



HAL
open science

Comparaison de méthodes d'analyse des éléments traces métalliques (ETM) et des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) sur les sols et les végétaux

C. Hébrard-Labit, L. Meffray

► To cite this version:

C. Hébrard-Labit, L. Meffray. Comparaison de méthodes d'analyse des éléments traces métalliques (ETM) et des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) sur les sols et les végétaux. [Rapport de recherche] Centre d'études sur les réseaux, les transports, l'urbanisme et les constructions publiques (CERTU). 2004, 120 p., figures, tableaux, photographies. hal-02150475

HAL Id: hal-02150475

<https://hal-lara.archives-ouvertes.fr/hal-02150475>

Submitted on 7 Jun 2019

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.

Comparaison de méthodes d'analyse des Éléments Traces Métalliques **ETM et des Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques **HAP** sur les sols et les végétaux**

Certu

centre d'Études sur les réseaux,
les transports, l'urbanisme
et les constructions publiques
9, rue Juliette Récamier
69456 Lyon Cedex 06
téléphone: 04 72 74 58 00
télécopie: 04 72 74 59 00
www.certu.fr

Avis aux lecteurs

La collection Rapports d'étude du Certu se compose de publications proposant des informations inédites, analysant et explorant de nouveaux champs d'investigation. Cependant l'évolution des idées est susceptible de remettre en cause le contenu de ces rapports.

Le Certu publie aussi les collections :

Dossiers : Ouvrages faisant le point sur un sujet précis assez limité, correspondant soit à une technique nouvelle, soit à un problème nouveau non traité dans la littérature courante. Le sujet de l'ouvrage s'adresse plutôt aux professionnels confirmés. Le Certu s'engage sur le contenu mais la nouveauté ou la difficulté des sujets concernés implique un certain droit à l'erreur.

Références : Cette collection comporte les guides techniques, les ouvrages méthodologiques et les autres ouvrages qui, sur un champ donné assez vaste, présentent de manière pédagogique ce que le professionnel courant doit savoir. Le Certu s'engage sur le contenu.

Débats : Publications recueillant des contributions d'experts d'origines diverses, autour d'un thème spécifique. Les contributions présentées n'engagent que leurs auteurs.

Catalogue des publications disponible sur <http://www.certu.fr>

Notice analytique

Organisme commanditaire : CERTU : centre d'études sur les réseaux, les transports, l'urbanisme et les constructions publiques 9 rue Juliette Récamier 69456 LYON Cedex 6 – Tel : 00 33 4 72 74 58 00 Fax : 00 33 4 72 74 59 00			
Titre : Comparaison de méthodes d'analyse des éléments traces métalliques (ETM) et des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) sur les sols et les végétaux			
Sous-titre :	Date d'achèvement : Août 2004	Langue : Français	
Organisme auteur : CETE Nord Picardie	Rédacteurs ou coordonnateurs : C. Hébrard-Labit, L. Meffray	Relecteur assurance qualité : R. Lagache, GT Sols/RST Air	
Résumé : <p>Ce document rassemble plusieurs procédés d'analyse sur les sols et les végétaux, des deux grandes familles de polluants d'origine routière : les éléments traces métalliques (ETM) et les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP). Les méthodes recensées sont issues de la littérature, ainsi que de contacts directs avec les laboratoires de recherche et/ou prestataires d'analyse.</p> <p>Suite à une première partie bibliographique (partie I) présentant des caractéristiques générales sur la pollution de proximité des axes routiers et les deux familles de polluants pré-citées, ce rapport distingue les méthodes de dosage sur les sols (partie II) et celles appliquées aux végétaux (partie III) avec, pour chacun des types de polluants, une présentation des protocoles recensés sous forme de fiches, accompagnées d'un paragraphe de comparaison des processus utilisés.</p> <p>Si les méthodes d'analyse sont normalisées et homogènes d'un laboratoire à concernant les sols, cette étude met en évidence la grande hétérogénéité des pratiques en ce qui concerne l'analyse sur les végétaux, en particulier pour les mesures relatives aux HAP réalisées par très peu de laboratoires interrogés.</p>			
Remarques complémentaires éventuelles (rubrique facultative) :			
Mots clés : Pollution atmosphérique, protocole, analyse, métal, hydrocarbure aromatique polycyclique		Diffusion : Libre	
Nombre de pages : 120 pages	Confidentialité : Non	Bibliographie : Oui	

Personnes contactées

La liste suivante reprend les personnes contactées dont les informations transmises ont été intégrées dans cette étude, que ce soit pour les parties générales ou les fiches techniques. Les méthodes d'analyses présentées ci-après ont également été recueillies à partir de rapports de recherche et articles scientifiques (cf. bibliographie).

Nom	Organisme / Laboratoire	Lieu
M. BARBASTE	Unité de Service et de Recherche en Analyses Végétales et Environnementales, INRA Bordeaux	Villenave d'Ornon
J-Ph. BEDELL	Laboratoire des Sciences de l'Environnement, ENTPE	Lyon
V. BERT	Centre National de Recherche sur les Sites et sols pollués (CNRSSP)	Douai
B. CLOSEL	Bureau de Recherche Géologiques et Minières (BRGM)	Orléans
F. DOUAY	Laboratoire Sols et Environnement, Institut Supérieur d'Agriculture (ISA)	Lille
J-P. GARREC	Institut National de la Recherche Agronomique	Nancy
I. LAUILHE	Laboratoire EPLD	Lagor
J-L. MOREL et Mme OUVARD	ENSAIA / INPL	Nancy
J-F. PETIT	Laboratoire Régional de l'Ouest Parisien (LROP)	Trappes
C. RODIER	Université de Poitiers	Poitiers
V. RUBAN et C. DURAND	Laboratoire Central des Ponts et Chaussées (LCPC)	Nantes

Sites Internet consultés

- ADEME (Agence) de l'Environnement et la Maîtrise de l'Energie,
- BRGM (Bureau de Recherche Géologiques et Minières),
- CEA (Centre d'Etudes Atomiques),
- CERVA (Centre d'Etude et de recherches Vétérinaires et Agrochimiques),
- CNRSSP (Centre National de Recherche sur les Sites et sols pollués),
- DGCCRF,
- ENSAIA / Nancy
- INERIS,
- INRA (Institut National de la Recherche Agronomique),
- LCPC (Laboratoire Central des Ponts et Chaussées),
- etc.

Sommaire

Notice analytique	3
Introduction	6
Partie I : Les polluants à proximité des axes routiers : ETM et HAP	8
I. LA POLLUTION DES SOLS ET DES VÉGÉTAUX DUE AU TRAFIC ROUTIER	8
II. LES ETM : ÉLÉMENTS TRACES MÉTALLIQUES	17
III. LES HAP : HYDROCARBURES AROMATIQUES POLYCYCLIQUES	19
Partie II : Méthodes de dosage sur les sols	22
I. L'ANALYSE DES ETM ET HAP SUR LES SOLS	22
II. DOSAGE DES ETM SUR LES SOLS : EXEMPLES DE PROTOCOLES	32
III. DOSAGE DES HAP SUR LES SOLS : EXEMPLES DE PROTOCOLES	55
Partie III : Méthodes de dosage sur les végétaux	64
I. L'ANALYSE DES ETM ET HAP SUR LES VÉGÉTAUX	64
II. DOSAGE DES ETM SUR LES VÉGÉTAUX : EXEMPLES DE PROTOCOLES	70
III. DOSAGE DES HAP SUR LES VÉGÉTAUX : EXEMPLES DE PROTOCOLES	99
Conclusion	103
Glossaire	104
Bibliographie	105
Annexes	108
ANNEXE 1 MÉTHODES ANALYTIQUES DE LABORATOIRE	109
ANNEXE 2 LISTE DES NORMES RELATIVES AU DOSAGE DES ETM ET HAP	115
ANNEXE 3 PROTOCOLE DE PRÉLÈVEMENT DES PLANTES DE L'INRA DE BORDEAUX	117
Table des illustrations	118
Table des matières	119

Introduction

Suite à plusieurs études menées sur ce thème par le ministère de l'Équipement sous la coordination notamment du Cete de l'Est, le Certu a souhaité disposer d'une synthèse actualisée des méthodes employées pour caractériser la pollution des éléments traces métalliques (ETM) et des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) dans le cadre des études d'impact des grands axes routiers.

A sa demande, le Laboratoire Régional des Ponts et Chaussées de Lille a réalisé une étude comparative des méthodes de dosage des ETM et HAP dans les sols et les végétaux, appliquées au cas de la pollution de proximité d'origine routière.

Cette étude recense les différents modes opératoires utilisés actuellement au sein du Réseau Scientifique et Technique (Laboratoire Central des Ponts et Chaussées, Laboratoires Régionaux) ainsi que par des partenaires extérieurs (BRGM, CNRSSP, INRA, ISA, etc.) et autres organismes de recherche.

Ce rapport s'attache, pour les deux grandes familles de polluants pré-citées (ETM, HAP) à recenser et comparer les modes opératoires, depuis le prélèvement jusqu'à l'analyse proprement dite, et en détaille les différentes étapes de conservation, transport, préparation des échantillons et mise en solution des polluants à doser. Il s'est fondé sur les normes existantes ainsi que les méthodes et pratiques actuellement en cours. Les différents protocoles étudiés sont présentés sous forme de fiches techniques.

Il n'a pas pour objet de décrire l'impact de ces polluants sur les sols et les végétaux, ni les facteurs influençant leur comportement dans les matrices considérées.

Suite à une première partie bibliographique (partie I) présentant des caractéristiques générales sur la pollution de proximité des axes routiers et les deux familles de polluants pré-citées, sont distinguées, en partie II, les méthodes de dosage sur les sols et, en partie III, celles appliquées aux végétaux avec, pour chacun des types de polluants, une comparaison des protocoles utilisés.

PARTIE I :

Les polluants à proximité
des axes routiers
ETM (éléments traces
métalliques) et HAP
(hydrocarbures aromatiques
polycycliques)

Partie I : Les polluants à proximité des axes routiers : ETM et HAP

I. La pollution des sols et des végétaux due au trafic routier

La pollution des sols et des végétaux considérée dans le cadre de cette étude est celle rencontrée à proximité des routes et autoroutes, transportée par les eaux de ruissellement et et/ou déposée par apports atmosphériques.

Le lecteur désireux de plus de détails concernant la pollution d'origine routière est invité à se reporter aux thèses de C. Durand [12] et de C. Pagotto [26], qui constituent de précieuses sources d'informations notamment sur les origines de la pollution due au trafic routier ainsi que sur ses différentes modes de transport et les niveaux de contamination des milieux étudiés.

Les aspects sanitaires, non mentionnés ici, peuvent également être consultés sur le site de l'INERIS (rapport sur l'évaluation de la relation dose-réponse pour des effets cancérigènes des HAP [8]) et dans les écrits de C. Bryselbout [4] et S. Promeprat [28].

I.1. Les types de pollution

Quatre grandes catégories de pollution peuvent être à l'origine de nuisances en milieu routier et urbain [12, 26] :

I.1.1. La pollution chronique

La pollution chronique est l'ensemble des pollutions liées à la circulation des véhicules et aux équipements de la route :

- usure de la chaussée,
- abrasion et corrosion des métaux constitutifs des véhicules (freins, carrosserie),
- usure des pneumatiques et des pots catalytiques,
- émissions dues aux gaz d'échappement,
- corrosion des barrières de sécurité et des panneaux de signalisation.

De ce fait, la nature chronique des polluants est très variable et les eaux de ruissellement peuvent être contaminées aussi bien par des éléments métalliques (Pb, Cd, Zn, Cu, Ni, Cr) que par des hydrocarbures, des huiles, des caoutchoucs, des phénols, etc.

La pollution chronique est fortement influencée par les évolutions du parc automobile, des carburants, des infrastructures routières et de la circulation ; et bien que d'autres facteurs interviennent (climat, topographie) l'augmentation du trafic routier augmente directement ce type de pollution [12].

1.1.2. La pollution accidentelle

La pollution accidentelle est consécutive à un accident de la circulation au cours duquel des matières dangereuses transportées sont déversées sur la chaussée et ses abords. Bien que de nature potentiellement diverse, la pollution accidentelle implique le plus souvent le transport des hydrocarbures.

1.1.3. La pollution saisonnière

La pollution saisonnière est due principalement à la maintenance hivernale. Les fondants chimiques utilisés en cas d'enneigement ou de verglas, le plus souvent du sel (chlorure de sodium) sous forme pure ou en mélange avec du sable, contiennent des composés chimiques destinés à limiter la prise en masse du sel (antimottants). Ce déverglage, bien que nécessaire au maintien de bonnes conditions de circulation, présente des risques pour l'environnement car les « sels » épandus peuvent ainsi apporter de petites quantités de métaux, augmenter la corrosion des surfaces métalliques (véhicules et glissières) et favoriser la mobilité des éléments traces métalliques dans les sols.

1.1.4. La pollution temporaire

Ce type de pollution est lié aux travaux de construction de la route : poussières, rejets d'huiles, fuites d'hydrocarbures, gaz d'échappement des d'engins, etc. Lors de la construction et du terrassement, d'importants volumes de matériaux sont mobilisés et de grandes surfaces sont défrichées laissant momentanément la terre à nu. Ces surfaces subissent, par la pluie, des ravinements et des érosions, surtout dans les secteurs à forte pente. Les eaux de ruissellement qui en résultent sont essentiellement chargées en matières en suspension d'origine minérale.

1.2. Les sources de pollution

Les sources principales de la pollution des sols et des végétaux à proximité des infrastructures routières sont les apports d'origine atmosphérique (dépôts secs et poussières précipitées par les pluies) et le ruissellement provenant des chaussées.

1.2.1. Les apports atmosphériques

Parmi l'ensemble des polluants atmosphériques rejetés par la circulation automobile (dioxyde de soufre, oxydes d'azote, ozone, oxyde de carbone, plomb, composés organiques volatils, etc.), les particules en suspension, libérées notamment par les véhicules diesels, peuvent représenter une part importante de la pollution des sols et des végétaux.

Ces particules fines retombent sur le sol déposées par les vents (en période de temps sec) ou sous forme de retombées humides précipitées par les pluies (cf. figure 1). Outre les particules, les apports humides contiennent alors une part de gaz dissous.

La pollution des retombées atmosphériques sèches dépend essentiellement, en milieu urbain et périurbain, du type d'occupation des sols (zone commerciale, résidentielle ou industrielle) et de la proximité aux infrastructures routières.

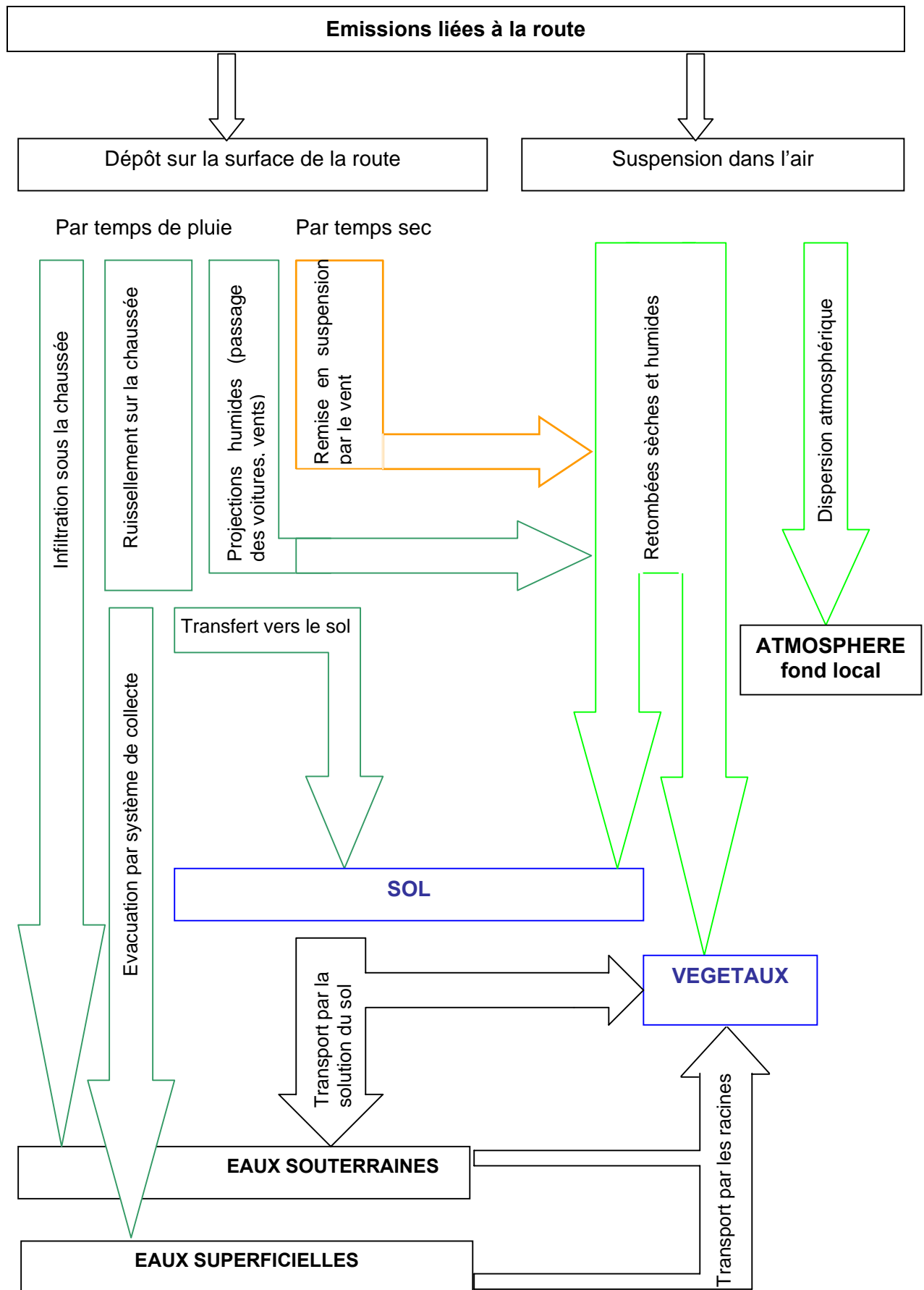


Figure 1 : Principales voies de dispersion des polluants émis en milieu routier (d'après [26])

Celle des retombées humides correspond au lessivage de l'atmosphère par les eaux météoriques et concerne des teneurs en polluants variables ; les différences observées d'un site à l'autre sont souvent dues aux sources locales de pollution, à la topographie du site, aux conditions météorologiques et aux techniques d'échantillonnage et d'analyse [12, 26].

Le retour au sol des éléments émis ne se limite pas aux zones urbaines ou industrielles. Les vents propagent et diluent ce type de pollution sur des zones vastes et parfois très éloignées. Seules les particules les plus lourdes séjournant peu de temps dans l'air se déposent sur le sol au voisinage de leur lieu d'émission. C'est le cas de certaines particules des gaz d'échappement (moteurs diesel notamment) [12].

1.2.2. Le ruissellement des chaussées

Par temps de pluie, les particules solides et autres polluants accumulés sur les voiries urbaines et les chaussées routières sont acheminées pour partie dans les ouvrages d'assainissement, mais également pour partie vers les bas côtés. L'action des précipitations sur les revêtements débute par une période de mouillage au cours de laquelle il y a dissolution partielle des polluants solubles des dépôts de temps secs. Puis le ruissellement commence, entraînant une fraction des dépôts. Les polluants, éléments métalliques et hydrocarbures, sont ainsi véhiculés par les eaux de ruissellement de chaussées vers le sol et les végétaux avoisinants.

Les caractéristiques physico-chimiques des eaux de ruissellement de chaussées varient d'un site à l'autre en fonction de l'intensité du trafic routier, des caractéristiques de la chaussée (état d'usure, entretien), de son mode d'utilisation, de l'environnement et des caractéristiques de la pluie. Le zinc et le plomb sont, en quantité, les deux métaux dominants. Le plomb est presque exclusivement associé aux matières en suspension, donc peu mobile, tandis que le zinc, plus solubilisable, est plus disponible.

1.2.3. Bilan de pollution

De nombreuses études ponctuelles ont été menées sur la contamination des eaux de ruissellement de chaussée, des eaux souterraines, des sols en bordures de chaussée, etc. mais peu d'entre elles se sont intéressées à une approche globale du comportement des polluants en terme de bilan. Seules quelques tentatives de bilan ont été réalisées pour comparer la contamination récupérée au niveau des eaux de ruissellement et des retombées sèches et humides par rapport à l'émission de polluants [26].

Ces études souffrent d'être peu nombreuses et peu précises, notamment en ce qui concerne l'évaluation des émissions. Parmi les exemples cités par Pagotto (1999) [26], les sources de cadmium et de cuivre sont largement sous-estimées, ce qui conduit à obtenir des pourcentages totaux de la contamination récupérée largement supérieurs à 100 %. En ce qui concerne le plomb et les hydrocarbures aromatiques polycycliques, il semblerait qu'ils soient dispersés dans l'atmosphère et contribuent à la pollution de fond locale ou que les sources soient sur-estimées.

I.3. Les niveaux de pollution

Une étude très complète a été réalisée par C. Pagotto dans le cadre d'une thèse de doctorat relative à l'émission et au transfert vers les eaux et les sols des éléments traces métalliques et des hydrocarbures en milieu routier [26]. Le lecteur pourra notamment s'y référer pour disposer de valeurs de pollution issues de la littérature : émissions polluantes en milieu routier (échappement des véhicules, abrasion des matériaux constitutifs des chaussées, pollution saisonnière, etc.), teneurs en polluants dans les enrobés, apports atmosphériques, qualité des eaux de pluies, qualité des sols, etc.

Retombées sèches et eaux météorites

Quelques études ont permis de quantifier la pollution apportée par les retombées atmosphériques sèches et celle contenue dans les eaux météorites [26]. Parmi les ETM, le plomb et le zinc sont recensés en majorité (valeurs de 20 à 70 g.ha⁻¹.an⁻¹), puis le nickel, le chrome et le cuivre (entre 10 et 20 g.ha⁻¹.an⁻¹) et dans une moindre mesure le cadmium (de 1 à 3 g.ha⁻¹.an⁻¹).

