fu, G., Hunter, M., Chen, W., Ward, C.H., Tomson, M.B., 1998. Irreversible Sorption of Neutral Hydrocarbons to Sediments: Experimental Observations and Model Predictions. Environmental Science & Technology 32, 892–902. https://doi.org/10.1021/es9705809.

Kang, S., Xing, B., 2005. Phenanthrene Sorption to Sequentially Extracted Soil Humic Acids and Humins. Environmental Science&Technology 39, 134–140. https://doi.org/10.1021/es0490828.

Kayali-Sayadi, M.N., Rubio-Barroso, S., Díaz-Díaz, C.A., Polo-Díez, L.M., 2000. Rapid determination of PAHs in soil samples by HPLC with fluorimetric detection following sonication extraction. Fresenius J Anal Chem 368, 697–701.

Kerkhoff, M.J., Files, L.A., Winefordner, J.D., 1985. Identification of polyaromatic hydrocarbon mixtures by low-temperature constant energy synchronous fluorescence

spectrometry. Anal. Chem. 57, 1673–1676.

Konig, W., Hembrock-Heger, A., Wilkens, M., 1991. Persistent organic chemicals in soil – routes of entry and occurrence. Umweltwissensch schadstoff – Forsch 3, 33–36.

Kononova, M.M., 2013. Soil Organic Matter: Its Nature, Its Role in Soil Formation and in Soil Fertility. Elsevier Science, Burlington.

Kopinke, F.-D., Georgi, A., Mackenzie, K., 2001. Sorption of Pyrene to Dissolved Humic Substances and Related Model Polymers. 1. Structure−Property Correlation. Environmental Science & Technology 35, 2536–2542. https://doi.org/10.1021/es000233q.

Kraaij, R.H., Ciarelli, S., Tolls, J., Kater, B.J., Belfroid, A., 2001. Bioavailability of lab-contaminated and native polycyclic aromatic hydrocarbons to the amphipod Corophium volutator relates to chemical desorption. Environ. Toxicol. Chem. 20, 1716–1724.

Kumke, M.U., Frimmel, F.H., Ariese, F., Gooijer, C., 2000. Fluorescence of Humic Acids (HA) and Pyrene-HA Complexes at Ultralow Temperature. Environmental Science & Technology 34, 3818–3823. https://doi.org/10.1021/es9910457.

Kumke, M.U., Löhmannsröben, H.G., Roch, T., 1995. Fluorescence spectroscopy of polynuclear aromatic compounds in environmental monitoring. J Fluoresc 5, 139–152. https://doi.org/10.1007/BF00727531.

Lakowicz, J.R., 2010. Principles of fluorescence spectroscopy, 3. ed., corr. 4. print. ed. Springer, New York, NY.

Landrum, P.F., Nihart, S.R., Eadie, B.J., Herche, L.R., 1987. Reduction in bioavailability of organic contaminants to the amphipod *pontoporeia hoyi* by dissolved organic matter of sediment interstitial waters. Environmental Toxicology and Chemistry 6, 11–20. https://doi.org/10.1002/etc.5620060102.

Larsson, T., Wedborg, M., Turner, D., 2007. Correction of inner-filter effect in fluorescence excitation-emission matrix spectrometry using Raman scatter. Analytica Chimica Acta 583, 357–363. https://doi.org/10.1016/j.aca.2006.09.067.

Lasker, E., 1904. Kanonische formen. Mathematische Annalen 434–440.

LeBoeuf, E.J., Weber, W.J., 1997. A Distributed Reactivity Model for Sorption by Soils and Sediments. 8. Sorbent Organic Domains: Discovery of a Humic Acid Glass Transition and an Argument for a Polymer-Based Model. Environmental Science & Technology 31, 1697–1702. https://doi.org/10.1021/es960626i.

Lee, D.-Y., Farmer, W.J., 1989. Dissolved Organic Matter Interaction with Napropamide and Four Other Nonionic Pesticides. Journal of Environment Quality 18, 468. https://doi.org/10.2134/jeq1989.00472425001800040012x.