En milieu urbain, la part de la contamination des eaux de ruissellement provenant des eaux de pluies est relativement faible pour les matières en suspension et les hydrocarbures pour lesquelles 15 à 25 % de la pollution est due aux apports atmosphériques humides. Cette proportion peut atteindre en revanche 70 à 75 % pour les éléments traces métalliques [26]. Là encore, le zinc et le plomb sont les métaux présents majoritairement

A titre d'exemple, d'après la littérature, les concentrations en Zn et en Pb dans les eaux météorites peuvent atteindre jusqu'à 200 µg/l [12]. Les teneurs en cadmium sont de l'ordre de 0,5 à 5 µg/l [26].

Eaux de ruissellement de chaussée

Quelques exemples d'études sur la qualité des eaux de ruissellement sur chaussée routière sont fournis par Pagotto (1999) [26]. Les polluants les plus étudiés dans la littérature sont les hydrocarbures, le plomb, le cuivre, le cadmium et le zinc. Certains auteurs s'intéressent au chrome, au nickel, et aux HAP [12].

Malgré une dispersion importante des niveaux de contamination observés, ces études témoignent de l'existence d'une pollution notable des eaux de ruissellement sur chaussée autoroutière. Le tableau 1 reprend l'ordre de grandeur de la concentration en polluants et de la charge annuelle transportée par les eaux de ruissellement de chaussée recensées dans la littérature [26].

Tableau 1 : Ordre de grandeur de la concentration en polluants et de la charge annuelle transportée par les eaux de ruissellement [26]

	Hydrocarbures ¹	Eléments traces métalliques			
		Zn	Pb	Cu	Cd
Concentration	mg/l	µg/l	µg/l	µg/l	µg/l
	de 0,3 à 7,8	de 60 à 1400	de 15 à 400	de 6 à 140	de 0,1 à 5,9
Charge annuelle	kg.ha ⁻¹ .an ⁻¹	g.ha ⁻¹ .an ⁻¹	g.ha ⁻¹ .an ⁻¹	g.ha ⁻¹ .an ⁻¹	g.ha ⁻¹ .an ⁻¹
	de 0,5 à 65	de 0,1 à 2,9	de 0,2 à 1,3	de 0,02 à 0,6	de 0,004 à 0,4

¹ Attention, il s'agit ici des hydrocarbures totaux et non pas seulement des HAP.

De façon générale, le plomb, le chrome et le cadmium sont à plus de 80 % associés aux particules transportées, tandis que le zinc et le nickel, s'ils peuvent également se trouver fixés sur les particules, sont le plus souvent sous forme dissoute.

Dans les sols

ETM

La contamination métallique liée à la circulation routière est un sujet qui a été largement étudié ces vingt dernières années dans le monde entier. De nombreux exemples sont là encore fournis par Pagotto (1999) [26] ainsi que par Promeprat (2001) [28]. Si le cas du plomb, puis du cadmium, du zinc et du cuivre sont fréquemment considérés, celui du nickel et du chrome sont en revanche peu étudiés. Le tableau 2 fournit à titre indicatif quelques exemples de concentrations en métaux (plomb, cadmium, zinc) dans des sols non pollués et dans des sols pollués à proximité d'infrastructure routière [25, 26].

Tableau 2 : Exemples de teneurs en métaux (Pb, Cd, Zn) dans des sols non pollués et pollués en bordure d'autoroute (en ppm)

	Plomb	Cadmium	Zinc
Sols non pollués (moyenne des sols français), Lee et Tourau, 1996 <i>in</i> [25]	30	0,5	50
Sols non pollués en zone rurale (moyenne des sols français), Baize, 1997 <i>in</i> [26]	48,5	0,33	161
Sol pollué bord d'autoroute A71, Lee, 1996 <i>in</i> [25]	1456	2,7	2861
Sol pollué bord d'autoroute A31, BRGM, 1999 <i>in</i> [25]	157 à 847	2 à 3	189 à 202

La grande diversité des études rend difficile la comparaison des résultats obtenus d'une étude à l'autre. Les valeurs de concentrations en métaux relevées dans la littérature varient selon la nature et le type de sols, la profondeur, les conditions physico-chimiques, et d'un certain nombre de conditions expérimentales (localisation des points de prélèvement, type de route considérée, densité du trafic, méthode de d'analyse, etc.) qui ne sont pas précisés ici.

Malgré tout, il ressort l'existence d'une pollution incontestable des sols en bordure de chaussée, un ordre d'importance des différents polluants métalliques dont les teneurs par ordre décroissant sont classées de la façon suivante : Pb > Zn > Cu > Ni > Cr > Cd, et des profils analogues d'évolution en fonction de la profondeur et de la distance à la route (cf. I.4).

HAP

Les études relatives aux hydrocarbures et aux HAP dans les sols, en domaine routier, sont plus rares. Pagotto [26] n'en recense que 4 de 1977 à 1998 dont la plus récente est celle de Bryselbout [4] dont nous avons repris les éléments méthodologies dans les parties II et III du présent rapport.

La figure 2 et le tableau 3 présentent respectivement les teneurs en HAP pour différents types de sols (agricoles, forestiers, urbains et industriels) issues d'une revue bibliographique réalisée par Wild et Jones (1995) [26] et les valeurs obtenues par Bryselbout [4] selon l'éloignement à une autoroute française (A 31, 39 000 véh/j).

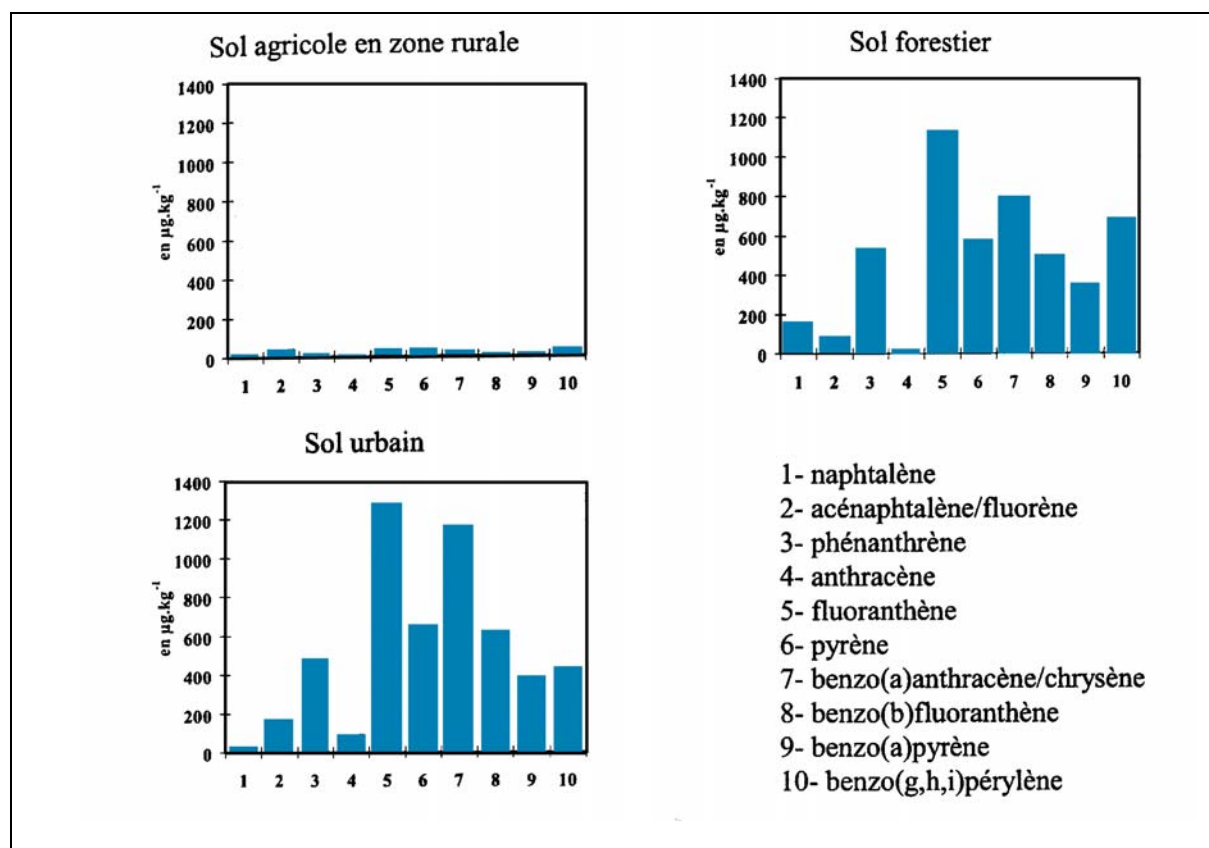


Figure 2 : Teneurs moyennes en HAP de différents types de sols (Wild et Jones, 1995 in [26])

Tableau 3 : Teneurs en HAP dans le sol selon son éloignement à une autoroute, en µg/kg [4]

H.A.P.	5 m	10 m	15 m	20 m	40 m	80 m	160 m	320 m
naphthalène	n.d.	40	194	n.d.	15	45	156	n.d.
acénaphthylène	965	399	1 747	n.d.	21	143	344	n.d.
acénaphthène	1 918	3 261	18 133	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
fluorène	12 218	10 662	20 965	n.d.	35	220	n.d.	n.d.
phénanthrène	30 764	42 307	74 358	n.d.	911	1 869	5 004	1 571
anthracène	10 460	19 645	33 852	n.d.	34	160	254	210
fluoranthène	113 913	83 172	147 012	n.d.	2 491	6 915	29 982	6 222
pyrène	117 878	143 977	216 979	n.d.	1 716	4 461	22 131	3 681
ben(a)anthracène/chrysène	259 787	71 433	202 127	n.d.	1 726	3 291	12 469	2 542
benzo(b)/(k)fluoranthène	235 372	54 588	123 443	n.d.	387	1 171	5 299	2 581
benzo(a)pyrène	436 597	85 143	265 721	n.d.	147	1 937	10 763	2 392
indéno(1,2,3-c,d)pyrène	538 107	56 609	91 465	n.d.	694	3 736	17 779	n.d.
benzo(g,h,i)perylène	471 990	60 726	102 269	n.d.	491	3 373	1 3756	n.d.
dibenzo(a,h)anthracène	104 588	4 941	n.d.	n.d.	305	n.d.	4 283	n.d.
Σ6HAP (NFT 90-115)²	1 795 79	340 238	729 910	n.d.	4 210	17 132	77 579	11 195

n.d. : non détecté

² Les 6 HAP de la norme NFT 90-115 sont le fluoranthène, le benzo (a) pyrène, le benzo (b) fluoranthène, le benzo (g,h,i) pyrène, le benzo (k) fluoranthène et l'indéno (1,2,3,cd) pyrène.

Dans les végétaux

Plusieurs études relatives à la contamination des végétaux de l'environnement routier sont citées par Promeprat (2001) [28]. Ces études concernent exclusivement l'influence des métaux parmi lesquels le plomb, dont l'impact a majoritairement été observé, puis le zinc et le cadmium.

Tableau 4 : Exemples de teneurs en polluants de végétaux pollués (MS : matière sèche)

Références <i>in</i> [25]	Polluant	Teneur dans les plantes	Conditions
Dudka <i>et al.</i> , 1996	Cd	0,6 à 1 mg/kg MS	Sol à 30 mg/kg MS
Nadeau et Ponthieu, 1986	Pb	0,5 à 5 ppm Jusqu'à 100 ppm	Moyenne Bord de route
Biomonitor, 1999	Cd	0,2 à 0,5 µg/g	Bord autoroute A31, bryophytes terrestres
	Pb	3,7 à 35 µg/g	
	HAP	18 à 80 ng/g	
Bryselbout, 1998	HAP	8 à 89 ng/g MS	320 premiers mètres autour de l'A31
Edwards, 1983	HAP	0,1 à 150 µg/kg 20 à 1 000 Jusqu'à 25 000	Normalement Bord de route Cas extrême

L'accumulation des polluants dans les végétaux dépend de plusieurs facteurs (cf. Partie III) dont la nature du polluant : elle est forte pour le zinc et le cadmium, par exemple, et faible pour le plomb [25]. D'autres facteurs météorologiques, biologiques et des facteurs de situation agissent de la même manière au niveau du sol et de l'atmosphère, principalement en modifiant l'absorption ou la solubilité du polluant, ainsi que les quantités présentes [28].

La dynamique saisonnière influence également la contamination des végétaux au bord des infrastructures routières. Des variations des teneurs en plomb ont été observées d'un facteur allant de 5 à 20 selon les saisons [28]. Cette variation peut être due à la présence d'une quantité différente de matériaux morts dans l'échantillon, quantité qui présente des teneurs en éléments métalliques plus importante que la fraction vivante. La pollution des végétaux est ainsi plus marquée en hiver qu'en été.

Les teneurs présentées à titre d'exemple dans le tableau 4 sont issues de Massounie (2002) [25].

I.4. La dispersion des polluants aux abords des axes routiers

La dispersion et le dépôt des polluants d'origine routière sont fonctions de nombreux facteurs. La quantité de polluant dispersée dépend en premier lieu du trafic et du parc automobile, mais également de la structure du site et de la météorologie [26, 28]. La force du vent notamment, surtout lorsque ce dernier souffle de façon perpendiculaire à la route, joue un rôle essentiel dans la dispersion des substances chimiques d'origine atmosphériques. L'influence de la météorologie s'exprime également par le biais des précipitations qui rabattent au sol les substances polluantes ou non en suspension dans l'atmosphère (cf.I.2.1).

Les polluants ne se dispersent pas tous de manière homogène. Leur dispersion dépend de leurs caractéristiques physico-chimiques : gaz ou particule, densité, poids, capacité à s'infiltrer dans le sol, etc. Ces caractéristiques varient également selon les conditions climatiques (température, rayonnement solaire) [6, 28].

1.4.1. La dispersion des éléments métalliques

Toutes les études recensées par Deletraz et Paul en 1998 [6] portant sur les concentrations en polluants dans l'air, le sol ou les végétaux en fonction de l'éloignement aux voies de circulation « s'accordent à dire que les concentrations sont plus importantes au niveau du terre plein central puis qu'elles diminuent de façon exponentielle avec l'éloignement à l'autoroute ou à la route ».

De façon générale, l'impact des métaux sur les végétaux est relevé jusqu'à 80 à 100 m d'éloignement de la voie (selon le trafic, le vent, la nature et la hauteur de prélèvement des végétaux, etc.). La décroissance des concentrations est rapide entre 0 et 50 m plus lente au-delà. La concentration de fond est retrouvée à partir de 250 à 300 m selon les études.

Sur les sols de surface (0-5 cm), l'impact des métaux d'origine routière est relevé jusqu'à 60 à 70 m de la voie, avec une décroissance très rapide des concentrations jusqu'à 30 m. Les valeurs les plus fortes sont mesurées au plus près de la voie (distance inférieure à 5 à 10 m selon le trafic) [26, 28]. Le bruit de fond est retrouvé au-delà de 150 m. Par ailleurs, plusieurs études ont relevé des concentrations 2 fois plus importantes pour le plomb du côté de l'axe routier sous l'influence des vents dominants [25].

Les teneurs en polluants métalliques décroissent également fortement avec la profondeur. Cette décroissance est très rapide de 0 à 15 cm, les ETM étant principalement retenus dans les 5 premiers centimètres de surface. Au-delà de 50 cm de profondeur, les sols ne sont généralement plus significativement pollués [26].

1.4.2. La dispersion des hydrocarbures

La dispersion des HAP est un phénomène complexe difficile à généraliser même si la plupart d'entre eux sont dispersés sous forme particulaire et déposés dans les 100 m de l'axe routier [6]. Une minorité est transporté dans les eaux de ruissellement.

Parmi les études recensées par Deletraz et Paul en 1998 [6], l'impact sur les végétaux ne suit pas de schéma particulier. Les concentrations mesurées sont assez semblables dans les différents sites et la décroissance suivant la distance à l'infrastructure n'est pas flagrante.

Sur les sols, l'impact est principalement marqué jusqu'à 30 m de part et d'autre de la chaussée [28]. Les dépôts d'HAP sont plus nombreux sous les vents dominants ; les concentrations ne sont pas maximales en bordures de voirie mais à une distance variable selon la morphologie du site.

Les hydrocarbures de masse moléculaire plus importante (fluoranthène, benzo (a) pyrène, indéno (1,2,3,cd) pyrène, dibenzo (ah) anthracène, benzo (g,h,i) pyrène, cf. III.1) ont tendance à se déposer près de la route tandis que ceux de masse moléculaire plus légère sont transportés à plus de 30 m lorsque le site est dégagé. Lors d'une configuration en déblai, les dépôts sont plus importants sur le haut du talus qu'en partie basse [6].

II. Les ETM : éléments traces métalliques

II.1. Définition

Parmi les éléments traces métalliques rencontrés dans les sols, les plus fréquemment analysés pour caractériser la pollution d'un sol sont le plomb, le cuivre, le zinc, le cadmium, le nickel, le chrome, le mercure auxquels est ajouté un métalloïde lourd l'arsenic (figure 3) [21].

Elément

1 H																	2 He
3 Li	4 Be											5 B	6 C	7 N	8 O	9 F	10 Ne
11 Na	12 Mg											13 Al	14 Si	15 P	16 S	17 Cl	18 Ar
19 K	20 Ca	21 Sc	22 Ti	23 V	24 Cr	25 Mn	26 Fe	27 Co	28 Ni	29 Cu	30 Zn	31 Ga	32 Ge	33 As	34 Se	35 Br	36 Kr
37 Rb	38 Sr	39 Y	40 Zr	41 Nb	42 Mo	43 Tc	44 Ru	45 Rh	46 Pd	47 Ag	48 Cd	49 In	50 Sn	51 Sb	52 Te	53 I	54 Xe
55 Cs	56 Ba	57 La	58 Ce	59 Pr	60 Nd	61 Pm	62 Sm	63 Eu	64 Gd	65 Tb	66 Dy	67 Ho	68 Er	69 Tm	70 Yb	71 Lu	
			72 Hf	73 Ta	74 W	75 Re	76 Os	77 Ir	78 Pt	79 Au	80 Hg	81 Tl	82 Pb	83 Bi	84 Po	85 At	86 Rn
87 Fr	88 Ra	89 Ac	90 Th	91 Pa	92 U	93 Np	94 Pu	95 Am	96 Cm	97 Bk	98 Cf	99 Es	100 Fm	101 Md	102 No	103 Lr	

Métaux lourds
Non-métaux et métalloïdes associés

Figure 3 : Métaux lourds dans la classification périodique

II.2. Origine

Les métaux et métalloïdes lourds sont présents de façon naturelle dans les sols. Ils proviennent en grande partie de l'altération de la roche mère du sous-sol. Toutefois, les concentrations les plus importantes rencontrées dans les sols sont liées à l'activité humaine : stockage de déchets industriels et urbains, pratiques agricoles, pollutions dues à des retombées atmosphériques (essence au plomb, poussières des industries métallurgiques, incinérations des ordures ménagères, etc.) [22].

A proximité des axes routiers, les éléments métalliques proviennent principalement de la pollution chronique (cf. figure 4), en particulier [12] :

- le plomb, utilisé comme antidétonant dans les carburants, dont l'usage est interdit depuis janvier 2000 suite à l'arrivée sur le marché des pots catalytiques et avec eux des rejets dans l'environnement de « nouveaux » éléments comme le platine et le palladium,
- le cadmium, provenant d'impuretés contenues dans les additifs à base de zinc et entrant dans la composition des huiles et des pneus,
- le zinc, issu de la corrosion des glissières de sécurité par les composés acides et de l'oxydation des petits ouvrages de traversée en acier galvanisé.

Les polluants métalliques tels que le cuivre, le nickel et le chrome sont également présents dans ces émissions chroniques, mais en plus faibles quantités.

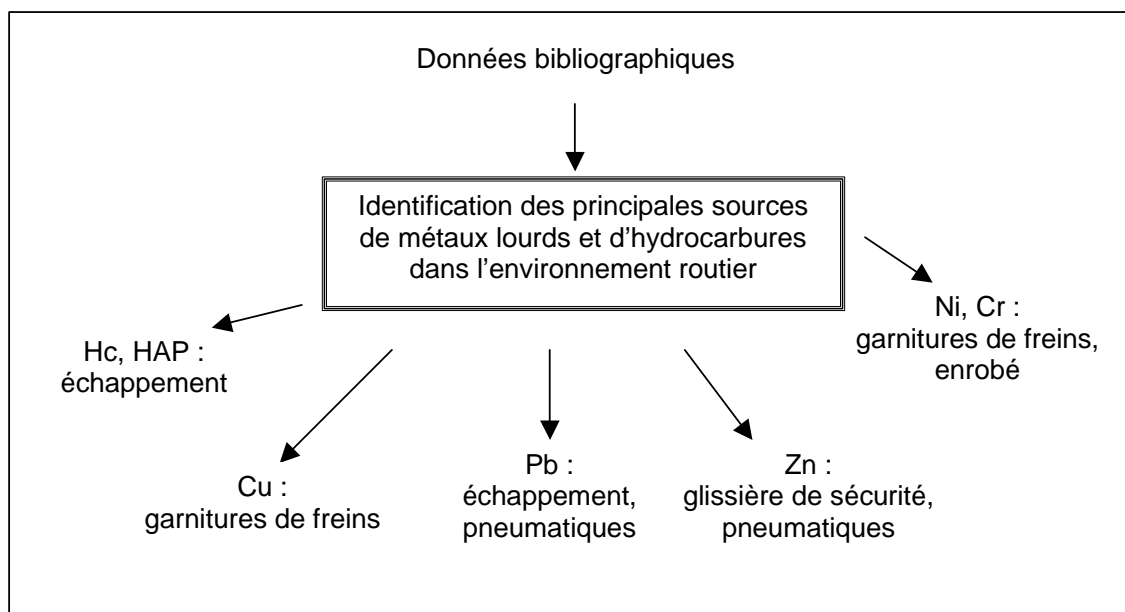


Figure 4 : Principales sources de pollution des ETM et HAP (d'après [26])

II.3. Principales propriétés physico-chimiques

II.3.1. Solubilité

La solubilité dans l'eau indique la tendance à la mobilisation du métal par lessivage ou par ruissellement. La solubilité dépend de l'élément, des conditions chimiques de la phase aqueuse (pH, potentiel d'oxydoréduction, concentrations en ligands) et des phases solides environnantes.