Lee, M., 2012. Analytical Chemistry of Polycyclic Aromatic Compounds. Elsevier Science, Burlington.

Levesque, M., 1972. Fluorescence and gel filtration of humic compounds. Soil Science 11, 346–353.

Li, Y.Q., Huang, X.Z., 1997. Rapid resolution of five polynuclear aromatic compounds in a mixture by derivative non-linear variable-angle synchronous fluorescence spectrometry. Fresenius Journal of Analytical Chemistry 357, 1072–1075. https://doi.org/10.1007/s002160050307.

Lloyd, J.B.F., 1971. The Nature and Evidential Value of the Luminescence of Automobile Engine Oils and Related Materials. Journal of the Forensic Science Society 11, 83–94. https://doi.org/10.1016/S0015-7368(71)70633-1.

Lombardi, A.T., Jardim, W.F., 1999. Fluorescence spectroscopy of high performance liquid chromatography fractionated marine and terrestrial organic materials. Water Research 33, 512–520. https://doi.org/10.1016/S0043-1354(98)00233-4.

Lundy, M.E., Harshman, R.A., Kruskal, B.J., 1989. A two-stage procedure incorporating good features of both trilinear and quadrilinear model, in: Multiway Data Analysis. Elsevier Science Pub. Co, Amsterdam ; New York : New York, N.Y., U.S.A, pp. 123–130.

Luo, L., Zhang, S., Ma, Y., 2008. Evaluation of impacts of soil fractions on phenanthrene sorption. Chemosphere 72, 891–896. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.03.051.

Lu, Y., Pignatello, J.J., 2002. Demonstration of the "Conditioning Effect" in Soil Organic Matter in Support of a Pore Deformation Mechanism for Sorption Hysteresis. Environmental Science & Technology 36, 4553–4561. https://doi.org/10.1021/es020554x.

Mader, B.T., Uwe-Goss, K., Eisenreich, S.J., 1997. Sorption of Nonionic, Hydrophobic Organic Chemicals to Mineral Surfaces. Environmental Science & Technology 31, 1079–1086. https://doi.org/10.1021/es960606g.

Magill, A.H., Aber, J.D., 2000. Dissolved organic carbon and nitrogen relationships in forest litter as affected by nitrogen deposition. Soil Biology and Biochemistry 32, 603–613. https://doi.org/10.1016/S0038-0717(99)00187-X.

Mallet, L., Héros, M., 1962. Pollution des terres végétales par les hydrocarbures polybenzéniques du type benzo-3,4-pyrène. C R Acad Sci [D] Paris 958–960.

Marhaba, T., Doanh, V., Lippincott, R.L., 2000. Rapid identification of dissolved organic matter fractions in water by spectral fluorescent signatures. Water Research 34, 3543–3550. https://doi.org/10.1016/S0043-1354(00)00090-7.

Marhaba, T.F., Bengraïne, K., Pu, Y., Aragó, J., 2003. Spectral fluorescence signatures and partial least squares regression: model to predict dissolved organic carbon in water. J. Hazard. Mater. 97, 83–97.

Martin D., Srivastava P.C., Ghosh D. et Zech W., 1998. Characteristics of humic substances in cultivated and natural forest soils of Sikkim, Geoderma, 84, 345-362.

Matthews, B.J.H., Jones, A.C., Theodorou, N.K., Tudhope, A.W., 1996. Excitation-emission-matrix fluorescence spectroscopy applied to humic acid bands in coral reefs. Marine Chemistry 55, 317–332. https://doi.org/10.1016/S0304-4203(96)00039-4.

McCarthy, J.F., Jimenez, B.D., 1985. Interactions between polycyclic aromatic hydrocarbons and dissolved humic material: binding and dissociation. Environ. Sci. Technol. 19, 1072–1076. https://doi.org/10.1021/es00141a008.