La solubilité d'un élément peut varier selon sa spéciation, c'est-à-dire sa répartition entre différents états de valence, qui représente un paramètre essentiel notamment pour l'arsenic et le chrome.

II.3.2. Stabilité

Contrairement aux contaminants organiques, les éléments métalliques sont indéfiniment stables en tant que tels et ne se dégradent pas dans l'environnement.

II.3.3. Volatilité

La volatilité influe sur la libération par évaporation naturelle des polluants infiltrés dans les sols. D'une façon générale, les métaux sont à considérés comme non volatils à l'exception du mercure.

III. Les HAP : hydrocarbures aromatiques polycycliques

III.1. Définition

Les hydrocarbures regroupent différentes familles de composés organiques :

- Les alcanes (hydrocarbures aliphatiques) constitués de chaînes linéaires ou ramifiées comprenant au minimum cinq atomes de carbone, appelés communément hydrocarbures,
- Les hydrocarbures aromatiques monocycliques (benzène, toluène, xylène, etc.),
- Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), généralement définis comme un groupe de composés comportant au moins deux noyaux benzéniques fusionnés entre eux et renfermant seulement des atomes d'hydrogène et de carbone.

Les composés de la famille des HAP sont très nombreux (plusieurs dizaines) ; dans les études environnementales, les spécialistes ont pris l'habitude d'en considérer plus particulièrement un petit nombre, censé représenter l'ensemble du groupe : 6 pour l'Union Européenne, 10 aux Pays-Bas, 16 aux USA, etc. [3].

La liste la plus souvent utilisée en France est celle des Etats-Unis (liste US-EPA) présentée dans le tableau 5, qui rassemble les composés jugés les plus représentatifs de l'ensemble des HAP. Les 6 derniers composés, les HAP les plus lourds (cf.III.3), sont principalement retrouvés dans l'environnement sous forme particulière [6].

Tableau 5 : Liste des 16 HAP de l'US-EPA

Le naphtalène	Le benzo (a) anthracène
L'acénaphthalène	Le chrysène
L'acénaphthylène	Le benzo (b) fluoranthène
Le fluorène	Le benzo (k) fluoranthène
Le phénanthrène	Le benzo (a) pyrène
L'anthracène	Le benzo (g,h,i) pyrène
Le fluoranthène	Le dibenzo (ah) anthracène
Le pyrène	L'indéno (1,2,3,cd) pyrène

III.2. Origine

La plupart des contaminants organiques sont générés par l'activité humaine. Les HAP proviennent essentiellement de processus de combustion, ou de contamination par des produits pétroliers [4].

Certains peuvent néanmoins avoir une origine naturelle : exemple des HAP présents dans les sols des forêts de sapins ou de hêtres autour des lacs, les champs pétrolifères, etc. [22].

Comme pour les éléments traces métalliques, à proximité des infrastructures routières, les HAP proviennent essentiellement des usages et conditions d'utilisation de la route. La pollution en hydrocarbures est due à :

- l'usure des pneumatiques,
- aux émissions de gaz d'échappement,
- aux fuites d'huiles et autres liquides (carburant, freinage).

Les HAP provenant des émissions des véhicules résultent à la fois d'une combustion incomplète du carburant et de transformations chimiques plus ou moins complexes des différents composés qui s'y trouvent présents initialement. Ils peuvent donc provenir du carburant utilisé ou se former lors de la combustion des hydrocarbures soit par pyrolyse, en l'absence ou manque d'espèces oxydantes, soit par carbonisation. A température ambiante, les HAP sont à l'état gazeux, liquide ou solide, soit libres, soit adsorbés, et c'est le cas pour la majorité d'entre eux, sur des poussières ou particules [26, 28].

Leur état dépend néanmoins de leur poids moléculaire [6] :

- ✓ Les HAP légers (2 ou 3 noyaux benzéniques) restent en majorité, pour les véhicules à essence, en phase gazeuse, mais 50 % des HAP légers sont en revanche adsorbés sur les particules dans le cas des véhicules diesel.
- ✓ Les HAP à 4 noyaux benzéniques, comme le fluoranthène et le pyrène, sont adsorbés à 90 % sur les particules diesel.
- ✓ Les HAP lourds (5 noyaux et plus) sont adsorbés à plus de 99 % dans les particules émises, que ce soit un véhicule à essence ou diesel.

Etant donnée la part des émissions de particules liée aux véhicules diesel (90 % en 1998), les HAP constituent de bons traceurs de la pollution automobile particulaire (et notamment diesel). Les émissions de HAP les plus importantes étant cependant, en valeurs absolues, associées aux véhicules à essence (sans catalyseur) (situation 1998), il est recommandé de mesurer la totalité des HAP sous formes particulaire et gazeuse [6].

III.3. Principales propriétés physico-chimiques

III.3.1. Densité et solubilité

La densité des HAP est généralement supérieure à 1. Ils ne sont pas miscibles à l'eau car leur solubilité est faible pour les plus légers (1 à 30 mg/l) à très faible pour les plus lourds (1 µg/l à 1 mg/l).

III.3.2. Stabilité

Les HAP sont biodégradables dans les sols, les molécules les plus légères étant les plus rapidement dégradées. Le milieu doit toutefois être suffisamment aérobie.

III.3.3. Volatilité

Les HAP sont semi-volatils (point d'ébullition compris entre 200 et 500°C).

PARTIE II :

Méthodes de dosage sur les sols

Partie II : Méthodes de dosage sur les sols

I. L'analyse des ETM et HAP sur les sols

I.1. Introduction

Les deux familles de contaminants rencontrés le plus souvent dans les sols sont : les éléments métalliques (ETM), et parmi les polluants organiques, ceux de la famille des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP).

ETM

Pour évaluer la toxicité des éléments métalliques d'origine anthropique, les laboratoires sont amenés à déterminer parfois non seulement la teneur totale de chaque élément mais aussi sa forme chimique. La détermination des teneurs totales en métaux est une donnée importante qui permet d'évaluer le degré de contamination des sols mais qui ne permet toutefois pas d'appréhender les comportements des polluants dans le milieu.

L'analyse de la spéciation opérationnelle³, fondée sur des techniques d'extraction séquentielle, et dont l'objet est d'identifier et de quantifier les éléments polluants dans des phases spécifiques du sol, peut s'avérer essentielle pour évaluer leur mobilité et leur impact potentiel sur l'environnement (ex dans le cas du chrome). Néanmoins, la multiplicité des protocoles analytiques rend l'emploi des méthodes de spéciation très discutable ([26], Cornu et Clozel, 2000, *in* [10], et cf. Partie II, I.2.3).

D'autres méthodes permettent d'évaluer l'impact physiques des polluants sur les milieux et notamment leur comportement dans les sols. Citons à titre d'exemple, les tests de lixiviation, réalisés selon la norme NF X 31-210 destinés à évaluer l'effet de la contamination d'un sol sur les eaux souterraines par simulation de la libération des polluants dans l'eau, et les tests de percolation en colonnes [16] basés sur le même principe mais réalisés en conditions de transfert hydrique, ascendant ou descendant, plus proches des conditions réelles.

D'autres méthodes, enfin, apportent des informations sur les impacts écotoxicologiques des polluants par étude de leur stockage ou dégradation biologique dans le sol.

Les tests de comportement physiques et biologiques ne sont pas détaillés dans ce document dont l'objet principal est de recenser et comparer les méthodes d'analyse et de dosage des éléments métalliques, quantifiés de façon globale dans l'échantillon. Seule l'extraction séquentielle est abordée en complément de l'extraction totale des ETM au paragraphe I.2.3.

³ Par opposition à la spéciation *fonctionnelle* qui s'intéresse de façon isolée aux formes des espèces chimiques ayant des fonctions analogues (disponibles pour les plantes, échangeables, etc.) [26].

HAP

Les hydrocarbures sont caractérisés en première approche au laboratoire de façon globale au moyen de l'indice « huiles minérales » déterminé par spectrophotométrie infrarouge ou encore par analyse quantitative utilisant l'aire du signal obtenu en chromatographie en phase gazeuse (norme NF X 31-410). La méthode par infrarouge donne une teneur globale sans distinction du type d'hydrocarbure, tandis que la chromatographie-gaz permet, lorsque l'indice montre l'existence d'une forte pollution, de préciser le type de mélange et de séparer, identifier et quantifier les d'hydrocarbures présents par rapport à un (ou des) étalon(s) adapté(s).

Seize composés de la famille des HAP sont considérés le plus souvent [cf. Partie I, III.1] comme représentatifs de ces polluants. Leur analyse permet souvent de connaître l'origine d'une pollution par comparaison à des profils types.

I.2. Schéma général d'une analyse en laboratoire sur les sols

L'analyse en laboratoire des hydrocarbures aromatiques polycycliques comme des éléments métalliques dans les sols nécessite une phase de préparation de l'échantillon (séchage, tamisage, broyage, etc.), une phase d'extraction des polluants de la matrice solide, et enfin une phase de dosage du polluant proprement dite (cf. figure 5 en page 29).

Si des textes de référence existent pour l'analyse des métaux depuis plusieurs années (1992 à 1996), la normalisation relative à l'analyse des HAP dans les sols est pour sa part plus récente (1999 à 2003) et pas encore appliquée en routine par les laboratoires concernés.

Les paragraphes suivants décrivent les méthodes et protocoles généralement utilisés pour l'analyse des ETM et des HAP, de la préparation de l'échantillon (et sa conservation préalable) au dosage lui-même ; les étapes d'échantillonnage et de transport, qui ne font pas l'objet du présent document, n'y sont pas détaillées.

Les principales informations mentionnées dans ce paragraphe sont issues du Guide méthodologique pour l'analyse des sols pollués [21].

I.2.1. Conservation des échantillons

Les conditions de stockage des échantillons doivent permettre de minimiser les risques de pertes, par adsorption/désorption sur le revêtement du flaconnage, des micro-polluants recherchés (se reporter à la norme NF ISO 10 381-5, avec des informations plus précises dans la norme NF ISO 14 507).

Pour l'analyse des HAP, il faut éviter le flaconnage en plastique, et privilégier les flacons en verre brun hermétiquement clos. Le temps de stockage doit être aussi bref que possible, et les échantillons conservés à une température inférieure à 4°C.

Pour l'analyse des métaux, les échantillons peuvent être conditionnés dans des récipients en verre ou en plastique. Ils doivent ensuite être conservés à une température inférieure à 4°C jusqu'à analyse, et à l'abri de la lumière.

1.2.2. Préparation des échantillons avant analyse

L'objectif de la préparation de l'échantillon avant analyse est d'obtenir un échantillon représentatif dans lequel la concentration en polluants est aussi proche que celle présente dans le sol ou le végétal d'origine. C'est souvent l'étape la plus longue et celle qui génère le plus de sources d'erreur dans la chaîne analytique. Elle comprend :

Le quartage : homogénéisation des prélèvements et sélection d'un échantillon représentatif,

Le séchage : à une température compatible avec les caractéristiques des composants recherchés. Pour les métaux, le séchage des échantillons de sol est le plus souvent réalisé à l'étuve à 105°C ; pour les HAP, l'échantillon est séché à l'air, à l'étuve à une température inférieure à 40°C, ou lyophilisé (cf. NF ISO 11 464).

Le tamisage : pour éventuellement éliminer les gros fragments solides qui ne sont habituellement pas considérés comme faisant partie du sol. La fraction conservée pour analyse est généralement celle inférieure à 2 mm (NF X 31-101).

Le broyage : réduction des échantillons en poudre fine de façon à favoriser la mise en solution des éléments à analyser (augmentation de la surface spécifique du matériau).

Parmi l'ensemble des paramètres caractéristiques des HAP, leur semi-volatilité apparaît dans cette étape comme le facteur le plus critique. Le séchage, broyage et tamisage des échantillons qui s'avèrent souvent indispensables doivent être réalisés le plus soigneusement possible. Malgré tout, une importante hétérogénéité existe dans les pratiques réelles utilisées pour la phase de préparation d'un échantillon de sol avant un dosage de HAP (cf. enquête réalisée auprès de quelques laboratoires français, rapportée par Belkessam *et al.* (1998) [3]).

Lorsque métaux et HAP doivent être analysés dans un échantillon, des techniques différentes de préparation des échantillons seront mises en œuvre en parallèle afin de concilier représentativité et préservation des concentrations initiales des éléments recherchés.

1.2.3. Extraction de l'échantillon et purification des extraits

1.2.3.a. Extraction de l'échantillon

L'extraction des échantillons a pour but de mettre en solution tout ou partie des polluants avant analyse.

Deux démarches sont possibles :

1. rechercher la quantité totale de polluant présent (fraction libérable et fraction fixée sur la matrice du sol) en effectuant une extraction aussi exhaustive que possible de l'échantillon,
2. rechercher dans le cadre d'une étude de comportement, la quantité de polluant susceptible d'être libérée ou adsorbée, d'être re-mobilisée par lessivage.

Extraction totale

La quantité de polluant extraite dépend à la fois de la technique d'extraction utilisée mais aussi de la composition physico-chimique du sol. Les métaux contenus dans un sol à forte teneur en argile par exemple, seront plus difficiles à mettre en solution que ceux présents dans un sol plutôt sablonneux.

Le risque à cette étape réside dans la perte des composés (par volatilisation, occlusion, et/ou adsorption sur les parois des récipients). La source d'erreur possible est d'autant plus grande que la quantité des polluants recherchés est faible.

Comme pour le pré-traitement des échantillons, il existe différentes méthodes d'extraction dite totale.

ETM

Pour les éléments métalliques, la méthode de solubilisation la plus utilisée est la minéralisation par attaques acides. Réalisée en milieu ouvert ou fermé et à chaud (150°C), elle utilise l'acide nitrique, l'eau régale (mélange acide chlorhydrique / acide nitrique) ou un mélange d'acide perchlorique et d'acide fluorhydrique.

L'extraction par attaque acide, en milieu fermé, présente l'avantage d'éviter les pertes d'éléments volatils (mercure, arsenic, plomb ou cadmium) qui se produisent parfois lors d'une minéralisation par calcination.

HAP

Plusieurs méthodes sont disponibles pour l'extraction des composés organiques semi-volatils, car les différentes formes et concentrations rencontrées pour les HAP rendent impossible à ce jour la préparation d'une méthode unique valable pour toutes les applications et quelles que soient les matrices analysées.

Le soxhlet

La méthode de référence est l'extraction au soxhlet. Elle est appliquée pour l'extraction des HAP de sols fortement contaminés (NF ISO 13-877).

Le principe du soxlet est fondé sur l'extraction liquide solide par re-circulation continue, sur l'échantillon de sol, de solvant porté à ébullition et re-condensé. Cette technique assure une extraction progressive des polluants et une régénération en continu du solvant, mais elle nécessite des volumes importants de solvant (200 à 300 ml par échantillon) et un temps d'extraction d'au moins 16 heures.

Une variante plus rapide de la méthode précédente (temps d'extraction réduit à 3 heures), utilisant moins de solvant (40 ml), a été développée sous le nom de soxtec.

L'agitation mécanique à froid

Cette technique qui consiste à agiter mécaniquement l'échantillon en présence d'un solvant extractant à pression atmosphérique et à température ambiante, est préconisée pour extraire les HAP pour les sols peu pollués (NF ISO 13-877). C'est une méthode simple est très intéressante car elle donne des résultats qui sont au moins aussi bons que ceux obtenus par la technique du soxhlet, même si elle requiert comme cette dernière, des volumes importants en solvant organiques (200 ml) et des temps d'extraction longs.

Dans la littérature, des expériences utilisant des solvants différents et/ou des techniques d'extraction différentes sont rapportées pour le dosage des HAP. Des solvants tels que l'hexane, le cyclohexane, le chlorure de méthyle, l'acétonitrile ou le tétrahydrofurane sont

utilisés. D'autres techniques d'extraction, telles que les ultrasons ou l'extraction par fluide supercritique (SFE) sont appliquées. Les résultats obtenus sont souvent comparables à ceux obtenus avec les méthodes données dans la norme NF ISO 13-877.

Les méthodes d'extraction totales sont nombreuses, et de nouvelles technologies sont sans cesse testées dans l'objectif d'accélérer les processus, de diminuer voire supprimer les volumes de solvants requis, et plus généralement d'augmenter la productivité sans sacrifier la qualité.

Parmi celles-ci citons encore l'extraction par micro-ondes, utilisée pour le dosage des éléments métalliques, dont le principe repose sur l'interaction onde-matière. Cette interaction entraîne la transformation de l'énergie électromagnétique en chaleur permettant la libération des polluants adsorbés dans les sols. L'extraction par micro-ondes peut être réalisée dans des systèmes ouverts (à pression atmosphérique) ou fermés (sous pression) et permet une régularisation de la température du liquide extractant.

Extraction séquentielle

L'extraction séquentielle, développée au début des années 1980, est une méthode d'analyse sélective permettant de déterminer sur quelles phases solides du sol, minérales ou organiques, sont liés les polluants. Cette méthode est principalement appliquée au cas des éléments métalliques. Le principe est de soumettre un échantillon à une série ordonnée de réactifs de force croissante pour solubiliser les différentes formes ou phases d'un métal présent dans un échantillon [12, 17, 26].

Exemples de schéma d'extraction

Le schéma de Tessier

L'un des premiers à avoir utilisé une telle méthode est Tessier en 1979. Son schéma d'extraction comprend cinq étapes et permet de définir la répartition de l'élément métallique selon son appartenance aux fractions suivantes :

1. *la fraction échangeable* : cette fraction est celle associée aux constituants impliqués dans les échanges de cations qui comprend matériaux argileux, matière organique et matière inerte. Elle représente la partie mobile et biodisponible et donc la fraction potentiellement la plus toxique pour l'environnement.
2. *la fraction associée aux carbonates ou fraction acido-soluble* : cette fraction regroupe les métaux précipités avec les carbonates qui se dissolvent avec une diminution de pH. L'acide acétique est généralement utilisé car il solubilise les métaux sans dissoudre la matière organique, les oxydes et les particules d'argile [17].
3. *la fraction liée aux oxydes métalliques ou fraction réductible* : cette fraction contient les métaux associés aux oxydes de fer, d'aluminium et de manganèse, plus ou moins cristallisés, instables en conditions anoxiques provoquées par exemple par une diminution du potentiel d'oxydo-réduction.
4. *la fraction organique ou fraction oxydable* : cette fraction est associée à diverses matières organiques qui, en milieu oxydant, se dégradent et relarguent ainsi les métaux.
5. *la fraction résiduelle* : essentiellement constituée des éléments métalliques associés aux minéraux primaires et secondaires, cette fraction peut contenir des métaux dans leur structure cristalline. L'extraction a lieu après une longue digestion en présence d'acides

forts à des températures élevées. La détermination des ETM de cette fraction est importante pour compléter les bilans de masse [17].

Le schéma du Bureau Communautaire de Référence

Les méthodes d'extraction séquentielles sont nombreuses et face à leur diversité, le Bureau Communautaire de Référence (BCR) a lancé en 1987 un programme destiné à harmoniser les procédures utilisées pour déterminer la répartition des métaux dans les sols. Après inter-comparaisons entre plusieurs laboratoires, une procédure en trois étapes a été retenue. Le tableau 6 en résume la méthode.

Tableau 6 : Schéma d'extraction séquentielle du Bureau Communautaire de Référence [12]

Réactifs	Terminologie	Phases supposées extraites
CH ₃ COOH 0,11 mol/l	Métaux présents dans la phase acido-soluble	Acido-soluble et soluble dans l'eau, échangeable
NH ₂ OH, HCl 0,1 mol/l, pH=2	Métaux présents dans la phase réductible	Oxydes de fer et de manganèse
H ₂ O ₂ 8,8 mol/l, CH ₃ COONH ₄ 1 mol/l, pH=2	Métaux présents dans la phase oxydable	Organique + sulfure

Autres schémas

D'autres méthodes d'extraction séquentielle ont été adaptées et utilisées selon les problèmes à traiter. Le lecteur pourra se reporter aux thèses de C. Pagotto et C. Durand [26, 12] pour des exemples de protocoles et une synthèse bibliographique des schémas d'extraction séquentielle employés pour les métaux et les hydrocarbures.

Critiques des extractions séquentielles

Ces méthodes d'extraction sont largement critiquées. Les principaux problèmes résident dans la non-sélectivité des extractants (surtout pour le zinc) et les risques de redistribution des éléments par ré-adsorption ou précipitation dans les différentes phases d'extraction (surtout pour le plomb et le cuivre) [17, 26]. Par ailleurs aucune procédure de référence et ni de contrôle formel de la qualité n'ont pu être encore établies. Les extractions séquentielles restent donc définies de manière essentiellement opérationnelle, et dépendent par conséquent étroitement du mode opératoire et des réactifs utilisés.

Malgré tout, l'extraction séquentielle permet d'apprécier de façon qualitative la capacité des différents constituants du sol à retenir les métaux et reflète assez fidèlement les divers processus de relargage qui peuvent avoir lieu dans l'environnement, même si l'échelle de temps des phénomènes naturels n'est pas respectée en laboratoire [17]. Elle présente pour cela, l'intérêt majeur de constituer la seule approche expérimentale disponible actuellement pour appréhender la mobilité des éléments métalliques associés au sol.