McCarthy, J.F., Roberson, L.E., Burrus, L.W., 1989. Association of benzo(a)pyrene with dissolved organic matter: Prediction of Kdom from structural and chemical properties of the organic matter. Chemosphere 19, 1911–1920. https://doi.org/10.1016/0045-6535(89)90014-3.

McFee, W.W., Kelly, J.M., Herbert, B.E., Bertsch, P.M., 1995. Characterization of Dissolved and Colloidal Organic Matter in Soil Solution: A Review, in: ACSESS Publications. Soil Science Society of America.

McKnight, D.M., Boyer, E.W., Westerhoff, P.K., Doran, P.T., Kulbe, T., Andersen, D.T., 2001. Spectrofluorometric characterization of dissolved organic matter for indication of precursor organic material and aromaticity. Limnology and Oceanography 46, 38–48. https://doi.org/10.4319/lo.2001.46.1.0038.

Miller, J.S., 1999. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons by spectrofluorimetry. Analytica Chimica Acta 388, 27–34. https://doi.org/10.1016/S0003-2670(99)00067-7.

Morra, M.J., Corapcioglu, M.O., von Wandruszka, R.M.A., Marshall, D.B., Topper, K., 1990. Fluorescence Quenching and Polarization Studies of Naphthalene and 1-Naphthol Interaction with Humic Acid. Soil Science Society of America Journal 54, 1283. https://doi.org/10.2136/sssaj1990.03615995005400050014x.

Mounier, S., Patel, N., Quilici, L., Benaim, J.., Benamou, C., 1999. Fluorescence 3D de la matière organique dissoute du fleuve amazone. Water Research 33, 1523–1533. https://doi.org/10.1016/S0043-1354(98)00347-9.

Nagao S., Suzuki Y., Nakaguchi Y., Senoo M., Hiraki K., 1997. Direct measurement of the fluorescence characteristics of aquatic humic substances by a three-dimensional fluorescence spectrophotometer. Bunseki kagaku 46, 335–342. https://doi.org/10.2116/bunsekikagaku.46.335.

Nagao, S., Matsunaga, T., Suzuki, Y., Ueno, T., Amano, H., 2003. Characteristics of humic substances in the Kuji River waters as determined by high-performance size exclusion chromatography with fluorescence detection. Water Research 37, 4159–4170. https://doi.org/10.1016/S0043-1354(03)00377-4.

Nahorniak, M.L., Booksh, K.S., 2006. Excitation-emission matrix fluorescence spectroscopy in conjunction with multiway analysis for PAH detection in complex matrices. The Analyst 131, 1308. https://doi.org/10.1039/b609875d.

Nam, K., Alexander, M., 1998. Role of Nanoporosity and Hydrophobicity in Sequestration and Bioavailability: Tests with Model Solids. Environmental Science & Technology 32, 71–74. https://doi.org/10.1021/es9705304.

Ohno, T., Bro, R., 2006. Dissolved Organic Matter Characterization Using Multiway Spectral Decomposition of Fluorescence Landscapes. Soil Science Society of America Journal 70, 2028. https://doi.org/10.2136/sssaj2006.0005.

Okere, U.V., Semple, K.T., 2011. Biodegradation of PAHs in Pristine Soils from Different Climatic Regions. Journal of Bioremediation & Biodegradation s1. https://doi.org/10.4172/2155-6199.S1-006.

Pan, B., Xing, B., Tao, S., Liu, W., Lin, X., Xiao, Y., Dai, H., Zhang, X., Zhang, Y., Yuan, H., 2007. Effect of physical forms of soil organic matter on phenanthrene sorption. Chemosphere 68, 1262–1269. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.01.054.

Parlanti, E., Wörz, K., Geoffroy, L., Lamotte, M., 2000a. Dissolved organic matter fluorescence spectroscopy as a tool to estimate biological activity in a coastal zone submitted to anthropogenic inputs. Org. Geochem. 31, 1765-1781.

Périé, C., Ouimet, R., 2008. Organic carbon, organic matter and bulk density relationships in boreal forest soils. Canadian Journal of Soil Science 315–325.

Perminova, I.V., Grechishcheva, N.Y., Petrosyan, V.S., 1999. Relationships between Structure and Binding Affinity of Humic Substances for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons:? Relevance of Molecular Descriptors. Environmental Science & Technology 33, 3781–3787. https://doi.org/10.1021/es990056x.

Petry, T., Schmid, P., Schlatter, C., 1996. The use of toxic equivalency factors in assessing occupational and environmental health risk associated with exposure to airborne mixtures of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). Chemosphere 32, 639–648.

Piatt, J.J., Brusseau, M.L., 1998. Rate-Limited Sorption of Hydrophobic Organic Compounds by Soils with Well-Characterized Organic Matter. Environmental Science & Technology 32, 1604–1608. https://doi.org/10.1021/es970461t.

Piccolo, A., 2001. The supramolecular structure of humic substances. Soil Science 166, 810–832.

Pignatello, J.J., 1998. Soil organic matter as a nanoporous sorbent of organic pollutants. Advances in Colloid and Interface Science 76-77, 445–467. https://doi.org/10.1016/S0001-8686(98)00055-4.

Pignatello, J.J., Xing, B., 1996. Mechanisms of Slow Sorption of Organic Chemicals to Natural Particles. Environmental Science & Technology 30, 1–11. https://doi.org/10.1021/es940683g.

Poster, D.L., Schantz, M.M., Sander, L.C., Wise, S.A., 2006. Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in environmental samples: a critical review of gas chromatographic (GC) methods. Analytical and Bioanalytical Chemistry 386, 859–881. https://doi.org/10.1007/s00216-006-0771-0.

Qiu, X., Shah, S.I., Kendall, E.W., Sorensen, D.L., Sims, R.C., Engelke, M.C., 1994. Grass-Enhanced Bioremediation for Clay Soils Contaminated with Polynuclear Aromatic Hydrocarbons, in: Anderson, T.A., Coats, J.R. (Eds.), Bioremediation through Rhizosphere Technology. American Chemical Society, Washington, DC, pp. 142–157.

Rao P S C 1990. Sorption of organic contaminants. Wat. Sci. Tech. 22, 1-6.

Ratsimbazafy, C., 1973. Protocole de fractionnement et d'étude de la matière organique des sols hydromorphes de Madagascar. Cahiers ORSTOM.Série Pédologie, 11, 227–236.

Reid, B.J., Jones, K.C., Semple, K.T., 2000. Bioavailability of persistent organic pollutants in soils and sediments—a perspective on mechanisms, consequences and assessment. Environmental Pollution 108, 103–112. https://doi.org/10.1016/S0269-7491(99)00206-7.

Rudnick, S., Chen, R., 1998. Laser-induced fluorescence of pyrene and other polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in seawater. Talanta 47, 907–919. https://doi.org/10.1016/S0039-9140(98)00160-X.

Saadi, I., Borisover, M., Armon, R., Laor, Y., 2006. Monitoring of effluent DOM biodegradation using fluorescence, UV and DOC measurements. Chemosphere 63, 530–539. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.07.075.

Santos, C.H., Nicolodelli, G., Romano, R.A., Tadini, A.M., Villas-Boas, P.R., Montes, C.R., Mounier, S., Milori, D.M.B.P., 2015. Structure of Humic Substances from Some Regions of the Amazon Assessed Coupling 3D Fluorescence Spectroscopy and CP/PARAFAC. Journal of the Brazilian Chemical Society. https://doi.org/10.5935/0103-5053.20150076.

Saurina, J., Leal, C., Compañó, R., Granados, M., Tauler, R., Prat, M.D., 2000. Determination of triphenyltin in sea-water by excitation–emission matrix fluorescence and multivariate curve resolution. Analytica Chimica Acta 409, 237–245. https://doi.org/10.1016/S0003-2670(99)00848-X.