Elle donne par ailleurs davantage d'informations que les extractions uniques, souvent pratiquées pour mesurer les teneurs en éléments métalliques, et trouve toute sa légitimité lors d'études comparatives [10].

I.2.3.b. Purification des extraits

La purification permet d'éliminer les substances co-extraites avec les polluants, qui peuvent interférer lors de la phase d'analyse proprement dite. Comme pour les étapes précédentes, la méthode à utilisée dépend de la nature du polluant recherché et des constituants de l'échantillon co-extrait. Les extraits sont alors concentrés par évaporation du solvant sous d'importantes précautions de manipulation afin de limiter la volatilisation des composés recherchés.

I.2.4. Analyse instrumentale

I.2.4.a. Analyse des ETM

La quantification des éléments métalliques est réalisée le plus souvent par spectrométrie d'adsorption atomique (SAA) ou par utilisation du plasma à couplage inductif associé ou non à une détection par spectrométrie de masse ou d'émission atomique (ICP ou ICP/MS, ICP/AES). (Se reporter en annexe 1 pour une description des différentes méthodes d'analyse).

Outre la disponibilité matérielle, le type d'appareil à utiliser est déterminé par la nature et la concentration de l'élément métallique recherché car les métaux n'ont pas tous la même sensibilité vis à vis du mode d'atomisation employé. A titre d'exemple, le cadmium donnera un signal plus « fort » pour une concentration plus basse en SAA (four) qu'avec la méthode ICP/AES. Le choix dépend également du bruit de fond généré par la matrice et du type de détecteur de l'appareil.

La méthode par ICP est cependant généralement préférée car elle plus rapide et permet de réaliser des analyses multi-élémentaires, parfois en mode simultané, et ainsi de rechercher selon un programme prédéfini plusieurs métaux dans un grand nombre d'échantillons. Le niveau d'interférences physico-chimiques (effet de matrice, effets inter-éléments) est de plus très faible comparé à la SAA. L'ICP/MS présente enfin l'avantage de posséder des limites inférieures de quantification très basses.

I.2.4.b. Analyse des HAP

La technique adaptée à l'analyse des HAP est la chromatographie en phase gazeuse (CPG) ou en phase liquide (LC) encore connue sous le nom de chromatographie liquide haute performance (HPLC) décrite dans la norme NF ISO 13 877. Ces appareils sont généralement couplés à différents moyens de détection : détecteur à ionisation de flamme (FID), spectrométrie de masse (MS), détection par ultra-violet (UV) ou par fluorimétrie.

La détection par fluorimétrie est une méthode plus sensible et plus sélective que la méthode par UV qui par contre, présente une plage de linéarité plus étendue. La fluorimétrie ne permet pas de détecter la présence d'acénaphthylène [3].

La technique par chromatographie liquide permet de séparer des composés, à température ambiante, en utilisant une phase mobile de type eau-méthanol ou acétonitrile-eau.

La LC est désormais le plus souvent couplée à la spectrométrie de masse (LC/MS) qui suite à la séparation préalable des polluants permet une détection quantitative et/ou une identification des composés par comparaison des spectres obtenus à une bibliothèque de spectres de composés connus.

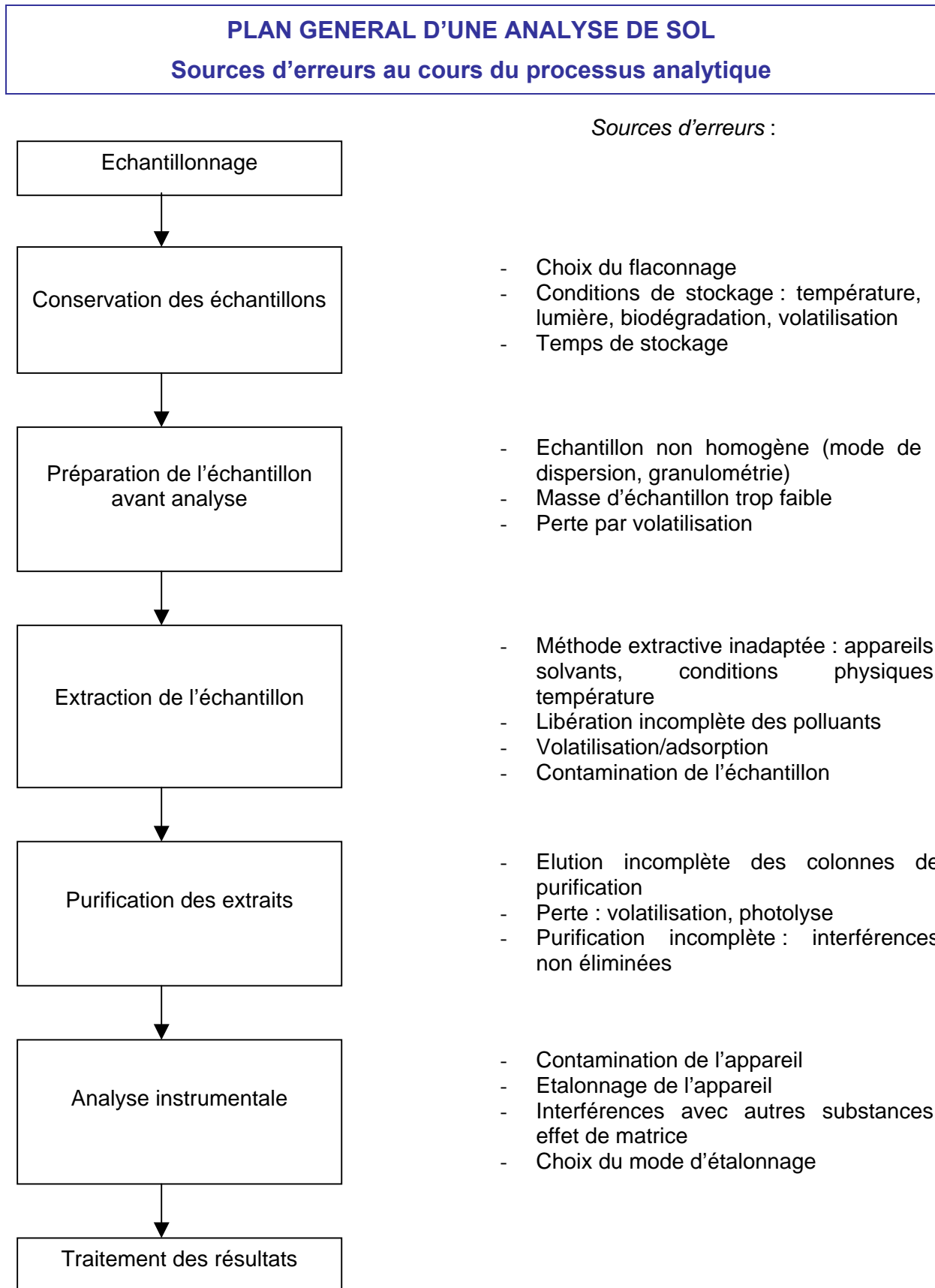


Figure 5 : Principales sources d'erreurs au cours du processus analytique (d'après [21])

I.3. Précautions particulières

L'étude d'échantillons, de sols ou de végétaux, ne contenant des éléments ou composés qu'à l'état de trace contraint l'expérimentateur à adopter des règles strictes afin de limiter tout risque de contamination des échantillons lors du processus d'analyse :

- lavage soigné de la verrerie et des instruments en contact avec les échantillons, afin de limiter les risques de contamination des échantillons,
- précision de manipulation lors de la préparation des réactifs
- détermination du bruit de fond du laboratoire par réalisation de l'analyse simultanée d'échantillons témoins ou blancs de laboratoire,
- etc.

Toutes ces précautions prises durant la préparation du matériel et au cours du traitement des échantillons sont coûteuses en temps, et peuvent aller jusqu'à doubler le temps de travail par échantillon.

I.4. Présentation des résultats

Tout résultat analytique, détermination de teneur d'un élément ou d'un composé, doit être présenté, pour avoir un intérêt pratique, avec son incertitude associée, le plus souvent exprimée sous la forme d'un écart-type ou d'un de ses multiples.

L'incertitude de la mesure caractérise l'étendue des valeurs parmi lesquelles est supposée se situer la valeur vraie, avec un certain degré de confiance qui est spécifié. Chaque mesure est associée à une incertitude qui résulte des erreurs successives qui surviennent aux différents stades de l'échantillonnage et de l'analyse et de la connaissance parfaite des facteurs qui affectent le résultat (cf. figure 5) [15].

Pour identifier les différentes sources d'incertitude, il faut s'intéresser aux différentes étapes du protocole d'analyse : échantillonnage, sous-échantillonnage, préparation des échantillons, extraction, purification, concentration ou dilution, étalonnage des appareils (y compris la préparation des matériaux de référence), analyse instrumentale, traitement des données brutes et transcription du résultat de sortie.

Le lecteur désireux de plus amples informations sur les calculs d'incertitude pourra notamment se reporter aux deux ouvrages suivants : Guide pour la qualité en chimie analytique [15] et Atlas de poche des méthodes analytiques [29].

I.5. Les méthodes rapides de terrain

Les méthodes de terrain ou méthodes *in situ* désignent des méthodes faciles à mettre en oeuvre et capables de donner directement des résultats analytiques sur le site étudié.

L'emploi de telles méthodes s'avère particulièrement intéressant lors d'un suivi de la pollution chronique nécessitant la répétition des analyses plusieurs fois dans l'année. Elles ne sont, en revanche, pas recommandées pour déterminer un niveau de pollution des sols de façon précise car l'obtention des données est souvent semi-quantitative, nécessite une validation préalable, et reste soumise aux variations de température, à la présence de poussière et d'humidité, ainsi qu'à la composition de la matrice.

De façon générale, des valeurs obtenues *in situ* sur des matrices différentes ne pourront pas être comparées entre elles, ni à des valeurs issues d'analyses effectuées en laboratoire.

Ces méthodes peuvent cependant permettre d'orienter, par l'apport de mesures rapides, l'échantillonnage sur le site et limiter le nombre d'échantillons qui seront envoyés en laboratoire pour des analyses complètes.

Parmi les méthodes *in situ* commercialisées, les résultats obtenus avec les tests immuno-enzymatiques sur les sols présentent une bonne corrélation avec les méthodes de référence. Ces tests se présentent sous forme de kits disponibles pour identifier certains pesticides, les PCB, les HAP, et autres composés organiques [21]. La détermination semi-quantitative des HAP, notamment, est encadrée par la norme française FD X 31-610.

Certains appareils utilisés sur le terrain sont adaptés de techniques de laboratoire éprouvées. Parmi ceux-ci, le spectromètre portable à fluorescence X, par exemple, est de plus en plus souvent employé pour la détermination des teneurs en métaux sur les sites pollués. Plusieurs études ont montré une très bonne corrélation pour le zinc et le plomb entre les mesures obtenues par fluorescence X sur le terrain et les analyses réalisées en laboratoire par ICP / AES (voir annexe 1) [18, 19]. D'autres techniques de chromatographie gazeuse avec des détecteurs à photo ionisation ou à conductivité thermique sont également utilisés pour l'analyse sur site des polluants organiques et semi-volatils [20, 21].

L'emploi de telles méthodes reste néanmoins en cours de développement. Leur utilisation n'étant pas encore formellement validée, celles-ci doivent être utilisées avec précaution.

II. Dosage des ETM sur les sols : Exemples de protocoles

II.1. Présentation de la méthode

Les exemples de protocoles sont présentés sous forme de fiches techniques. Ils proviennent, dans le cas du dosage des éléments métalliques sur les sols, de pratiques de laboratoire (fiches 1 et 1bis), de plusieurs publications (fiches 2, 4 et 7) et de travaux de recherche présentés dans le cadre de thèses de doctorat (fiches 3, 5, 6 et 8).

Les méthodes de dosage sont relatives à la détermination des teneurs totales des polluants métalliques dans les échantillons ; l'existence de protocole d'extraction séquentielle est mentionnée dans la fiche lorsqu'il y est fait mention dans le document source (fiches 3 et 8).

II.2. Liste des fiches présentées

Fiche 1 : C. Hébrard-Labit, 2004, [pratiques de laboratoire d'analyses]
Laboratoire Régional des Ponts et Chaussées, CETE Nord-Picardie, Lille
Analyse des teneurs en métaux dans les sols
Méthode 1 : Minéralisation par micro-ondes
[Couche superficielle du sol 0-10 cm ou 0-20 cm et 20-40 cm](#)

Fiche 1bis : C. Hébrard-Labit, 2004, [pratiques de laboratoire d'analyses]
Laboratoire Régional des Ponts et Chaussées, CETE Nord-Picardie, Lille
Analyse des teneurs en métaux dans les sols
Méthode 2 : Extraction acide HF + HClO₄
[Couche superficielle du sol 0-10 cm ou 0-20 cm et 20-40 cm](#)

Fiche 2 : F. Douay, H. Fourrier, 2003 [9]
ISA, Laboratoire Sols et Environnement, Lille
Détermination des teneurs en métaux lourds (plomb, cadmium et zinc) dans les sols des potagers et des pelouses du lotissement du Grand marais, Commune d'Auby
[Couche superficielle du sol 0-2 cm et couche 0-25 cm](#)

Fiche 3 : Thèse de doctorat de Cédric Durand, 2003 [12]
Université de Poitiers et Laboratoire Central des Ponts et Chaussées, Nantes
Caractérisation physico-chimique des produits de l'assainissement pluvial. Origine et devenir des métaux traces et des polluants organiques.
[Sédiments de fond de bassins de rétention des eaux pluviales](#)

- Fiche 4** : F. Douay, C. Pruvot, M. François, 2002 [10]
Institut National de la Recherche Agronomique, Nancy
Teneurs en Pb, Cd et Zn dans des blés et maïs cultivés aux alentours des usines métallurgiques de Noyelle-Godault et d'Auby. Comparaison avec les caractéristiques physico-chimiques des sols, leur degré de contamination et la spéciation des polluants métalliques
[Sols au pied des végétaux analysés](#)
- Fiche 5** : Thèse de doctorat de Sandrine Promeprat, 2001 [28]
Université de Metz
Etude de la contamination métallique (Cd, Pb, Zn) du sol de surface et des végétaux de l'environnement de proximité d'une autoroute (chapitre 5)
[Couche superficielle du sol 0-10 cm](#)
- Fiche 6** : Thèse de doctorat de Hamina Dahmani-Muller, 2000 [5]
Ecole Nationale du Génie Rural, des Eaux et Forêts, Paris
Phyto-réhabilitation des sols pollués par des éléments métalliques : facteurs et mécanismes de prélèvement dans les sols et d'accumulation par les espèces métallophytes
[Trois couches de sol : 0-5 cm, 5-10 cm, 10-20 cm](#)
- Fiche 7** : L. Des Ligneris, F. Douay, T. Sterckeman, 1999 [7]
ISA, Laboratoire Sols et Environnement, Lille
Teneurs en métaux (Pb, Cd et Zn) de végétaux cultivés dans les exploitations agricoles et les jardins familiaux
[Couche superficielle de sols de jardins](#)
- Fiche 8** : Thèse de doctorat de Christelle Pagotto, 1999 [26]
Université de Poitiers et Laboratoire Central des Ponts et Chaussées, Nantes
Etude sur l'émission et le transfert dans les eaux et les sols des éléments traces métalliques et des hydrocarbures en domaine routier
[Sols en bordure de chaussée autoroute A11 \(Nantes\), RN10 et RN12 \(Paris\) : 0-2 cm, 2-10 cm, 10-30 cm et profil complet jusqu'à 70 cm.](#)

Analyse des teneurs en métaux dans les sols

Pratiques de laboratoire d'analyses

C. Hébrard-Labit, 2004

Détermination des teneurs en métaux (Al As Cd Cr Cu Hg Ni Pb Se Zn) dans les sols (naturels, industriels, routiers, potagers) et les sédiments

Méthode 1 : Minéralisation par micro-ondes

Mode de prélèvement

Echantillonnage des sols à la tarière hélicoïdale (diamètre 40 mm).

Pour l'analyse des ETM en bordure d'infrastructure, trois profondeurs sont retenues : 0-10 cm, 0-20 cm et 20-40 cm.

Prélèvements de 3 réplicats à partir desquels est constitué un échantillon composite moyen conditionné en flacon en verre.

Les échantillons sont conservés au réfrigérateur à 4°C avant analyses.

Préparation des échantillons

Pré-traitement

Les échantillons sont homogénéisés et quartés, puis séchés à 105°C+/-5°C selon la norme NF ISO 11 465 de août 1994. Les échantillons sont ensuite tamisés à 2 mm (élimination des végétaux, plastiques, verres, cailloux, etc.) selon la norme NF ISO 11 464 de décembre 1994. Homogénéisation par broyage au broyeur à agate (inférieur à 315 µm).

Mise en solution

Le protocole utilisé est inspiré de la norme NF ISO 11 466 de juin 1995 transposé à la méthode micro-ondes (marque Milestone). La minéralisation se fait en bombes téflon sous pression.

La mise en solution des éléments métalliques est réalisée sur échantillon broyé (prise d'essai de 0,5 g) et légèrement humidifié à l'eau ultra pure. Puis ajout de 7,5 ml d'acide chlorhydrique 37 % (HCl, Merck Suprapur max Hg 0,005 ppm) et 2,5 ml d'acide nitrique 65 % (HNO₃, Merck Suprapur max Hg 0,005 ppm). Après fermeture des bombes, mise en place dans le carrousel puis programme de chauffage de 17 minutes : 10 minutes à 300 Watts, 5 minutes à 600 Watts, 2 minutes de ventilation. Après refroidissement à l'eau glacée, filtration du minéralisat sur filtre bande rouge et récupération en jaugée de 100 ml.

Analyses

L'analyse des métaux est réalisé à l'ICP/AES (Al, As, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn) ou en SAA (Hg, Se).

Le spectromètre d'émission atomique avec plasma couplé par induction est un Tracescan séquentielle à torche axiale (Thermo Jarrell Ash).

Le SAA est un Solaar 969 (Thermo Jarrell Ash) munit d'un générateur de vapeur (froide ou chaude) Unicam VP90 équipé d'un système de correction du bruit de fond par lampe au deutérium.

La limite de quantification des polluants dans le sol (en mg.kg⁻¹ matière sèche) selon la méthode utilisée est :

	Al	As	Cd	Cr	Cu	Hg	Ni	Pb	Se	Zn
ICP/AES	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4		0,4	1		0,4
SAA vapeur						0,2			0,4	

Analyse des teneurs en métaux dans les sols**Pratiques de laboratoire d'analyses****C. Hébrard-Labit, 2004***Détermination des teneurs en métaux (Al As Cd Cr Cu Ni Pb Zn) dans les sols (naturels, industriels, routiers, potagers) et les sédiments***Méthode 2 : Extraction acide HF + HClO₄****Mode de prélèvement**

Echantillonnage des sols à la tarière hélicoïdale (diamètre 40 mm).

Pour l'analyse des ETM en bordure d'infrastructure, trois profondeurs sont retenues : 0-10 cm, 0-20 cm et 20-40 cm.

Prélèvements de 3 répliqués à partir desquels est constitué un échantillon composite moyen conditionné en flacon en verre.

Les échantillons sont conservés au réfrigérateur à 4°C avant analyses.

Préparation des échantillons**Pré-traitement**

Les échantillons sont homogénéisés et quartés, puis séchés à 105°C+/-5°C selon la norme NF ISO 11 465 de août 1994. Les échantillons sont ensuite tamisés à 2 mm (élimination des végétaux, plastiques, verres, cailloux, etc.) selon la norme NF ISO 11 464 de décembre 1994. Homogénéisation par broyage au broyeur à agate (inférieur à 315 µm).

Mise en solution

Le protocole utilisé est inspiré de la norme NF ISO 14 869-1 de août 2001.

La mise en solution des éléments métalliques est réalisée sur échantillon broyé (prise d'essai de 0,25 g) et calciné à 450°C pendant 3 heures en creuset en porcelaine.

Les cendres sont transférées dans un bécher en PTFE et le creuset est rincé par une faible quantité d'eau ultra pure (environ 5 ml).

Après ajout de 5 ml d'acide fluorhydrique 40 % (HF, Merck Suprapur) et 1,5 ml d'acide perchlorique 70 % (HClO₄, Merck Suprapur max Hg 0,005 ppm).

Laisser évaporer sur bain de sable à 150°C +/-10°C (thermostat 7) jusqu'à l'obtention d'un gâteau en fond de bécher (ne pas évaporer à sec !).

Reprendre le résidu par 1 ml d'acide nitrique 65 % (HNO₃, Merck Suprapur max Hg 0,005 ppm) et 5 ml d'eau ultra pure puis réchauffer quelques minutes sur le bain de sable pour redissoudre le résidu.

Filtrer sur papier Whatman 2V et ajuster au trait de jauge à 50 ml avec de l'eau ultra pure.

Analyses

L'analyse des métaux est faite en ICP/AES (Al, As, Cd, Cr, Cu, Pb, Zn, Ni).

Le spectromètre d'émission atomique avec plasma couplé par induction est un Tracescan séquentielle à torche axiale (Thermo Jarrell Ash).

La limite de quantification des polluants dans le sol (en mg.kg⁻¹ matière sèche) pour la méthode utilisée est :

Al	As	Cd	Cr	Cu	Ni	Pb	Zn
0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	1	0,4

Détermination des teneurs en métaux lourds (plomb, cadmium et zinc) dans les sols des potagers et des pelouses du lotissement du Grand marais, Commune d'Auby

F. Douay, H. Fourier, 2003

Détermination des teneurs en métaux des sols de potagers et de pelouses d'un lotissement jouxtant un bassin de stockage de boues de curage d'une gare d'eau (Courcelles les Lens)

Mode de prélèvement

Sur potager

Echantillonnage des sols à la tarière hélicoïdale (diamètre 60 mm) entre 0 et 25 cm. Cette couche correspond à la couche périodiquement homogénéisée par les pratiques culturales (bêchage).
12 prélèvements aléatoires à partir desquels a été constitué un échantillon composite moyen.