Schaumann, G.E., 2006. Soil organic matter beyond molecular structure Part II: Amorphous nature and physical aging. Journal of Plant Nutrition and Soil Science 169, 157–167. https://doi.org/10.1002/jpln.200521791.

Schiavon, M., 1988. Studies of the leaching of atrazine, of its chlorinated derivatives, and of hydroxyatrazine from soil using 14C ring-labeled compounds under outdoor conditions. Ecotoxicol. Environ. Saf. 15, 46–54.

Semple, K.T., Morriss, A., Paton, G., 2003. Bioavailabilityof hydrophobic organic contaminants in soils: fundamental concepts and techniques foranalysis. European Journal of Soil Science 54, 809–818. https://doi.org/10.1046/j.1365-2389.2003.00564.x.

Senesi, N., 1990. Molecular and quantitative aspects of the chemistry of fulvic acid and its interactions with metal ions and organic chemicals. Analytica Chimica Acta 232, 51–75. https://doi.org/10.1016/S0003-2670(00)81225-8.

Senesi, N., Miano, T.M., Provenzano, M.R. et Brunetti, G., 1991. Characterization, differentiation and classification of humic substances by fluorescence spectroscopy. Soil Sci, 4: 259.

Senesi, N. and Loffredo, E., 1999. The chemistry of soil organic matter. In: Spark, D.L., Ed., Soil Physical Chemistry, CRC Press, Boca Raton, 239-370.

Servais, P., Prévost, M., Laurent, P., Joret, J.C., Summers, S., Hamsch, B., Ventresque, C., 2005. Chapter 3 : Biodegradable organic matter in drinking water treatment., in: Biodegradable Organic Matter in Drinking Water Treatment and Distribution. American Water Works Association, Denver, CO.

Shabad, L.M., Dikun, P.P., 1959. Air pollution by Carcinogenic Substances-3,4,-Benzpyrene. Medghiz Leningrad.

Shahzad, A., Köhler, G., Knapp, M., Gaubitzer, E., Puchinger, M., Edetsberger, M., 2009. Emerging applications of fluorescence spectroscopy in medical microbiology field. Journal of Translational Medicine 7, 99. https://doi.org/10.1186/1479-5876-7-99.

Shann, J.R., Boyle, J.J., 1994. Influence of Plant Species on In Situ Rhizosphere Degradation, in: Anderson, T.A., Coats, J.R. (Eds.), Bioremediation through Rhizosphere Technology. American Chemical Society, Washington, DC, pp. 70–81.

Sierra, M.M.D., Giovanela, M., Parlanti, E., Soriano-Sierra, E.J., 2005. Fluorescence fingerprint of fulvic and humic acids from varied origins as viewed by single-scan and excitation/emission matrix techniques. Chemosphere 58, 715–733. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.09.038.

Simpson, A.J., Kingery, W.L., Hayes, M.H., Spraul, M., Humpfer, E., Dvortsak, P., Kerssebaum, R., Godejohann, M., Hofmann, M., 2002. Molecular structures and associations of humic substances in the terrestrial environment. Naturwissenschaften 89, 84–88. https://doi.org/10.1007/s00114-001-0293-8.

Simpson, M.J., Chefetz, B., Hatcher, P.G., 2003. Phenanthrene sorption to structurally modified humic acids. J. Environ. Qual. 32, 1750–1758.

Singh, S., D'Sa, E.J., Swenson, E.M., 2010. Chromophoric dissolved organic matter (CDOM) variability in Barataria Basin using excitation–emission matrix (EEM) fluorescence and parallel factor analysis (PARAFAC). Science of The Total Environment 408, 3211–3222. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2010.03.044.

Smith, R.J., Bryant, R.G., 1975. Metal substitutions incarbonic anhydrase: a halide ion probe study. Biochem. Biophys. Res. Commun. 66, 1281–1286.

Spencer, R.G.M., Bolton, L., Baker, A., 2007. Freeze/thaw and pH effects on freshwater dissolved organic matter fluorescence and absorbance properties from a number of UK locations. Water Research 41, 2941–2950. https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.04.012.

Status assessment of toxic chemicals, 1977. Environmental protection agency, Cincinnati.

Stedmon, C.A., Markager, S., Bro, R., 2003. Tracing dissolved organic matter in aquatic environments using a new approach to fluorescence spectroscopy. Marine Chemistry 82, 239–254. https://doi.org/10.1016/S0304-4203(03)00072-0.

Stedmon, C.A., Markager, S., 2005. Resolving the variability in dissolved organic matter

fluorescence in a temperate estuary and its catchment using PARAFAC analysis. Limnology and Oceanography 50, 656–697.

Stedmon, C.A., Thomas, D.N., Granskog, M., Kaartokallio, H., Papadimitriou, S., Kuosa, H., 2007. Characteristics of Dissolved Organic Matter in Baltic Coastal Sea Ice: Allochthonous or Autochthonous Origins? Environmental Science & Technology 41, 7273–7279. https://doi.org/10.1021/es071210f.

Stedmon, C.A., Bro, R., 2008. Characterizing dissolved organic matter fluorescence with parallel factor analysis: a tutorial: Fluorescence-PARAFAC analysis of DOM. Limnology and Oceanography: Methods 6, 572–579. https://doi.org/10.4319/lom.2008.6.572.

Stevenson, F.J., 1994. Humus chemistry: genesis, composition, reactions, 2nd ed. Wiley, New York.

Suffet, I.H., MacCarthy, P. (Eds.), 1988. Aquatic Humic Substances: Influence on Fate and Treatment of Pollutants, Advances in Chemistry. American Chemical Society, Washington, DC.

Sugrue, M.F., Goodlet, I., McIndewar, I., 1975. Failure of depletion of rat brain 5-hydroxytryptamine to alter fenfluramine-induced anorexia. J. Pharm. Pharmacol. 27, 950–953.

Tadini, A.M., Hajjoul, H., Nicolodelli, G., Mounier, S., Montes, C.R., Milori, D.M.B.P., 2017. Characterization of Organic Matter in Spodosol Amazonian by Fluorescence Spectroscopy. World Academy of Science, Engineering and Technology, International Science Index 125,International Journal of Environmental, Chemical, Ecological, Geological and Geophysical Engineering. 11, 322–325.

Tadini, A.M., Nicolodelli, G., Mounier, S., Montes, C.R., Milori, D.M.B.P., 2015. The importance of humin in soil characterisation: A study on Amazonian soils using different fluorescence techniques. Science of The Total Environment 537, 152–158. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.07.125.

Terashima, M., Tanaka, S., Fukushima, M., 2003. Distribution behavior of pyrene to adsorbed humic acids on kaolin. J. Environ. Qual. 32, 591–598.

Thacker, S., Tipping, E., Gondar, D., Baker, A., 2008. Functional properties of DOM in a stream draining blanket peat. Science of The Total Environment 407, 566–573. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.09.011.

Thurman, E.M., 2013. Organic geochemistry of natural waters. Springer, Place of publication not identified.

Tucker, L.R., 1951. A method for the synthesis of factor analysis studies (Personnel Research Section No. Report 984). Department of the Army, Washington, D.C.

US EPA, 1994. Methods for measuring the toxicity and bioaccumulation of sediment-associated contaminants.

Valeur, B., 2001. Effects of intermolecular photophysical processes on fluorescence emission. Molecular Fluorescence: Principles and Applications, 72-124.

Valeur, B., 2004. Invitation à la fluorescence moléculaire. De Boeck Supérieur.

Valeur, B., Berberan-Santos, M.N., 2012. Molecular fluorescence: principles and applications, Second edition. ed. Wiley-VCH ; Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany : [Chichester, England].

Van Hoof, P.L., Kukkonen, J.V.K., Landrum, P.F., 2001. Impact of sediment manipulation on the bioaccumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons from field-contaminated and laboratory-dosed sediments by an oligochaete. Environmental Toxicology and Chemistry 20, 1752–1761. https://doi.org/10.1002/etc.5620200819.