Sur pelouse

Echantillonnage de la couche supérieure 0-2 cm (pour mesure d'un éventuel gradient de contamination) ; constitution d'un échantillon composite à partir de 5 prélèvements par mélange à poids égal.

Analyse du sol complétée par l'analyse du mâts racinaire : couche constituée par l'accumulation de débris organiques associés au chevelu racinaire, et pour une part généralement faible à une fraction minérale. Réalisation de 5 prélèvements aléatoires répartis sur la pelouse et constitution d'un échantillon composite moyen destiné à être analysé.
Prélèvement sur une motte de faible épaisseur extraite au moyen d'une bêche.

Echantillonnage du sol sur la couche 0-25 cm : réalisation à la tarière hélicoïdale, à proximité des mottes extraites à la bêche, de 5 prélèvements élémentaires pour constitution d'un échantillon composite.

Préparation des échantillons

Mâts racinaires : élimination des débris végétaux vivants (gainés des herbes et racines) et la fraction minérale piégée entre les fibres végétales mortes et vivantes.

Séparation des échantillons en deux lots :

- L'un analysé tel quel, sans préparation supplémentaire,
- L'autre, analysé après lavage abondant à l'eau du robinet afin d'éliminer les poussières déposées.

Cette distinction permet d'estimer la part des métaux présents sur les débris de végétaux et donc potentiellement transférables vers les utilisateurs des pelouses.

Analyses

Sur échantillons de terres et de mâts racinaires : mesures des teneurs totales en Cd, Pb et Zn. Pour les mâts racinaires, lavés et non lavés, les résultats sont exprimés par rapport au poids frais et au poids sec.
Détermination analytique au laboratoire d'Analyses des Sols de l'INRA d'Arras (appareil utilisé non précisé).

ETM sur SOLS- Fiche 3

Caractérisation physico-chimique des produits de l'assainissement pluvial. Origine et devenir des métaux traces et des polluants organiques.**Thèse de doctorat de C. Durand, 2003**

*Caractérisation globale et fine de la matière organique et minérale de sédiments de bassins de retenue et de produits de balayage par différentes méthodes physiques et chimiques. Notamment pour les éléments traces métalliques, détermination de la **quantité totale** : Pb, Cu, Cd, Zn, Ni, Cr, Pd, Pt.*

Mode de prélèvement

Les échantillons sont prélevés à l'aide d'une benne ou à la pelle inoxydable, puis conservés au réfrigérateur (4°C).

Préparation des échantillons**Pré-traitement**

Les échantillons sont homogénéisés, tamisés à 2 mm (élimination de brindilles, végétaux, plastiques, etc.), puis lyophilisés selon la norme NF ISO 11 464 de décembre 1994 (lyophilisateur alimenté par une pompe pendant 48 heures).

Les échantillons secs sont conservés au réfrigérateur avant analyses.

Mise en solution

Le protocole utilisé pour la pesée (détermination du taux d'humidité), la calcination (suppression des matières volatiles, 450°C pendant 3 h) et l'attaque acide des échantillons est inspiré de la norme NF X 31-147 de juillet 1996.

La mise en solution des éléments métalliques est réalisée sur échantillon broyé, à partir de 10 ml d'acide fluorhydrique 40 % (HF, Merck Suprapur) et 3 ml d'acide perchlorique 70 % (HClO₄, Merck Suprapur).

Laisser évaporer à sec sur une plaque chauffante à 160°C, et récupérer le résidu par 1 ml d'acide nitrique 65 % (HNO₃, Merck Suprapur). Rajouter 10 ml d'eau ultra pure en laissant 30 min de contact à froid. Placer 1 h sur plaque chauffante à 60°C pour dissolution à chaud du résidu. Transférer le mélange obtenu dans une fiole de 100 ml par filtration sur papier Whatman n°41 et ajuster au trait de jauge avec de l'eau ultra pure.

La reprise du résidu se fait par HNO₃ car les matrices chlorhydriques sont déconseillées en SAA.

Analyses

L'analyse des métaux est faite en ICP/AES (Pb, Cu, Zn, Ni, Cr) ou au SAA (Cd).

Le spectromètre d'émission atomique avec plasma couplé par induction est un Varian Liberty 220. Cette méthode est moins sensible que la SAA mais elle est appréciée pour sa rapidité (quelques dizaines d'éléments par minute en ICP contre un élément toutes les 7 min en SAA).

Le SAA est un Varian Spectra 300 équipé d'un correcteur de fond (lampe au deutérium).

Les teneurs en Pt (platine) et Pd (palladium) sont mesurées par ICP/MS après minéralisation des sédiments secs dans HF/HClO₄/HNO₃ et reprise du résidu par HNO₃/HCl puis une deuxième attaque du résidu restant est réalisée à la soude en creuset de carbone (méthode BRGM).

Les limites de quantification pour Pt et Pd sont inférieures à 0,05 µg/g dans le cadre d'une analyse en infra traces.

Teneurs en Pb, Cd et Zn dans des blés et maïs cultivés aux alentours des usines métallurgiques de Noyelle-Godault et d'Auby. Comparaison avec les caractéristiques physico-chimiques des sols, leur degré de contamination et la spéciation des polluants métalliques

F. Douay, C. Pruvot, M. François, 2002

Etude menée sur deux productions agricoles : le blé (grain et paille) et le maïs (grain et fourrager).

Mode de prélèvement

Prélèvements de terre réalisés dans l'horizon labouré, au pied des végétaux échantillonnés (cf. fiche correspondante sur les végétaux).

Préparation des échantillons

Séchage des échantillons de sol à une température inférieure à 40°C, broyage et tamisage à 2 mm. Une partie représentative est broyée à 0,315 mm pour la mise en solution totale.

Analyses

Paramètres agronomiques (*non repris dans cette fiche*) : analyse granulométrique, pH eau, C/N, teneur en matière organique, P₂O₅, K₂O, MgO.

Détermination des teneurs en métaux :

Concentrations totales :

Mise en solution totale selon la norme NF X 31-151 par mélange d'acide fluorhydrique (HF) et perchlorique (HClO₄) et dosage des métaux par spectrométrie d'absorption atomique avec atomisation électrothermique (avec correction de fond par effet Zeeman) pour le dosage du plomb et du cadmium, et par spectrométrie d'absorption en flamme pour le zinc.

Utilisation de deux séries d'extraction séquentielle :

Série 1 : selon protocole établi par le « MTP » de l'Union Européenne (cf. I.2.3.a), utilisation d'une gamme de 4 extractants de force croissante :

- acide acétique (0,11 mol/l),
- mélange d'hydrochloride d'hydroxylamine (86,87 g/l) et d'acide nitrique (2 mol/l),
- peroxyde d'hydrogène (8,8 mol/l),
- acétate d'ammonium (1 mol/l).

Quatre fractions sont ainsi distinguées :

- fraction correspondant à la fraction échangeable et/ou liée aux carbonates (acido-soluble),
- fraction liée aux oxydes et aux hydroxydes de fer et de manganèse,
- fraction liées aux matières organiques et aux sulfures,
- fraction résiduelle.

Série 2 : réalisée en parallèle avec des solutions de moindre force (eau distillée et acide acétique dilué) afin de distinguer la fraction échangeable de la fraction acido-soluble. :

35 ml d'eau distillée sont ajoutés à 3,5 g de terre, agitation du mélange pendant 16 h à 25°C, puis centrifugation pendant 20 min à 4500 trs/min. Filtration du surnageant à 0,45 µm et acidification à HNO₃ avant analyse.

Ajout de 35 ml d'acide acétique (0,11 mol/l) au culot, agitation du mélange pendant 16 h à 25°C, puis centrifugation pendant 20 min à 4500 trs/min. Filtration du surnageant à 0,45 µm.

Détermination analytique au laboratoire d'Analyses des Sols de l'INRA d'Arras (appareil utilisé non précisé).

Les résultats obtenus ont été exprimés en pourcentage de la teneur totale des différents échantillons de terre.

Etude de la contamination métallique (Cd, Pb, Zn) du sol de surface et des végétaux de l'environnement de proximité d'une autoroute.

Thèse de doctorat de S. Promeyrat, 2001 - Chapitre 5

Réalisation de plusieurs campagnes de mesure sur différents sites pour déterminer conjointement les teneurs en ETM dans les sols et les végétaux et les facteurs contribuant à la propagation de la contamination.

Ne sont mentionnés ici que les protocoles de prélèvement et analyse des sols, sans mention de la stratégie ayant conduit à la détermination des différentes campagnes réalisées, ni des protocoles concernant les prélèvements de végétaux qui sont identiques à ceux du chapitre 4.

Mode de prélèvement

Les sols sont échantillonnés sur une profondeur de 0-10 cm. Au niveau de chaque point, un échantillon moyen est réalisé à partir de 5 prélèvements élémentaires. L'échantillon est ensuite placé dans un sac plastique dûment identifié.

Préparation des échantillons

Minéralisation à chaud

Les échantillons sont minéralisés par digestion acide à l'eau régale. Chaque échantillon fait l'objet de 3 prises d'essai de $0,5 \text{ g} \pm 5 \text{ mg}$. Chaque prise est placée dans un erlenmeyer en verre où elle reçoit 2-3 ml d'eau déminéralisée, 7,5 ml d'acide chlorhydrique (38 %, Normapur) et 2,5 ml d'acide nitrique (65 %, Normapur). Le mélange est fermé hermétiquement et laissé à température ambiante pendant 12 h. Le minéralisat est ensuite concentré par ébullition pendant 2 h. Après refroidissement, le volume est ajusté à 20 ml avec de l'eau déminéralisée.

Des blancs de minéralisation (sans sol) sont préparés simultanément.

Analyses

Le dosage des métaux dans les minéralisats est réalisé par spectrométrie d'absorption atomique en mode flamme (Perkin Elmer 2380) ou en four (Varian Spectra A 300/400) selon les teneurs. La limite de détection des polluants dans le sol (en mg.kg⁻¹ matière sèche) selon la méthode utilisée est :

	SAA Flamme	SAA Four
Cd	0,4	0,004
Pb	1,2	0,06
Zn	0,4	0,004

ETM sur SOLS - Fiche 6

Phyto-réhabilitation des sols pollués par des éléments métalliques : facteurs et mécanismes de prélèvement dans les sols et d'accumulation par les espèces métallophytes

Thèse de H. Dahmani-Muller, 2000

Etude du potentiel de phytoextraction des métaux, ie capacité des espèces végétales à prélever les métaux du sol et à les transférer vers leurs parties aériennes.

Une plante au potentiel d'extraction élevé pourra avantageusement être utilisée pour la phytoréhabilitation de sites pollués, sous réserve que ces espèces hyperaccumulatrices aient une forte production de biomasse (afin d'optimiser la phytoextraction).

Site d'une ancienne usine métallurgique.

Partie sur les SOLS :

Mode de prélèvement

Prélèvements à la tarière à main.

Echantillonnage du sol correspondant à chaque zone, sur trois épaisseurs de façon à déterminer un gradient de contamination : 0-5 cm, 5-10 cm et 10-20 cm.

Pour chaque couche : échantillon composite à partir de trois points.

Préparation des échantillons

Séchage à 105°C, tamisage à 2 mm avant analyse.

Ou séchage à 80°C pendant 24 h, broyage à 2 mm.

Analyses

Dosage des métaux Zn, Pb, Cd, et Cu selon la norme NF X 31-147.

Prise d'essai de 0,250 g chauffée progressivement jusqu'à 450°C. Après refroidissement, ajout d'un mélange d'acide fluohydrique (HF) et d'acide perchlorique (HClO₄) au résidu et chauffage jusqu'à évaporation complète. Ajout d'acide chlorhydrique (HCl) et chauffage pour redissolution du résidu. Solution complétée à 50 ml avec eau distillée.

Analyse des concentrations en métaux par SAA à la flamme ou au four selon les teneurs.

**Teneurs en métaux (Pb, Cd et Zn) de végétaux cultivés dans les exploitations agricoles
et les jardins familiaux**

L. Des Ligneris, F. Douay, T. Sterckeman, 1999

Etude des sols et des cultures de 15 jardins localisés autour des usines métallurgiques de Noyelles-Godault et d'Auby. La démarche tente d'évaluer la teneur en métaux de ces récoltes et de rechercher les relations avec le degré de contamination des sols, les pratiques culturales et le lavage des légumes.

Mode de prélèvement

Echantillonnage :

Sol des jardins supposé homogène. Echantillonnage de la terre obtenu à partir du mélange d'une douzaine de prélèvements effectués sur l'horizon de surface, pris au centre des plates-bandes mises en culture.

Prélèvement :

Prélèvements réalisés à l'aide d'une petite pelle à main.

Préparation des échantillons

Les échantillons de sol ont été séchés à une température inférieure à 40°C, broyés et tamisés à 2 mm. Une partie représentative de l'échantillon a été broyée à 0,315 mm pour analyse des métaux (Pb, Zn, Cd).

Analyses

Paramètres agronomiques (*non repris dans cette fiche*) : analyse granulométrique, teneur en carbone organique, pH, teneur en calcaire total, capacité d'échange cationique.

Analyse des concentrations en Pb, Zn et Cd :

Mise en solution :

Mise en solution totale selon la norme NF X 31-151 par mélange d'acide fluorhydrique (HF) et perchlorique (HClO₄).

Dosage :

Dosage des métaux réalisé par spectrométrie d'absorption atomique avec atomisation électrothermique (avec correction de fond par effet Zeeman) pour le dosage du plomb et du cadmium, et par spectrométrie d'absorption en flamme pour le zinc.

ETM sur SOLS- Fiche 8

Etude sur l'émission et le transfert dans les eaux et les sols des éléments traces métalliques et des hydrocarbures en domaine routier.**Thèse de doctorat de C. Pagotto, 1999***Impacts de la pollution routière sur les sols et devenir de ces polluants dans les sols. Notamment pour les éléments traces métalliques, détermination de la **quantité totale** : Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn.***Mode de prélèvement**

Les échantillons sont prélevés à l'aide d'une truelle en acier inoxydable et d'une tarière à main.
 Les profils de sols étudiés sont : 0-2 cm, 2-10 cm, 10-30 cm et profil complet jusqu'à 70 cm (30-50 cm et 50-70 cm).
 Les débris divers (papiers, végétaux...) sont éliminés in situ.
 Les échantillons sont conditionnés en sacs plastiques en polyéthylène.
 3 répliquats ont été réalisés pour obtenir un échantillon moyen.

Préparation des échantillons**Pré-traitement**

Les analyses peuvent être réalisées soit sur échantillons bruts, soit sur des échantillons tamisés à 2 mm (élimination de gravier et débris).
 Les échantillons sont séchés par lyophilisation selon la norme NF ISO 11 464 de décembre 1994 ou séchés à 40°C suivant la norme NF X 31-101 de novembre 1992.
 Les échantillons sont homogénéisés par broyage.

Mise en solution

Le protocole utilisé est une méthode du LCPC par attaque acide.

La mise en solution des éléments métalliques est réalisée sur échantillon broyé puis calciné à 550°C dans une coupelle en téflon. Après ajout de 10 ml d'acide fluorhydrique (HF) et 10 ml d'acide chlorhydrique (HCl) concentrés, évaporation à sec sur plaque chauffante puis reprise par les mêmes quantités d'acides et remise à sec. Le résidu est repris par 2 ml d'acide nitrique 65 % dilué au demi, puis transféré dans une fiole de 100 ml par filtration et ajusté au trait de jauge avec de l'eau.

Le filtre est séché puis calciné à 550°C avant de subir une fusion alcaline à l'hydroxyde de sodium (NaOH) pour dissoudre le résidu.

Pour chaque série, deux essais à blanc et deux essais de référence de sédiment du BCR⁴ (CRM 320) ont été réalisés.

Analyses

L'analyse des métaux est faite en SAA flamme ou en ICP/AES (Cr, Cu, Ni, Pb, Zn) ou en SAA four (Cd).

Le spectromètre d'émission atomique avec plasma couplé par induction est un Varian Liberty 220.

Le SAA flamme/four est un Varian AA 200 ou 300 ou une SAA four Perkin elmer 5000.

Pour certain éléments il a été nécessaire d'utiliser des modificateurs de matrices pour compenser les interférences (phosphate d'ammonium pour le Pb).

⁴ Bureau Communautaire de Référence

II.3. Comparaison des méthodes

II.3.1. Prélèvement

II.3.1.a. Echantillonnage

Lors du prélèvement, chaque laboratoire réalise plusieurs réplicats pour constituer un échantillon moyen afin de garantir une représentativité minimum de l'échantillonnage et de limiter les sources d'erreurs importantes liées à cette première étape [21].

Le tableau 7 présente le nombre de réplicats réalisés pour chacune des méthodologies répertoriées :

Tableau 7 : Nombre de réplicats réalisés lors de l'étape de prélèvement

Fiches 1 et 1bis	Fiche 2	Fiche 3	Fiche 4	Fiche 5	Fiche 6	Fiche 7	Fiche 8
3	12 et 5	?	?	5	3	12	3

Le nombre de réplicats nécessaire à la réalisation de l'échantillon moyen varie entre 3 et 12 sans qu'aucune référence à la surface à échantillonner ne soit donnée. Aucune indication sur le nombre minimum de réplicats à réaliser par unité de surface n'est mentionnée.

Il est certain qu'un nombre d'autant plus élevé de prélèvements minimisera, en partie, l'erreur due à l'échantillonnage ; les contraintes peuvent être ensuite d'ordre pratiques et/ou économiques.

Les prélèvements de surface inférieurs à 2 cm (0-2 cm) sont réalisés de la même manière, à la pelle ou à la bêche. Par contre pour les horizons plus profonds, la tarière est toujours privilégiée.

Les profondeurs étudiées varient légèrement d'un laboratoire à l'autre (cf. tableau 8).

Tableau 8 : Profondeur des profils étudiés dans les fiches répertoriées

	Fiche1 1bis	Fiche2	Fiche3	Fiche4	Fiche5	Fiche6	Fiche7	Fiche8
Prélèvement de surface (en cm)	Sans objet	0-2, bêche	?	Sans objet	Sans objet	Sans objet	Surface, pelle	0-2, truelle
Profondeur des profils (en cm)	0-10 ou 0-20 et 20-40	0-25	Sans objet	0-20 ?	0-10	0-5 5-10 10-20	Sans objet	2-10 10-30 30-50 50-70

Si le découpage des profils est fonction du gradient de pollution recherché, la couche 0-20 cm revient systématiquement dans la plupart des études. Celle-ci correspond en effet à la profondeur maximale atteinte par la plupart des éléments traces métalliques [26] même si les

plus mobiles (cadmium, zinc) peuvent être détectés jusqu'à 40 à 50 cm dans certains types de sol.

Par ailleurs, cette couche correspond également à l'épaisseur de labourage ou de bêchage dans le cas de cultures intensives ou de jardin familiaux.

La couche de surface est davantage étudiée pour déterminer la teneur en ETM d'origine particulaire déposés au gré des vents.

II.3.1.b. Conservation des échantillons

Les échantillons peuvent être conditionnés en flacon en verre ou en sac plastique même si le plastique apparaît comme le meilleur moyen d'éviter l'adsorption et la désorption des éléments métalliques sur les parois du récipient.

Si des analyses de composés organiques (HAP) doivent être réalisées sur ces mêmes échantillons, le conditionnement en verre présente l'avantage de limiter la multiplication des flaconnages.

La conservation au réfrigérateur à une température inférieure à 4°C permet de limiter la fermentation de matières organiques, toujours présentes dans le sol, dont l'influence peut venir biaiser les résultats d'analyse.

II.3.2. Préparation des échantillons

II.3.2.a. Pré-traitement

Tamissage

Deux types de méthode sont employés pour traiter les échantillons après homogénéisation et/ou quartage :

- Tamissage sur échantillon brut
- Tamissage sur échantillon sec

Le tamissage de l'échantillon permet d'éliminer les débris végétaux, les graviers, les cailloux ou toute autre fraction grossière de façon à ne conserver pour l'analyse qu'une partie représentative de la matrice sol. Cette étape est nécessaire compte-tenu de la faible quantité de sol généralement considérée pour l'analyse proprement dite (prise d'essai de laboratoire souvent inférieure à 1 g).

La moitié des protocoles recensés utilise le tamissage à sec à 2 mm contre un quart celui à 2 mm sur échantillon brut. Le tableau 9 présente les différences et les points communs observés pour chacune des deux méthodes.

Concernant le suite des manipulations, soit le protocole n'est pas précisé, soit la pratique de traitement de l'échantillon est particulière à l'étude : analyse sur échantillon brut, lavage, etc.

Les différences de pratiques relevées dans cette étape de préparation des échantillons peut être à l'origine de variations dans les teneurs en polluants obtenues à l'issue des analyses.

Tableau 9 : Caractéristiques du mode de tamisage utilisé

	Fiche 1 et 1bis	Fiche 2	Fiche 3	Fiche 4	Fiche 5	Fiche 6	Fiche 7	Fiche 8
Tamisage sur échantillon brut			X					X
Tamisage sur échantillon sec	X			X		X	X	
Maille du tamis en mm	2		2	2		2	2	2
Point particulier		X			X	?		X

Séchage

L'étape de séchage est toujours réalisée même si les analyses sont effectuées sur matière fraîche car elle est nécessaire à la détermination de la teneur en eau de l'échantillon brut. Il est par ailleurs plus facile de broyer en poudre fine un échantillon sec qu'un échantillon humide.

Bien que cette étape soit référencée dans la norme NF ISO 11 464 de décembre 1994, des disparités ou des imprécisions sont observées sur la technique et les températures de séchage dans les différents protocoles recensés (tableau 10).