Vouvé, F., Cotrim da Cunha, L., Serve, L., Vigo, J., Salmon, J.-M., 2009. Spatio-temporal variations of fluorescence properties of dissolved organic matter along the river Tęt (Pyrénées-Orientales, France). Chemistry and Ecology 25, 435-452.

Wang, L., Wu, F., Zhang, R., Li, W., Liao, H., 2009. Characterization of dissolved organic matter fractions from Lake Hongfeng, Southwestern China Plateau. Journal of Environmental Sciences 21, 581-588.

Wang, L., Li, H., Yang, Y., Zhang, D., Wu, M., Pan, B., Xing, B., 2017. Identifying structural characteristics of humic acid to static and dynamic fluorescence quenching of phenanthrene, 9-phenanthrol, and naphthalene. Water Research 122, 337–344. https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.06.010.

Wang, W., Gorsuch, J., Hughes, J., 1997. Plants for Environmental Studies. CRC Press.

Weber, W.J., Huang, W., 1996. A Distributed Reactivity Model for Sorption by Soils and Sediments. 4. Intraparticle Heterogeneity and Phase-Distribution Relationships under Nonequilibrium Conditions. Environmental Science & Technology 30, 881–888. https://doi.org/10.1021/es950329y.

Weber, W.J., McGinley, P.M., Katz, L.E., 1992. A distributed reactivity model for sorption by soils and sediments. 1. Conceptual basis and equilibrium assessments. Environmental Science & Technology 26, 1955–1962. https://doi.org/10.1021/es00034a012.

Weissenfels, W.D., Klewer, H.J., Langhoff, J., 1992. Adsorption of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by soil particles: influence on biodegradability and biotoxicity. Appl. Microbiol. Biotechnol. 36, 689–696.

Wershaw, R.L., 1999. Molecular aggregation of humic substances. Soil Science 164, 803–813.

Whitcomb, J.L., Bystol, A.J., Campiglia, A.D., 2002. Time-resolved laser-induced fluorimetry for screening polycylic aromatic hydrocarbons on solid-phase extraction membranes. Analytica Chimica Acta 464, 261–272. https://doi.org/10.1016/S0003-2670(02)00425-7.

White, J.C., Alexander, M., Pignatello, J.J., 1999. Enhancing the bioavailability of organic

compounds sequestered in soil and aquifer solids. Environmental Toxicology and Chemistry 18, 182–187. https://doi.org/10.1002/etc.5620180212.

Wilcke, W., 2000. SYNOPSIS Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Soil — a Review. Journal of Plant Nutrition and Soil Science 163, 229–248. https://doi.org/10.1002/1522-2624(200006)163:3<229::AID-JPLN229>3.0.CO;2-6

Wild, S.R., Jones, K.C., 1995. Polynuclear aromatic hydrocarbons in the United Kingdom environment: a preliminary source inventory and budget. Environ. Pollut. 88, 91–108.

Wilson, W.B., Alfarhani, B., Moore, A.F.T., Bisson, C., Wise, S.A., Campiglia, A.D., 2016. Determination of high-molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons in high performance liquid chromatography fractions of coal tar standard reference material 1597a via solid-phase nanoextraction and laser-excited time-resolved Shpol'skii spectroscopy. Talanta 148, 444–453. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.11.018.

Luciani, X., 2007. Analyse numérique des spectres de fluorescence 3D issus de mélanges non linéaires. Signal and Image processing. Université du Sud Toulon Var, 2007. French. https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00287255.

Xing, B., Pignatello, J.J., 1997. Dual-Mode Sorption of Low-Polarity Compounds in Glassy Poly(Vinyl Chloride) and Soil Organic Matter. Environmental Science & Technology 31, 792–799. https://doi.org/10.1021/es960481f.

Yang, R., Zhao, N., Xiao, X., Yu, S., Liu, J., Liu, W., 2016. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons by four-way parallel factor analysis in presence of humic acid. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy 152, 384–390. https://doi.org/10.1016/j.saa.2015.07.094.

Yu, X., Pan, L., Ying, G., Kookana, R.S., 2010. Enhanced and irreversible sorption of pesticide pyrimethanil by soil amended with biochars. Journal of Environmental Sciences 22, 615–620. https://doi.org/10.1016/S1001-0742(09)60153-4.

Zech, W., Senesi, N., Guggenberger, G., Kaiser, K., Lehmann, J., Miano, T.M., Miltner, A., Schroth, G., 1997. Factors controlling humification and mineralization of soil organic matter in the tropics. Geoderma 79, 117–161. https://doi.org/10.1016/S0016-7061(97)00040-2.

Zepp, R.G., Schlotzhauer, P.F., Sink, R.M., 1985. Photosensitized transformations involving electronic energy transfer in natural waters: role of humic substances. Environmental Science & Technology 19, 74–81. https://doi.org/10.1021/es00131a008.

Zepp, R.G., Sheldon, W.M., Moran, M.A., 2004. Dissolved organic fluorophores in southeastern US coastal waters: correction method for eliminating Rayleigh and Raman scattering peaks in excitation–emission matrices. Marine Chemistry 89, 15–36. https://doi.org/10.1016/j.marchem.2004.02.006.

Zhang, Y., Zhu, Y., Xue, X., Huang, X., 1995. Magnetic field effects-polarization-resonant synchronous fluorescence spectrometry for simultaneous analysis of polynuclear aromatic hydrocarbons in mixtures. Talanta 42, 1811–1815. https://doi.org/10.1016/0039-9140(95)01629-5.

Résumé

Les propriétés spectrales des composants fluorescents de la matière organique d'un sol naturel ont été étudiées dans les trois fractions physiques ; substances humiques, acide fulvique et acide humique, par la méthode des matrices d'excitation et d'émission de fluorescence couplée à l'algorithme Parallel Factor analysis (PARAFAC). Les modifications spectrales de ces composants ont été suivies (forme et pseudo-concentrations) en présence d'un contaminant de type hydrocarbure aromatique polycyclique (le benzo(a)pyrène (BaP), toxique et à caractère cancérigène) : (1) en faisant varier les volumes d'une solution pure de BaP dans chaque fraction de même concentration en matières organiques, (2) en faisant varier les concentrations en matière organique pour des concentrations fixes de BaP, qui ont été suivies dans le temps. Les résultats ont montré que le BaP influence d'une manière différente les fluorophores présents dans les trois fractions et ont permis de clarifier le type d'interactions avec une fraction ou l'autre. D'autre part, une discussion a été menée sur les paramètres de validation du nombre de composants pour le choix des modèles de PARAFAC.

Mots clés : Matrices d'excitation et d'émission de fluorescence ; PARAFAC ; Substances humiques ; Acides fulviques ; Acides Humiques ; Benzo(a)pyrène.

Abstract

The spectral properties of the fluorescent components of the organic matter of a natural soil were studied in the three physical fractions; humic substances, fulvic acid and humic acid, by the method of the excitation and fluorescence emission matrices coupled to the Parallel Factor Analysis (PARAFAC) algorithm. The spectral modifications of these components were studied (form and pseudo-concentrations) in the presence of a polycyclic aromatic hydrocarbon contaminant (benzo (a) pyrene (BaP), toxic and carcinogenic): (1) by varying the volumes of a pure solution of BaP in each fraction having the same concentration of organic matter, (2) by varying the concentrations of organic matter for fixed concentrations of BaP, which were followed over time. The results showed that the BaP influences the fluorophores present in the three fractions in a different way and clarified the type of interactions with one fraction or the other. On the other hand, a discussion was held on parameters for validating the number of components for the selection of PARAFAC models.

Keywords : Fluorescent excitation-emission matrices ; PARAFAC ; Humic substances ; Fulvic acid ; Humic acid ; Benzo(a)pyrene.