Tableau 10 : Caractéristiques du mode de séchage utilisé

	Fiche 1 et 1bis	Fiche 2	Fiche 3	Fiche 4	Fiche 5	Fiche 6	Fiche 7	Fiche 8
Température de séchage (en °C)	105	? sur brut et sur sec		< 40	? sur brut	105 ou 80	< 40	40
Etuve	X			?		X	?	X
Lyophilisateur			X					X
A l'air				X			X	

Le séchage à une température inférieure à 40°C est recommandé dans la norme précédemment citée, soit à l'air, soit dans une étuve ventilée, mais la lyophilisation présente l'avantage d'éviter l'agglomération en motte de l'échantillon ce qui facilite l'étape suivante de tamisage. Le séchage à basse température et la lyophilisation permettent d'éviter la perte des éléments les plus volatils comme le mercure avant l'étape de mise en solution.

Le séchage à 105°C est, lui, recommandé pour effectuer la détermination de la teneur en eau suivant la norme NF ISO 11 465 de août 1994 mais doit être utilisé avec précaution sous réserve de perdre une partie des éléments métalliques à analyser.

Broyage

L'homogénéisation, étape indispensable à l'obtention d'un échantillon d'analyse, est réalisée par broyage. La réduction de l'échantillon en poudre fine permet également, par augmentation de la surface spécifique de l'échantillon, de favoriser la mise en solution des métaux lors du contact entre le sol et les réactifs.

Parmi les protocoles recensés (tableau 11), les différences résident davantage dans le manque de précisions de la technique utilisée que dans la diversité des méthodes et de la granulométrie finale de l'échantillon. De façon générale, la majorité des laboratoires utilisé le broyage en poudre fine inférieure à 315 µm.

Tableau 11 : Caractéristiques du broyage

	Fiche 1 et 1bis	Fiche 2	Fiche 3	Fiche 4	Fiche 5	Fiche 6	Fiche 7	Fiche 8
Broyeur	Agate	?	?	?	?	?	?	?
Taille du tamis (en µm)	< 315	?	?	<315	?	2000	<315	?

II.3.2.b. Mise en solution

L'étape de minéralisation des échantillon permettant la mise en solution des éléments traces métalliques est essentielle compte-tenu du fait que l'analyse fine en laboratoire ne peut être effectuée que sur des liquides.

Les possibilités de variation des méthodes utilisées à cette étape du processus d'analyse sont importantes car de nombreux paramètres entrent en considération : masse de prise d'essai, type et volume de réactifs, chauffage, etc. L'optimisation de ces paramètres est recherchée par les laboratoires afin d'obtenir le rendement d'extraction maximum sans perdre de polluants au cours de la minéralisation.

Les protocoles utilisés sont soit dérivés de normes (NF ISO 11 466 de juin 1995, NF X 31-147 de juillet 1996, et NF X 31-151 de juin 1993), soit de pratiques éprouvées avec éventuellement des variantes à l'intérieur même de chaque laboratoire.

Rapport volume de réactif / masse de sol

La prise d'essai conditionne la répétabilité et la reproductibilité de l'analyse. En effet, plus elle est petite, plus les erreurs risquent d'être importantes et la teneur en ETM à détecter trop faible pour être détectée. D'un autre côté, plus la prise d'essai est grande, plus les interférences sont nombreuses et les risques d'erreurs également importants.

Il est possible de jouer directement sur la masse de l'échantillon ainsi que sur le volume final de la solution (par augmentation ou diminution du volume de réactifs utilisés). Le tableau 12 présente le rapport volume de réactif / masse d'échantillon utilisé dans les méthodes recensées.

Tableau 12 : Rapport volume de réactifs/masse de sol utilisé pour la mise en solution des ETM

	Fiche 1	Fiche 1bis	Fiche 2	Fiche 3	Fiche 4	Fiche 5	Fiche 6	Fiche 7	Fiche 8
Rapport volume/masse (ml/g)	100/0,5	50/0,25	?	100/0,5	50/0,25	20/0,5	50/0,25	50/0,25	100/ ?
Coefficient	200	200	?	200	200	40	200	200	?

Quelle que soit la méthode utilisée le rapport volume/masse est toujours de 200 (pour six fiches sur huit). Un des protocoles recensés concentre davantage le minéralisat en ne jaugeant l'extrait que dans 20 ml (coefficient de 40). Pour les autres, la prise d'essai et/ou le volume n'ont pas été précisé(s).

Remarque :

Dans le cas des extractions séquentielles, les résultats sont exprimés pour chaque fraction en pourcentage de la teneur totale. Le rapport volume/masse est de 10 (35 ml de solution d'extraction pour 3,5 g de sol).

Minéralisation

a- Calcination

L'étape de calcination permet d'éliminer les matières organiques présentes dans le sol et constitue une pré-minéralisation de l'échantillon, favorisant la mise en solution des éléments traces métalliques.

Cependant, comme lors du séchage, une température excessive peut entraîner la perte de certains ETM volatils.

La calcination lorsqu'elle est utilisée provient en général directement du protocole proposé par la norme utilisée (tableau 13).

Tableau 13 : Caractéristiques de l'étape de calcination

	Fiche 1	Fiche 1bis	Fiche 2	Fiche 3	Fiche 4	Fiche 5	Fiche 6	Fiche 7	Fiche 8
Température de calcination (en °C)	/	450°C	?	450°C	450°C	/	450°C	450°C	550°C
Temps (en heure)	/	3	?	3	3	/	3	3	?

Près de trois quart des méthodes recensées calcinent l'échantillon (avant la mise en solution) par attaques acides. La température de référence est de 450°C, la montée en température est progressive, et la durée de calcination est de 3 heures.

Cette étape est indispensable pour les laboratoires qui réalisent la mise en solution totale par acide fluorhydrique, elle n'est en revanche pas nécessaire pour la mise en solution à l'eau régale.

b- Réactifs

La mise en solution totale des ETM nécessite l'utilisation d'acides forts concentrés comme l'acide chlorhydrique, l'acide nitrique, l'acide fluorhydrique, etc. Ces acides permettent de « désagréger » les liaisons chimiques des constituants du sol et solubilisent ainsi les éléments sous forme ionique « libre » qui deviennent alors facilement dosables par les techniques analytiques classiques.

Ces acides forts sont souvent utilisés en mélange, ce qui augmente encore leur pouvoir solubilisant. Cependant, il est important de souligner que malgré le terme de mise en solution « totale », l'attaque réalisée par ces acides n'est jamais complète puisque le rendement d'extraction de 100 % n'est pas atteint pour tous les métaux.

En effet chaque métal lié dans la matrice l'est plus ou moins fortement (selon les mécanismes de rétention mis en jeu) ; à titre d'exemple, citons les silicates d'alumine insolubles dans l'eau régale qui précipitent sous forme de gel empêchant ainsi l'extraction de l'aluminium à 100 %.

En règle générale, il reste toujours un résidu d'attaque que l'on piège par filtration, plus ou moins important. Pour parfaire l'analyse, il est possible de remettre en solution ce résidu par calcination du filtre et fusion alcaline, et de quantifier les traces d'ETM encore présentes dans ce résidu. L'inconvénient de la fusion est qu'elle est réalisée à haute température (1100°C) et qu'elle entraîne là encore la perte des éléments « volatils ».

Comme précédemment les différentes méthodes de mise en solution sont basées sur les protocoles des normes NF ISO 11 466 de juin 1995, NF X 31-147 de juillet 1996, et NF X 31-151 de juin 1993. Tous les acides utilisés sont soit purs, soit au maximum de la concentration à laquelle il est possible de les trouver dans l'eau (exemple de 65% pour l'acide nitrique). Les volumes ajoutés sont fonction de la prise d'essai mais en général la concentration en acide de la solution finale ne dépassent pas 10%.

Le tableau 14 présente les différents mélanges d'acides utilisés et les rapport masse/volume en fonction de la prise d'essai ainsi que la concentration finale en acide dans l'échantillon (même si la teneur en acide n'est pas celle utilisée pour l'attaque, notamment après mise à sec). Il indique également si le laboratoire réalise la fusion du résidu d'attaque ou non (lorsque ceci est mentionné dans le protocole).

Tableau 14 : Types et volumes de réactifs utilisés pour la mise en solution des ETM

	Fiche 1	Fiche 1bis	Fiche 2	Fiche 3	Fiche 4	Fiche 5	Fiche 6	Fiche 7	Fiche 8
Mélange acide/acide	HCl/HNO ₃	HF/HClO ₄	?	HF/HClO ₄	HF/HClO ₄	HCl/HNO ₃	HF/HClO ₄	HF/HClO ₄	HF/HCl
Rapport masse/volume PE/acide/acide en g/ml/ml	0,5/7,5/2,5	0,25/5/1,5	?	0,5/10/3	0,25/5/1,5	0,5/7,5/2,5	0,25/5/1,5	0,25/5/1,5	?/10/10
Type et concentration finale de l'acide en %	Eau régale 10%	Acide nitrique 2%	?	Acide nitrique 2%	Acide nitrique 2%	Eau régale 50%	Acide nitrique 2%	Acide nitrique 2%	Acide nitrique 2%
Fusion alcaline du résidu	Sans objet	Non	?	Non précisé	Non précisé	Sans objet	Non précisé	Non précisé	Oui

PE : prise d'essai

La plupart des méthodes recensées utilisent la mise en solution par mélange acide fluorhydrique/acide perchlorique (HF/HClO₄). Par contre, il apparaît qu'aucune fusion alcaline n'est réalisée sur le résidu.

L'attaque à l'eau régale ne représente qu'un quart des méthodes de mise en solution. Un seul autre laboratoire utilise un mélange acide fluorhydrique/acide chlorhydrique (HF/HCl) avec fusion alcaline du résidu qui se rapproche de l'attaque à l'acide fluorhydrique classique.

Une variante de ce protocole « HF » est également utilisé pour solubiliser de façon plus spécifique le platine et le palladium (méthode BRGM pour la fiche 3).

A l'exception d'une des méthodes répertoriées, les rapports masse/volume sont identiques et la concentration finale en acide est de 2% pour l'attaque à l'acide fluorhydrique et de 10% pour l'eau régale.

c- Digestion

Avant l'étape d'analyse, la mise en solution des sols au contact des acides est accélérée par une étape supplémentaire de « digestion ». Comme précédemment, les différentes méthodes de digestion sont basées sur les protocoles des normes NF ISO 11 466 de juin 1995, NF X 31-147 de juillet 1996, et NF X 31-151 de juin 1993.

Cette étape est très importante car elle conditionne en grande partie le rendement d'extraction des ETM du sol. En effet, sans la digestion, le simple contact des acides ne suffirait pas pour « dissoudre » les sols. Il faut également que cette étape soit répétable et reproductible d'une analyse à l'autre.

Plusieurs modes de mise en solution sont possibles : à chaud, à froid, en système ouvert, en système fermé et/ou combiné. Parmi les méthodes recensées, deux modes principaux de digestion sont distingués :

- la mise à sec en « système ouvert » après attaque HF (HF/HClO₄),
- le chauffage en « système fermé » après attaque à l'eau régale (HCl/HNO₃)

A priori le système fermé est recommandé pour éviter la perte d'éléments volatils. Néanmoins, la température de mise à sec ne dépasse pas 200°C ce qui est trop faible par rapport à la température de calcination réalisée au préalable. Pour le chauffage en système fermé, deux matériels sont utilisables :

1. le four à micro-ondes,
2. le système par chauffage à reflux, pour lequel un contact à froid de 12 heures est nécessaire avant le chauffage.

Le temps de digestion par micro-onde est très rapide puisqu'il ne prend que quelques minutes alors que les autres « systèmes » de mise en solution nécessitent plusieurs heures de contact. Pour le four à micro-ondes, il est important de noter qu'il existe des appareils à bombes fermées, mais aussi des appareils ouverts.

L'attaque HF favorise la mise en solution des ETM par dissolution des silicates d'alumine et volatilisation de la silice. Le rendement d'extraction est donc beaucoup plus important pour l'aluminium compte tenu de sa teneur importante dans les sols, cependant, pour les autres métaux, la performance est équivalente voire légèrement meilleure pour l'attaque à l'eau régale au micro-onde. Les méthodes avec micro-ondes extraient globalement davantage que le chauffage à reflux. D'après Proix *et al.* (2004) [27], le micro-onde ouvert n'extrait cependant jamais plus de 11 % que la méthode à reflux. Par contre le micro-onde en bombe fermée

montre des écarts plus fort pour Cd, Cr et Ni que la méthode à reflux. Enfin la méthode en bombe fermée extrait sensiblement plus de Cd, Cr que la méthode à bombe ouverte [27].

Parmi les fiches répertoriées, six protocoles sur 9 utilisent des mises à sec, un protocole utilise le micro-onde et un protocole utilise le système par reflux (tableau 15). Quelle que soit la méthode, avant analyse, les minéralisats sont filtrés puis jaugés.

Tableau 15 : Systèmes de digestion utilisés

	Attaque HF	Attaque eau régale
Système	Ouvert	Fermé
Mode	Mise à sec	Chauffage
Moyen	Bain de sable, plaque chauffante	Micro-onde système à reflux
Temps de digestion	Environ 3 heures	Micro-onde 15 minutes Reflux 12 heures à froid+2 heures à chaud

II.3.3. Analyse

II.3.3.a. Appareils analytiques utilisés

Parmi les protocoles recensés, l'analyse des ETM est toujours réalisée sur solution liquide acidifiée, soit par ICP, soit par SAA (cf. partie II, I.2, et annexe 1) (tableau 16).

La méthode par ICP/MS, plus sensible mais également plus coûteuse, n'est pas utilisée pour le dosage des ETM dans les sols, pour lequel la précision de l'ICP/AES suffit, sauf pour le dosage du platine et du palladium en infra traces (fiche 3).

Tableau 16 : Matériel analytique utilisé pour le dosage des ETM

	Fiche 1 et 1bis	Fiche 2	Fiche 3	Fiche 4	Fiche 5	Fiche 6	Fiche 7	Fiche 8
ICP/AES	X	?	X					X
SAA four ou SAA flamme		?	X	X	X	X	X	X

La technique de dosage par SAA flamme ou four est la plus répandue : 6 laboratoires sur 9 l'utilisent. Bien quelle soit plus lente que l'ICP, cette méthode est en effet souvent appréciée pour la performance de son système d'atomisation et de correction du bruit de fond (SAA four par correction de fond par effet Zeeman) qui associe sensibilité et qualité du signal

La méthode analytique varie également selon le métal et la concentration à déterminer. Les métaux le plus couramment dosés sont le cadmium, le plomb et le zinc, classiquement analysés dans le cas d'étude d'impact de projets routiers. Les autres métaux y compris ceux-ci sont plus souvent recherchés dans le cas d'étude de sols de type friche industrielle.

Il est fait mention dans plusieurs fiches de l'utilisation de la SAA four ou flamme en fonction des teneurs en métaux dans l'échantillon mais sans précision du type de métal. Dans ce cas nous considérons ici que l'analyse peut être faite des deux façons.

Pour la fiche 2 l'appareil utilisé pour réaliser le dosage du cadmium, du plomb et du zinc n'a pas été mentionné.

Tableau 17 : Choix de la méthode d'analyse par type de métal

Métal	ICP/AES	ICP MS	SAA flamme	SAA four
Al	X			
As	X			
Cd	X		X?-X-X	X?-X-X-X-X-X
Cr	X-X-X		X	
Cu	X-X-X		X	
Ni	X-X-X		X	
Pd		X		
Pb	X-X-X		X-X-X	X-X-X-X
Pt		X		
Zn	X-X-X		X-X-X-X-X	X-X
Fiche	1et 1bis-3-8	3	3-4-5-6-7-8	3-4-5-6-7-8

La technique privilégiée pour le cadmium et le plomb (tableau 17) est la SAA four car elle est bien adaptée dans le cas de concentrations faibles en présence de bruit de fond. L'utilisation de la flamme pour ces mêmes métaux ne sera valable que pour de très fortes teneurs.

A contrario la technique en flamme paraît suffisante pour le zinc compte tenu de sa présence en plus forte quantité dans les sols en bordure d'infrastructures routières.

Le dosage par ICP peut être apprécié pour sa rapidité, notamment pour le zinc, mais au détriment de la sensibilité pour le cadmium et le plomb.

Enfin, comme précédemment, le platine et le palladium apparaissent comme deux métaux à rechercher de façon plus spécifique notamment par une analyse en traces par ICP/MS.

II.3.3.b. Limites de quantification

La limite de quantification (cf. glossaire) est donnée en fonction de l'appareil et du métal analysé. Cette valeur est également liée aux paramètres de mise en solution et notamment au rapport volume/masse (volume du jaugé, prise d'essai) cité plus haut, généralement de l'ordre de 200 (100 ml/0,5 g ou 50 ml/0,25 g) quelle que soit la méthode de minéralisation, attaque HF ou attaque à l'eau régale et sauf exception.

Le tableau 18 reprend les protocoles pour lesquels sont mentionnés les seuils de quantification des ETM en mg.kg⁻¹ de matière sèche.

Tableau 18 : Limites de quantification mentionnées dans les protocoles répertoriés

Métal	ICP/AES	ICP/MS	SAA flamme	SAA four
Al	0,4			
As	0,4			
Cd	0,4		0,4	0,004
Cr	0,4			
Cu	0,4			
Ni	0,4			
Pd		0,05		
Pb	1		1,2	0,06
Pt		0,05		
Zn	0,4		0,4	0,004
Fiche	1et 1bis	3	5	5

Seules trois fiches font mention des seuils de quantification ; il est de plus important de noter que pour la fiche 5 le rapport volume/masse n'est pas le même que dans le cas des autres fiches. Pour cette fiche, les minéralisats sont en effet concentrés dans 20 ml ce qui rapporte le coefficient à 40 au lieu de 200.

D'après les valeurs citées et les rapports volume/masse utilisés, la technique SAA en four apparaît 20 fois plus sensible que la technique par ICP pour le cadmium et le zinc mais seulement 3 fois pour le plomb.

L'ICP reste néanmoins beaucoup plus performant que la méthode en flamme : 5 fois plus pour le cadmium et le zinc et 4 fois plus pour le plomb.

Le platine et le palladium paraissent difficilement dosables autrement que par ICP/MS.

II.3.4. Conclusion

A l'étude des différentes méthodes recensées dans ce document, il n'apparaît pas de protocole type pour l'analyse des ETM dans les sols et chaque laboratoire suit un mode opératoire qui lui est propre, plus ou moins adapté de la normalisation lorsqu'elle existe. Le schéma représenté en figure reprend la trame générale des processus suivis et les variantes utilisées.

Les différences sont plus marquées sur les étapes qui précèdent la mise en solution et l'analyse de l'échantillon, et notamment pour l'étape de prélèvement dont les modalités varient fortement d'un laboratoire à l'autre. Même si le protocole de prélèvement doit être adapté à l'objectif de l'étude, ceci ne peut suffire à expliquer les disparités observées dans les fiches. Cette étape décisive lors du processus global puisqu'elle conditionne fortement la valeur et l'interprétation du résultat final mériterait d'être uniformisée [21].

Pour les étapes de préparation et d'analyse des échantillons, les modes opératoires sont plus proches du fait de la normalisation existante et des possibilités de variantes beaucoup plus restreintes compte-tenu des appareils disponibles pour réaliser de telles analyses.

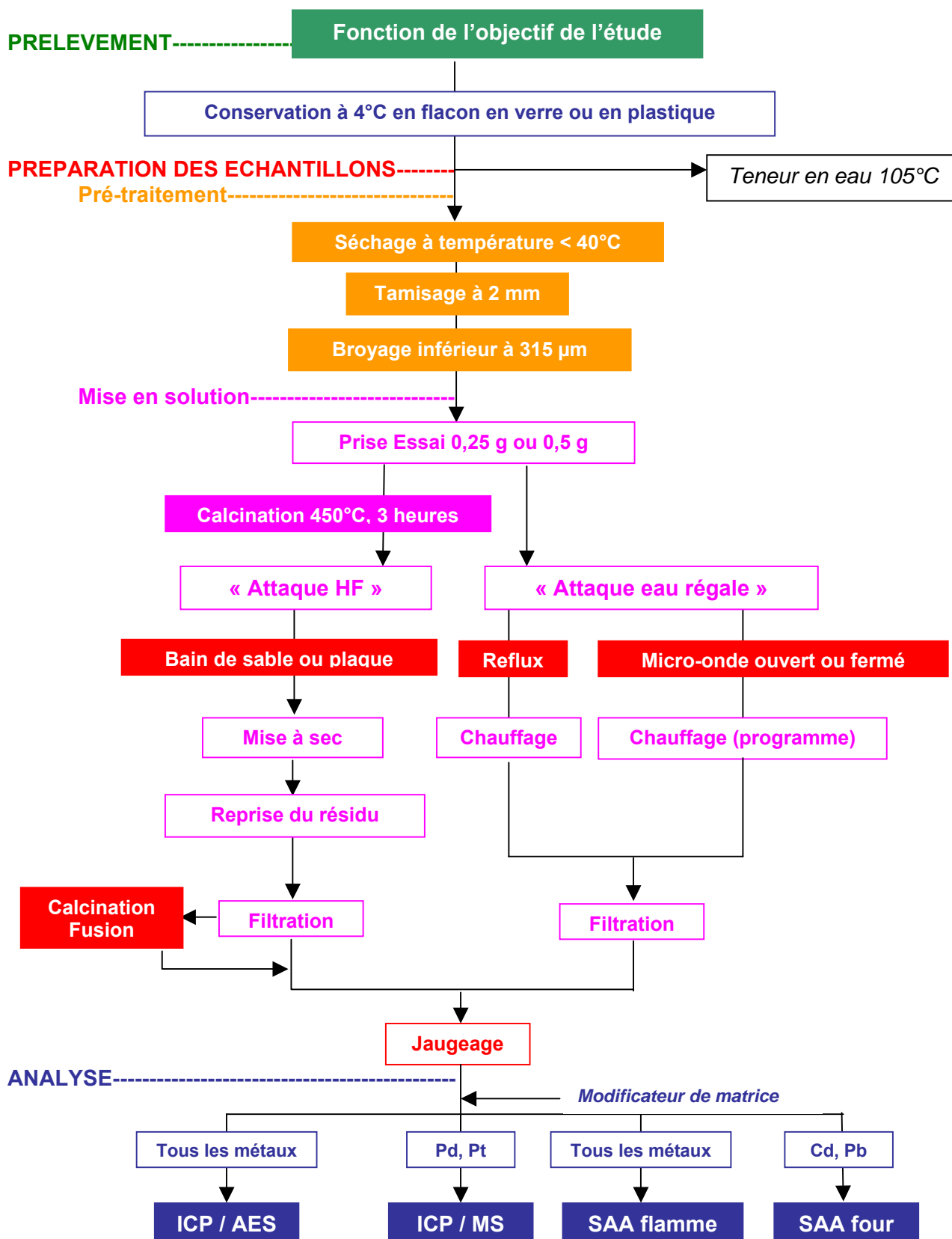


Figure 6 : Représentation du processus d'analyse des ETM sur les sols

III. Dosage des HAP sur les sols : Exemples de protocoles

III.1. Présentation de la méthode

Les exemples de protocoles sont présentés sous forme de fiches techniques. Ils proviennent, dans le cas du dosage des hydrocarbures aromatiques polycycliques dans les sols, de pratiques de laboratoire (fiches 1), d'un rapport de DEA (fiche 3) et d'une thèse de doctorat (fiche 2).

Relativement peu d'exemples ont pu être rassemblés dans cette étude du fait du nombre limités de laboratoires réalisant ce type d'analyse et du refus de certains à répondre à nos sollicitations (ex. Institut Pasteur de Lille).

III.2. Liste des fiches présentées

Fiche 1 : J.F. Petit, 2004, [pratiques de laboratoire d'analyses]
Laboratoire Régional de l'Ouest Parisien, Trappes
Analyse des teneurs en HAP dans les sols
[Pas de profondeur particulière](#)

Fiche 2 : Thèse de doctorat de Cédric Durand, 2003 [12]
Université de Poitiers et Laboratoire Central des Ponts et Chaussées, Nantes
Caractérisation physico-chimique des produits de l'assainissement pluvial. Origine et devenir des métaux traces et des polluants organiques.
[Sédiments de fond de bassins de rétention des eaux pluviales](#)

Fiche 3 : Rapport de DEA de Carine Bryselbout, 1998 [4]
Laboratoire Sols et Environnement ENSAIA – INRA, Nancy
Effets de proximité des autoroutes, cas des émissions d'Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP)
[Sol de surface en bordure d'autoroute](#)

Analyse des Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques dans les sols

Pratiques de laboratoire d'analyses

J.F. Petit, 2004

Analyse de divers types de solides : études d'impact de la pollution routière sur sédiments de bassins de rétention et réseaux d'assainissement, sols de friches industrielles, boues de stations d'épuration.

Mode de prélèvement

Pas de mode opératoire particulier.

Les échantillons sont conditionnés en flacon en verre et conservés à 4°C.

Préparation des échantillons

Cette méthode a été établie à partir des normes NF ISO 13 877 (X 31-417) d'avril 1999 et XP X 33-012 de mars 2000.

Pré-traitement

Quelques grammes de sol sont séchés pendant une nuit au dessus de l'étuve (température inférieure à 40°C). 10 à 20 g de sol sec sont ensuite broyés dans un mortier avec du sulfate de sodium anhydre, et l'ensemble est placé dans une cartouche en cellulose pour extracteur Soxhlet.

Extraction et purification

La cartouche est introduite dans l'extracteur Soxhlet contenant un mélange de 110 ml d'hexane et 110 ml d'acétone. Après 3 à 6 heures de chauffage (le solvant dans la cartouche doit être clair) l'extraction est arrêtée. Le mélange hexane/acétone est évaporé pratiquement à sec (température inférieure à 35°C) puis repris par 10 ml d'hexane aux ultra-sons.

Calciner 2 heures au four à 450-500°C de l'alumine. Après refroidissement désactiver l'alumine avec de l'eau de façon à obtenir une alumine à 12 % d'eau. Homogénéiser puis laisser reposer une nuit. L'alumine se conserve 1 mois en flacon hermétique. 500 à 1000 µl d'extrait sont introduit dans une colonne à purifier contenant 1 centimètre d'alumine à 12 % d'eau et de chaque côté du sulfate de sodium anhydre, puis éluer par 50 ml d'hexane. L'extrait purifié est évaporé pratiquement à sec à l'évaporateur (température inférieure à 35°C) puis repris par 10 ml d'acétonitrile.

Analyses

L'analyse des hydrocarbures aromatiques se fait par chromatographie en phase liquide (HPLC) muni d'un détecteur par fluorescence.

Cette méthode ne permet de doser que 15 HAP car l'acénaphthylène n'est pas fluorescent.

L'appareil est de la marque Waters équipé d'une pré-colonne, d'une colonne HPLC C18 et d'une boucle d'injection de 20 µl.

La gamme détalonnage est enregistrée dans le logiciel en cinq points. Dans le cas d'une série analytique, un point de la gamme et un étalon de contrôle sont également dosés.

La limite de quantification des HAP dans le sol (en mg.kg⁻¹ matière sèche) est de 0,02 pour chacun des 15 HAP.

HAP sur SOLS- Fiche 2***Caractérisation physico-chimique des produits de l'assainissement pluvial. Origine et devenir des métaux traces et des polluants organiques.******Thèse de doctorat de C. Durand, 2003****Caractérisation globale et fine de la matière organique et minérale de sédiments de bassins de retenue et de produits de balayage par différentes méthodes physiques et chimiques. Notamment pour les HAP dans les boues de bassin.***Mode de prélèvement**

Les échantillons sont prélevés à l'aide d'une benne ou à la pelle inoxydable, puis sont aussitôt congelés à -20°C .

Préparation des échantillons**Pré-traitement**

Les échantillons sont séchés à l'aide d'un lyophilisateur (Christ Alpha 1-4) pendant deux phases de 12 heures : un séchage primaire à 1,03 mbar et un séchage secondaire à 0,01 mbar.

Les échantillons secs sont ensuite tamisés à 2 mm puis conservés à -20°C avant leur extraction.

Séparation des différentes formes de matière organique

Extraction selon le protocole recommandé par l'IHSS (Société Internationale des Substances Humiques) des composées lipidiques au Soxhlet pendant 1 semaine par le chloroforme jusqu'à l'obtention d'un produit presque incolore (le solvant est renouvelé tous les 24 heures afin d'éviter les dégradations thermiques).

L'extrait lipidique brut est séparé en fraction neutre, acide et polaire par chromatographie d'affinité sur colonne imprégnée de potasse selon la méthode de MacCarthy et Dutie. L'élution de la fraction neutre (dont font partie les HAP) est effectuée par 125 ml d'éther diéthylique puis 800 ml de chloroforme.

Analyses

Les HAP sont extraits de la fraction neutre au Soxhlet avec comme solvant l'acétone/dichlorométhane puis analysés par chromatographie en phase gazeuse et détection par spectrométrie de masse (GC/MS) suivant la norme EPA 8270.

Les analyses ont été effectuées par le BRGM.

L'appareil est un Varian équipé d'un GC 3400 et d'un spectromètre de masse Saturn 4D.

**Effets de proximité des autoroutes, cas des émissions
d'Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP)**

Rapport de DEA de C. Bryselbout, 1998

Etude bibliographique sur les HAP : présentation de leur forme chimique, leur origine, leur toxicité pour l'homme, leur impact sur les végétaux, les teneurs moyennes rencontrées dans l'environnement, etc. Le lecteur désireux de plus amples informations sur ces composés est invité à consulter le rapport de Mlle Bryselbout.

Etude expérimentale : caractérisation des effets d'une autoroute en matière de pollution des sols, des végétaux et des aérosols en HAP en fonction de la distance à la voie.

Mode de prélèvement

Chaque échantillon de sol est composé de trois prélèvements de 1 kg de terre réalisés à 1 m d'intervalle, dont 500 g de chaque sont séchés et tamisés séparément avant d'être mélangés.

Préparation des échantillons

Préparation et extraction :

Une masse de 100 g d'échantillon est prélevée et broyée pendant 30 secondes au broyeur à billes, puis mélangée à 150 ml de dichlorométhane. Le mélange subit ensuite une sonication⁵ pendant 15 minutes, puis la solution est filtrée sur un filtre en cellulose et collectée dans un ballon à col rodé de 250 ml. Les opérations de sonication sont répétées trois fois.

La solution est ensuite concentrée à moins de 1 ml à l'évaporateur rotatif sous vide (bain-marie à 25°C). Le concentré est transféré dans un pilulier préalablement étiqueté et pesé.

Séparation des fractions d'hydrocarbures saturées et aromatiques :

5 à 10 mg d'extrait séché et pesé sont transférés sur une colonne formée par une pipette pasteur contenant 600 mg de silice et 150 mg de Florisil (TLC, Merck). 3 fois 500 µl de *n*-pentane permettent de récolter la fraction hydrocarbure saturée, puis 3 fois 500 µl de *n*-pentane / dichlorométhane (65/35 v.v) permettent de récolter la fraction hydrocarbure aromatique.

Chaque fraction est collectée dans un pilulier préalablement étiqueté et pesé.

Analyses

Analyse des fractions hydrocarbures aromatiques par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS).

Le chromatographe en phase gazeuse (Varian 3400) est équipé d'un passeur automatique d'échantillons (Varian 8200) et couplé à un spectromètre de masse à trappe ionique (Saturne 2000, Varian). L'injection se fait en tête de colonne où la pression en hélium est de 11,6 psi. La colonne capillaire a une longueur de 30 m, un diamètre interne de 0,25 mm et une épaisseur de phase de 0,25 µm.

Programmation du four : montée en température de 35 à 110°C à 25°C/min, puis de 110 à 300°C à 3°C/min, puis maintien à 300°C pendant 10 minutes. Même programme pour l'injecteur mais reste toujours 3°C au-dessus du four.

Paramètres d'acquisition : impact électronique de 70 eV et balayage de 100 à 300 uma. Injection de 0,8 µl d'échantillon en automatique selon la méthode du sandwich (0,2 µl de dichlorométhane, 0,2 µl d'air, et 0,8 µl d'extrait).

Analyse de standards des 16 HAP à différentes concentrations dans les mêmes conditions afin de calibrer l'appareil et faciliter l'identification des composés contenus dans les échantillons.

⁵ Se reporter au glossaire pour une définition du terme « sonication »

III.3. Comparaison des méthodes

III.3.1. Prélèvement

De façon générale, l'étape de prélèvement fait référence à une norme relative à l'échantillonnage des sols (NF ISO 10 381-2) dont les préconisations de sont pas propres à l'analyse des HAP sur cette matrice.

A l'examen des fiches recensées, aucun protocole particulier ne semble avoir été établi pour cette étape (outils de prélèvements à privilégier, volume à prélever, etc.). La localisation et le mode de prélèvement sont définis en relation avec les objectifs de l'étude ; les laboratoires réalisant l'échantillonnage ensuite avec les moyens dont ils disposent.

Un seul protocole précise que l'échantillon moyen est constitué de 3 répliques de 1 kg.

Les échantillons sont conditionnés en flacon de verre pour éviter toute adsorption des composés organiques, puis conservés au froid à 4°C (fiche 1) ou congelés à -20°C (fiche 2).

La congélation garantit une meilleure conservation de l'échantillon en arrêtant la dégradation microbienne des composés organiques qui pourrait venir biaiser les résultats d'analyses. Néanmoins, la conservation au froid à une température inférieure à 4°C peut être envisagée lorsque l'analyse des échantillons est prévue dans les plus brefs délais (cf. Partie II. 1.2.).

III.3.2. Préparation des échantillons

La méthode de référence présentée par la récente norme NF ISO 14 507 de septembre 2003 relative au pré-traitement des échantillons pour la détermination des contaminants organiques n'est pas citée dans les protocoles recensés.

Les méthodes présentées sont issues de la norme NF ISO 13 877 relative aux sols (avril 1999, dosage des HAP par HPLC), et de celle sur les boues, XP X 33-012 (mars 2000, dosage des HAP et PCB) dont les prescriptions sont spécifiques à la technique de dosage envisagée.

Les pratiques de laboratoires se rapportent également à la norme plus générale de décembre 1994 sur le pré-traitement des échantillons pour analyses physico-chimiques (NF ISO 11 464).

III.3.2.a. Pré-traitement

Tamisage

Deux protocoles utilisent le tamisage, l'un sur échantillon sec, l'autre sur échantillon brut. Le maillage du tamis, uniquement mentionné dans la fiche 2, est le même que celui utilisé pour la préparation des sols en préalable à l'analyse des ETM (2 mm).

Les trois méthodes recensées pratiquent le séchage de l'échantillon avant l'extraction des HAP. Le séchage est effectué à l'air (température inférieure à 40°C) ou à l'aide d'un lyophilisateur.

Séchage

Le séchage à une température inférieure à 40°C est recommandé dans les normes précédemment citées. La lyophilisation présente l'avantage d'éviter l'agglomération en mottes de l'échantillon ce qui facilite l'étape suivante de tamisage. Le séchage à basse température et la lyophilisation permettent d'éviter la perte des éléments semi-volatils.

Broyage

Deux protocoles sur trois réalisent le broyage de l'échantillon (broyeur à bille ou à mortier) dont l'un avec du sulfate de sodium anhydre. Ce composé permet d'absorber l'eau résiduelle de l'échantillon afin d'en garantir l'absence lors de l'extraction de la phase organique. La réduction de l'échantillon en poudre fine peut permettre également d'améliorer le rendement d'extraction des HAP.

III.3.2.b. Séparation des différentes formes de matières organiques et extraction

Séparation des différentes formes de matières organiques

Cette étape permet de séparer les composés organiques de la « matrice » en les solubilisant à l'aide d'un solvant qui, par la suite, pourra être concentré pour faciliter l'analyse des HAP présents à l'état de traces.

Deux des trois protocoles mentionnent une séparation des différentes formes de matières organiques (lipides ou hydrocarbures) avant de réaliser l'extraction et/ou la purification des HAP (tableau 19).

Une prise d'essai relativement importante (de 10 ou 100 g) associée à de faibles volumes de solvant (150 à 250 ml) est utilisée afin d'augmenter la teneur en produits organiques dans les extraits.

Tableau 19 : Méthodes de séparation des matières organiques

	Fiche 2	Fiche 3
Produits organiques à extraire	Lipides (fraction neutre)	Hydrocarbures (aromatiques)
Extracteur	Soxhlet	Ultra-sons
Solvant	Chloroforme	Dichlorométhane
Durée d'extraction	1 semaine	3 fois 15 minutes
Etape suivante	Chromatographie d'affinité sur colonne (élution par l'éther éthylique)	Evaporateur rotatif (concentration)
Produits extraits	Fraction neutre dont HAP	Hydrocarbures dont HAP

Extraction et purification

Cette étape permet de séparer les HAP des autres composés organiques qui pourraient venir interférer lors du dosage.

Deux des trois protocoles recensés sont quasiment identiques, le troisième est plus spécifique (tableau 20).

Tableau 20 : Méthodes d'extraction des HAP utilisées

	Fiche 1	Fiche 2	Fiche 3
Extracteur	Soxhlet	Soxhlet	Chromatographie
Solvant	Acétone/hexane	Acétone/dichlorométhane	N pentane/ dichlorométhane
Étape suivante	Purification	?	/

Les deux premiers protocoles (fiches 1 et 2) ne diffèrent que par le solvant utilisé et éventuellement par l'étape de purification.

Le dernier protocole est pour sa part plus simple car lors de l'étape précédente les hydrocarbures dont font partie les HAP ont déjà été séparés des autres produits organiques.

III.3.3. Analyse

Les extraits contenant les HAP sont analysés de deux façons soit par chromatographie en phase gazeuse avec détection par spectrométrie de masse (GC/MS) soit par chromatographie en phase liquide (HPLC) avec détection par fluorescence (tableau 21).

La première méthode présente l'avantage de pouvoir mesurer les 16 HAP de la liste EPA alors que la deuxième ne permet d'en doser que 15, l'acénaphthylène n'étant pas fluorescent.

Seule la limite de quantification par HPLC a été communiquée.

Tableau 21 : Matériel analytique utilisé pour le dosage des HAP

	Fiche 1	Fiche 2	Fiche 3	Limite de quantification (mg.kg ⁻¹ de MS)
GC/MS		X	X	?
HPLC	X			0,02

III.3.4. Comparaison inter laboratoires complémentaire

Afin de compléter l'examen des protocoles utilisés pour l'analyse des HAP sur les sols, est présentée ci-après une comparaison de méthodes reprise d'une étude menée par le CNRSSP [3] sur 9 laboratoires spécialisés dans l'analyse de polluants organiques.

Cette étude destinée à mieux cibler les étapes du processus analytique des HAP introduisant une erreur significative dans le résultat final, a porté sur un échantillon de sol

faiblement pollué (environ 70 mg/kg pour les 16 HAP), et a concerné les phases d'extraction des polluants et de dosage dans l'extrait.

Chacun des participants au test inter laboratoires a reçu un échantillon de sol homogénéisé et un extrait à analyser, suivant ses propres protocoles. Les conditions précises du test pourront être consultées dans l'article scientifique cité en référence.

Extraction

Pour l'étape d'extraction, les résultats sur la somme des 16 HAP font clairement ressortir la différence entre les trois techniques au Soxhlet, Soxtec et ASE (extraction accélérée par solvant) d'une part et les ultra sons d'autre part. Cette dernière technique, non optimisée, n'a permis d'extraire que 50 % des composés récupérés à l'aide des autres techniques qui, pour ce qui les concerne, ne présentent pas de différences significatives entre elles.

Dosage

La comparaison des deux techniques de dosage utilisées, HPLC/UV-fluorimétrie et GC/MS, n'est pas mauvaise même si la variabilité inter laboratoire semble plus élevée avec la première méthode qu'avec la deuxième. Le même type de résultat a été obtenu, pour la somme des 16 HAP, que ce soit sur l'extrait ou sur l'échantillon de sol.

Par ailleurs, d'après les résultats composé par composé, la reproductibilité des méthodes de dosage ne semble pas être fonction du poids moléculaire du composé analysé.

Le choix d'une technique d'extraction n'apparaît donc pas réellement déterminant (hormis l'utilisation des ultra sons qui reste à améliorer), et au niveau du dosage, les deux méthodes utilisées donnent des concentrations moyennes tout à fait comparables.

La reproductibilité s'est avérée cependant clairement fonction de la concentration mesurée ; une des limites de l'étude se situant justement dans le caractère faiblement pollué du sol analysé.

Cet exemple de comparaison ne porte que sur l'extraction et le dosage. Or, la variabilité des résultats provient le plus souvent des étapes amont de prélèvement de sol, conservation et pré-traitement d'échantillon sur lesquelles malheureusement ne sont disponibles que très peu d'informations.

III.3.5. Conclusion

Contrairement à l'analyse des éléments métalliques dans les sols, relativement peu de laboratoires en France effectuent le dosage des HAP sur cette matrice complexe.

Les techniques utilisées varient selon les habitudes et les pratiques notamment pour la première étape de prélèvement des échantillons de sol.

La normalisation encore récente n'est pas intégrée de façon systématique dans le processus d'analyse si ce n'est pour phases de d'extraction et de dosage des composés proprement dites pour lesquelles les normes relatives à la chromatographie liquide ou gazeuse constituent de précieuses références.

Les méthodes utilisées pour l'extraction et le dosage apparaissent, d'un point de vue quantitatif, équivalentes pour la détermination des teneurs en HAP. Malgré tout l'extraction au soxhlet et le dosage par GC/MS (projet de norme PR NF ISO 18 287) semblent être les techniques plus répandues.

PARTIE III :

Méthodes de dosage sur les végétaux

Partie III : Méthodes de dosage sur les végétaux

I. L'analyse des ETM et HAP sur les végétaux

I.1. Introduction : la biosurveillance végétale

Les informations présentées dans ce paragraphe sont issues de l'ouvrage intitulé Biosurveillance végétale de la qualité de l'air [14].

L'ouvrage présente l'utilisation des végétaux comme outils de surveillance de la pollution atmosphérique. La biosurveillance végétale repose sur la définition préalable de 4 concepts :

- le végétal comme biomarqueur,
- bio-indicateur,
- bio-intégrateur
- et bioaccumulateur.

Les trois premiers concepts qui relèvent essentiellement de processus biologiques, sont des indicateurs de réaction.

Le végétal utilisé en bioaccumulation en revanche sert de matrice pour le dosage des différents polluants (éléments traces métalliques, HAP, pesticides, dioxines, etc.). Cette notion correspond davantage aux indications mentionnées dans la présente étude concernant les protocoles d'analyses des végétaux.

La bioaccumulation

La bioaccumulation est définie comme un phénomène résultant d'un équilibre dynamique entre l'air et la plante, par lequel une substance présente dans l'air s'accumule en surface et/ou pénètre dans le végétal même si elle n'a aucun rôle métabolique, et même si elle est toxique pour ce dernier.

Parmi les quatre méthodes citées ci-dessus, la bioaccumulation est, pour les polluants tels que les ETM et les HAP, la seule réellement utilisable en routine.

Ceci nous permet par conséquent de disposer de protocoles de dosage appliqués à différents types de végétaux :

- végétaux supérieurs,
- bryophytes (ou mousses),
- et lichens (dont nous ne parlerons pas ici, et qui ont des propriétés concernant la bioaccumulation des métaux très proches de celles des bryophytes).

L'utilisation optimale des végétaux comme moyen d'investigation de la pollution atmosphérique concerne les cas où la voie de contamination par le sol est soit nulle, négligeable ou connue. C'est pourquoi les végétaux les plus utilisés pour ces études sont les mousses et les lichens grâce, entre autres, à leur absence de système racinaire.

Les feuilles des arbres sont néanmoins aussi souvent utilisées pour évaluer les dépôts métalliques car la cuticule cireuse chargée négativement des feuilles des plantes agit à la manière d'une résine échangeuse de cations favorisant l'accumulation des ions positifs (Kinnersley *et al.*, 1996, *in* [28]).

De façon générale, l'accumulation des métaux est différentes selon les végétaux considérés et les parties de la plante analysées. Les teneurs en polluants mesurées dans les feuilles récemment sorties sont le plus souvent supérieures à celles détectées dans les tiges et racines [23].

La saison d'échantillonnage influe également sur les concentrations mesurées. Ainsi, la période la plus propice pour le prélèvement de végétaux est la fin du printemps (fin avril – début mai), soit 3 à 4 semaines après la première croissance des feuilles [23].

Nous ne détaillons pas ici les mécanismes qui conduisent les polluants à être retenus en surface ou accumulés à l'intérieur du système végétal. Le lecteur désireux de plus d'information sur le sujet se reportera directement à l'ouvrage cité.

L'objectif est en revanche de préciser les méthodes d'analyse des polluants retenus d'une façon ou d'une autre sur les plantes.

I.2. Méthodes d'analyse des végétaux en laboratoire

I.2.1. Les végétaux supérieurs

Pour ces végétaux, le dosage des éléments métalliques collectés par les organes foliaires peut être effectué :

- Soit dans les dépôts particuliers sur la surface des feuilles, après extraction de ceux-ci par un solvant (généralement du chloroforme). L'élément sera ensuite analysé soit directement dans le milieu d'extraction, soit dans la partie retenue après filtration,
- Soit dans les feuilles entières après séchage et réduction de celles-ci en poudre. L'analyse du polluant recherché s'effectuera après minéralisation (sèche ou humide) pour les éléments inorganiques, et après extraction par des solvants pour les éléments organiques,
- Soit dans les feuilles après élimination des dépôts de surface, et réduction en poudre. Cette méthode sert uniquement à déterminer les quantités de polluants bioaccumulés et qui pourraient avoir un impact physiologique.

I.2.1.a. Informations générales

L'analyse des polluants accumulés sur les végétaux supérieurs peut s'effectuer sur matière fraîche ou à partir de matière séchée. La distinction entre l'accumulation de surface et la quantité accumulée au sein de la feuille ne peut cependant qu'être réalisée sur matière fraîche.

L'analyse des polluants dans les dépôts foliaires permet toujours d'étudier sans trop de problèmes les faibles niveaux de pollution de l'air car les ETM ne sont pas naturellement présents dans les feuilles des végétaux supérieurs. L'analyse sera seulement limitée par le bruit de fond constitué par les dépôts telluriques naturels apportés par le vent sur les feuilles, la présence de micro-organismes, etc.

Pour la pollution organique, si une faible proportion des polluants peut pénétrer dans les feuilles par l'intermédiaire des stomates⁶, la majeure partie est retenue au niveau des surfaces foliaires fortement lipophiles.

Les HAP sont surtout transportés sous forme particulaire (particules de petite taille) et dans ce cas, comme pour la pollution métallique, l'accumulation est d'autant plus grande que le rapport surface/masse est élevé. Le dosage est alors effectué après extraction par solvant des surfaces foliaires et utilisation de méthodes chromatographiques appropriées.

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

I.2.1.b. Exemples de modes opératoires sur 3 types de végétaux utilisés en biosurveillance

Il n'est repris ici que la partie des protocoles qui concerne le prélèvement et la préparation des échantillons, et laissé volontairement de côté l'aspect préparation des végétaux, culture, exposition, etc. essentiellement relatif à l'utilisation du végétal comme outil indicateur.

Fiche technique du chou

Les prélèvements doivent être réalisés après une période sans pluie. Les feuilles de chou (3 ou 4 feuilles par échantillon) sont prélevées sans leur pétiole et leur nervure centrale. Ne pas toucher les feuilles avec les mains, même gantées, pour éviter d'éventuelles contaminations.

Chaque prélèvement est pesé immédiatement (sur le terrain si possible, selon la précision de la balance) afin de déterminer son poids frais, puis placé dans une glacière remplie de glace carbonique.

Fiche technique du ray-grass

Les prélèvements doivent être réalisés après une période sans pluie, sur la partie supérieure des ray-grass à une hauteur de 4-5 cm du pied afin d'éviter la contamination par le sol.

Le chou comme le ray-grass peuvent être utilisés l'un comme l'autre pour l'étude des ETM et des composés organiques :

- pour l'étude des ETM, les échantillons de végétaux sont stockés dans des sacs en papier,
- pour l'étude des composés organiques, les échantillons végétaux sont stockés dans des boîtes en aluminium.

Dans le cas des HAP, les échantillons seront conservés à 0°C avec des glaçons. Pour les ETM, les prélèvements pourront être soit séchés à l'étuve à 40-50°C pendant 4-5 jours et conservés dans un endroit sec avant leur analyse, soit conservés tels quels au congélateur à -70°C avant leur traitement.

⁶ Organe microscopique de l'épiderme des feuilles des végétaux vasculaires, percé d'un minuscule orifice (ostiole) et servant aux échanges gazeux.

Fiche technique des arbres et arbustes

Les prélèvements doivent être réalisés après une période sans pluie, au moins un mois après la sortie des feuilles ou des jeunes aiguilles (cf. durée suffisante d'exposition). Les prélèvements foliaires seront effectués à 2-3 m du sol au moyen d'un échenilloir⁷ et quelques rameaux externes seront récoltés sur le pourtour de l'arbre (10-20 feuilles). Les échantillons seront ensuite séchés à 40-50°C pendant une semaine puis conservés dans des sacs en papier avant leur analyse (pour l'étude des ETM).

I.2.1.c. Schéma du protocole pour l'analyse des poussières accumulées sur les surfaces foliaires

- Prélèvements foliaires
- Extraction des poussières (et des cires) : trempage 35 secondes dans du chloroforme,
- Recueil des poussières sur un filtre : filtre en nitrate de cellulose (0,45 µm),
- Micropesée des poussières : évaluation quantitative des dépôts,
- Composition chimique des poussières : évaluation qualitative par analyse des filtres.

I.2.2. Les bryophytes

Les bryophytes sont des organismes particulièrement bien adaptés pour l'étude des polluants atmosphériques métalliques et organiques. Elles doivent cette efficacité à leurs particularités anatomiques (ex. rapport élevé surface/volume) et leurs caractéristiques physiologiques, par exemple leur activité photosynthétique continue tout au long de l'année qui les soumet aux retombées des polluants présents à la fois dans les dépôts secs et humides.

I.2.2.a. Informations générales

Le dosage des polluants métalliques collectés par les bryophytes se fera dans les échantillons entiers ou dans des fragments annuels de croissance. Ceci concerne à la fois les polluants particuliers déposés en surface et piégés à l'intérieur des brins feuillés, les formes ioniques fixées sur les parois et les membranes, ainsi que les fractions intracellulaires. Il est possible également de distinguer les différentes fractions accumulées par la mousse (intercellulaire, extracellulaire, intracellulaire et résiduelle) en procédant aux techniques d'élution séquentielles : l'échantillon est soumis à une séquence d'extraction par des solvants sélectifs de chacune de ces quatre fractions (le document ne précise malheureusement pas comment).

Les mousses se révèlent être également un bon matériel pour le dosage des HAP car elles seraient capables de filtrer les particules contaminées par des polluants organiques et d'absorber les grosses molécules. Toutefois trois difficultés se présentent :

1. Au niveau de l'échantillonnage :
l'analyse de ces composés nécessite une biomasse importante (au final 30 g sec),
2. Au niveau de l'analyse :
il existe de nombreuses divergences dans les procédures d'extraction, avec parfois des conséquences sur le résultat final. Les HAP sont des composés peu volatils (en dehors

⁷ Sécateur fixé au bout d'une perche pour couper les rameaux auxquels sont fixés les nids de chenilles ou, plus généralement, des rameaux hors d'atteinte à la main.

du naphthalène) généralement dosés par HPLC avec un détecteur spectro-fluorimétrique ou un spectro-UV après extraction à l'hexane, au cyclohexane ou en mélange. Une autre méthode consiste à effectuer l'analyse en CPG/MS.

3. Difficulté spécifique aux HAP :

il est très difficile d'avoir une estimation cohérente des retombées de HAP car ce sont des composés ubiquitaires⁸ dont la présence n'est pas forcément liée à l'existence de sources majeures (ex. trafic automobile) mais aussi à des micro-sources très localisées comme par exemple des brûlis sauvages ou la dégradation de produits organiques préalablement répandus dans l'environnement.

1.2.2.b. Exemple de mode opératoire pour le dosage des ETM

L'exemple cité concerne la mesure des ETM sur des mousses *in situ*.

Prélèvement et transport

Les mousses seront collectées de préférence d'avril à octobre et toujours hors période de pluie. Les prélèvements doivent être réalisés à plus de 3 m des arbres, jamais sur des souches ou troncs d'arbre, ni sur un terrain en pente : l'échantillon prélevé doit être réparti horizontalement.

Les échantillons seront placés dans trois sacs en plastiques superposés et étanches (sachets zip de préférence) à l'intérieur desquels les mousses seront repliées sur elles-mêmes de façon à limiter les contaminations par le sol. Pour éviter le pourrissement des échantillons, ceux-ci seront placés dans une glacière à 4°C, ce qui permet également de limiter la perte d'éléments volatils.

Les échantillons doivent ensuite être analysés le plus rapidement possible, sans jamais dépasser 3 à 4 jours de stockage.

Préparation des échantillons en laboratoire

Le sachet plastique externe est éliminé en arrivant au laboratoire (il peut être source de contamination). Puis les échantillons sont placés au réfrigérateur avant traitement.

Nettoyage

Les mousses sont nettoyées des débris végétaux et de l'humus à la pince non métallique. La quantité de mousse triée doit être au moins de 5 à 10 g de masse sèche soit environ 0,5 l avant déshydratation. Le nettoyage à l'eau est à éviter afin de prendre en compte les particules adsorbées sur la surface des feuilles.

Séchage

Les échantillons triés sont déshydratés pendant 24 h à 40°C (ou 60°C si on ne dose pas les éléments volatils tels que le mercure ou l'arsenic) dans une étuve à air filtré (si possible).

Broyage

Le broyage, nécessaire pour homogénéiser les échantillons, peut se faire dans un mortier en agate et dans l'azote liquide pour rendre les brins cassants, ou, si l'échantillon est

⁸ Composés, le plus souvent organiques, très stables et peu solubles dans l'eau, qui à partir de sources d'émissions localisées, se répartissent dans l'atmosphère et contaminent des zones extrêmement éloignées de la zone d'émission initiale.

suffisamment important, dans un broyeur automatique non chauffant et non contaminant en métaux.

Il est recommandé de re-déshydrater les échantillons à 40°C après broyage afin d'éliminer toute trace d'humidité.

Stockage des échantillons

Une fois triés, déshydratés et broyés, les échantillons sont placés dans deux sachets étanches superposés, puis rangés dans des barils opaques, et stockés à l'abri de la poussière. Les échantillons ainsi conditionnés peuvent se conserver plusieurs mois, et sont prêts pour la minéralisation et le dosage chimique des métaux.

II. Dosage des ETM sur les végétaux : Exemples de protocoles

II.1. Présentation de la méthode

Les exemples de protocoles sont présentés sous forme de fiches techniques. Ils proviennent, dans le cas du dosage des éléments métalliques sur les végétaux, de pratiques de laboratoire (fiches 1, 2, 3 et 3bis), de plusieurs publications (fiches 4, 5 et 8) et de travaux de recherche présentés dans le cadre de DEA (fiche 9) ou de thèses de doctorat (fiches 6 et 7).

Les méthodes détaillées ci-après concernent tout type de végétal, comestible ou non. A noter le protocole de l'INRA de Bordeaux qui présente une méthodologie très complète prenant en compte différentes espèces de plantes.

II.2. Liste des fiches présentées

Fiche 1 : Pratiques de laboratoire d'analyses :

1- V. Bert, 2004

Centre National de Recherche sur les Sites et sols pollués, Douai

Analyse des teneurs en métaux dans les végétaux

[Diverses espèces végétales \(végétaux comestibles ou non\)](#)

2- J.Ph. Bedell, 2004

Laboratoire des Sciences de l'Environnement, ENTPE, Lyon

Analyse des teneurs en métaux dans les végétaux

[Diverses espèces végétales prélevées sur terrains de dépôt de sédiments de curage \(végétaux non comestibles\)](#)

3- Laboratoire E.P.L.D., 2004

Centre de Lagor

Prestations d'analyses sur les végétaux

[Diverses espèces végétales \(végétaux comestibles ou non\)](#)

Fiche 2 : M. Barbaste, 2004, [pratiques de laboratoire d'analyses]

Unité de Service et de Recherche en Analyses Végétales et Environnementales (USRAVE), INRA Bordeaux, Villenave d'Ornon

Analyse des teneurs en métaux dans les végétaux : Al, As, B, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Ni, Pb, Se, Zn

[Diverses espèces végétales \(végétaux comestibles ou non\)](#)

- Fiche 3** : C. Hébrard-Labit, 2004, [pratiques de laboratoire d'analyses]
Laboratoire Régional des Ponts et Chaussées, CETE Nord-Picardie, Lille
Analyse des teneurs en métaux dans les végétaux : Cd, Pb, Pd, Pt, Zn
Méthode 1 : Minéralisation par micro-ondes
Diverses espèces végétales (végétaux comestibles ou non)
- Fiche 3 bis** : C. Hébrard-Labit, 2004, [pratiques de laboratoire d'analyses]
Laboratoire Régional des Ponts et Chaussées, CETE Nord-Picardie, Lille
Analyse des teneurs en métaux dans les végétaux : Cd, Pb, Pd, Pt, Zn
Méthode 2 : Extraction acide HF + HClO₄
Diverses espèces végétales (végétaux comestibles ou non)
- Fiche 4** : F. Douay, C. Pruvot, M. François, 2002 [10]
ISA, Laboratoire Sols et Environnement, Lille
Teneurs en Pb, Cd et Zn dans des blés et maïs cultivés aux alentours des usines métallurgiques de Noyelle-Godault et d'Auby. Comparaison avec les caractéristiques physico-chimiques des sols, leur degré de contamination et la spéciation des polluants métalliques
Productions agricoles : blé et maïs (végétaux comestibles)
- Fiche 5** : J.P. Garrec, C. Rose, F. Radnai, 2002 [13]
Institut National de la Recherche Agronomique, Nancy
Etude de la pollution atmosphérique autoroutière en forêts de Rennes et de Liffré
Dépôts foliaires (végétaux non comestibles)
- Fiche 6** : Thèse de doctorat de Sandrine Promeprat, 2001 [28]
Université de Metz
Utilisation de la bioindication végétale comme moyen d'investigation de la pollution atmosphérique de proximité d'une autoroute (chapitre 4)
Graminées (ray-grass) (végétaux non comestibles)
- Fiche 7** : Thèse de doctorat de Hamina Dahmani-Muller, 2000 [5]
Ecole Nationale du Génie Rural, des Eaux et Forêts, Paris
Phyto-réhabilitation des sols pollués par des éléments métalliques : facteurs et mécanismes de prélèvement dans les sols et d'accumulation par les espèces métallophytes
Diverses espèces végétales (végétaux non comestibles)

- Fiche 8** : L. Des Ligneris, F. Douay, T. Sterckeman, 1999 [7]
ISA, Laboratoire Sols et Environnement, Lille
Teneurs en métaux (Pb, Cd et Zn) de végétaux cultivés dans les exploitations agricoles et les jardins familiaux
[Légumes de jardins \(radis, salades, pommes de terre, carottes, poireaux, tomates\) \(végétaux comestibles\)](#)
- Fiche 9** : Rapport de DESS de Nathalie Malbreil, 1997 [24]
Université de Metz
Première approche de la pollution par les métaux lourds (Zn, Pb, et Cd) en bordure de l'A4, au nord de Strasbourg. Le suivi des métaux dans les dépôts foliaires et les tissus internes des graminées autochtones.
[Dépôts foliaires et tissus de végétaux internes de graminées \(végétaux non comestibles\)](#)

ETM sur VEGETAUX - Fiche 1**Analyse des teneurs en métaux dans les végétaux****Pratiques de laboratoire, 2004 :**

- 1- **CNRSSP, V. Bert**
- 2- **LSE, J.Ph. Bedell**
- 3- **EPLD**

Analyse de diverses espèces végétales (végétaux comestibles ou non). Objectif de phytoremédiation dans le cas du CNRSSP.

Mode de prélèvement

Pas de mode opératoire particulier.

Préparation des échantillons**1- CNRSSP**

Minéralisation au four à micro-ondes en réacteur fermé selon une méthode dérivée de la norme NF X 31-151 :

Séchage des végétaux à 60°C puis broyage,
Prise d'essai de 0,5 g de végétaux,
Ajout de 3 ml d'eau minéralisée et 10 ml d'acide nitrique,
Minéralisation micro-onde à 180°C pendant 20 min à une puissance de 1200 W.

2- LSE

Extraction par minéralisation au four à micro-ondes (Mars 5) d'un mélange de 8 ml d'HNO₃ (ultrapur Merck) et de 2 ml d'H₂O₂ pour une masse sèche d'échantillon de 0,5 g de végétaux broyés.

3- EPLD

Séchage et broyage,
Pesée de 2 g de végétaux secs,
Minéralisation au micro-ondes par attaque acide (mélange de HNO₃ et H₂O₂),
Reprise dans une fiole jaugée de 50 ml.

Analyses**1- CNRSSP**

Dosage des métaux effectués par ICP/AES (cf. annexe 1).

2- LSE

Dosage des métaux par SAA.

3- EPLD

Dosage des métaux en ICP/MS.

Analyse des teneurs en métaux dans les végétaux

Pratiques de laboratoire d'analyses

M. Barbaste, 2004

Unité de Service et de Recherche en Analyse Végétales et Environnementales (USRAVE)

Analyse foliaires de diverses espèces végétales (végétaux comestibles ou non).

Al, As, B, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Ni, Pb, Se, Zn

Mode de prélèvement

Le mode de prélèvement détaillé, décrit en annexe 3, ne concerne que **les feuilles** de l'espèce considérée.

Les échantillons sont conditionnés en sac plastique pour les feuilles et en filet plastique pour les fruits et légumes.

Préparation des échantillons

Pré-traitement

Les végétaux peuvent être lavés à la demande ; sinon, ils sont séchés en fonction de la volatilité des éléments à analyser (40°C pour le mercure, 70°C pour l'azote).

La teneur en eau est déterminée sur une fraction de l'échantillon à la température de 103 +/- 2°C. L'échantillon sec est broyé à une fraction inférieure à 500 µm.

Pour les matériaux fibreux : utilisation d'un broyeur à couteau ; pour les matériaux cassants : un broyeur centrifuge ou planétaire (titane, carbure de tungstène, oxyde de zirconium).

40 g de poudre brassée constitue l'échantillon à analyser.

Mise en solution

Les protocoles utilisés sont inspirés des méthodes du CII (Comité Inter-Instituts des techniques analytiques).

Utilisation de 4 minéralisations différentes :

voie sèche pour :

Co Pb Ni Cu Mn Zn Cd Fe P Na B Mg K Ca

voie sèche avec élimination de la silice pour :

Co Pb Ni Cu Mn Zn Cd Fe P Na B Mg K Ca Cr Al Mo

voie humide pour :

Co Pb Ni Cu Mn Zn Cd Fe P Na B Mg K Ca S As Se

voie humide avec élimination de la silice pour :

Co Pb Ni Cu Mn Zn Cd Fe P Na B Mg K Ca S As Se Al Mo

La mise en solution des éléments métalliques est réalisée sur échantillon broyé (prise d'essai de 1 g). Puis est appliqué le mode opératoire adéquat :

Voie sèche	Voie sèche avec élimination de la silice	Voie humide	Voie humide avec élimination de la silice
Calcination à 420 °C pendant 4 heures (programme de chauffe) Reprise des cendres par 5 ml HNO ₃ cc Evaporation		5 ml HNO ₃ cc et 5 ml H ₂ O ₂ 30% Pré digestion à reflux (programme de chauffe) Refroidissement	
Reprise par 10 ml d'HNO ₃ 50% Filtration Jaugeage à 100 ml	Reprise par 5 ml d'HNO ₃ 50% Filtration Calcination du filtre à 520°C (programme de chauffe) Reprise des cendres par 5 ml d'HFcc Evaporation Reprise par 5 ml d'HNO ₃ cc Evaporation Reprise par 5 ml d'HNO ₃ 50% Filtration Jaugeage à 100 ml	Filtration Jaugeage à 100 ml	Filtration Calcination du filtre à 520°C (programme de chauffe) Reprise des cendres par 5 ml d'HFcc Evaporation Reprise par 5 ml d'HNO ₃ cc Evaporation Reprise par 10 ml d'HNO ₃ 50% Filtration Jaugeage à 100 ml

Analyses

L'analyse des métaux est faite en ICP/AES ou en SAA four.

Le laboratoire dispose de trois ICP : un Varian Vista CCD simultané radial, un Varian liberty series II axial et un thermo elemental IRIS intrepid (axial et radial), ainsi qu'un SAA four (TJA Solaar) et un analyseur de mercure (Altec AMA 254).

La limite de quantification des polluants dans les végétaux (en mg.kg⁻¹ matière sèche) est, selon la méthode utilisée :

Al	As	B	Cd	Cr	Co	Cu	Fe	Mn	Mo	Ni	Pb	Se	Zn
4	0,1	0,57	0,01	0,05	0,03	0,13	0,045	0,008	0,13	0,03	0,1	0,1	0,007

Analyse des teneurs en métaux dans les végétaux

Pratiques de laboratoire d'analyses

C. Hébrard-Labit, 2004

Analyse de diverses espèces végétales (végétaux comestibles ou non). Evaluation du taux de transfert des éléments traces métalliques (Cd, Pb, Pd, Pt, Zn) via le sol ou l'air vers les différents compartiments végétaliens (racines, tiges, feuilles, fleur et/ou fruits).

Méthode 1 : Minéralisation par micro-ondes

Mode de prélèvement

Les parties racinaires sont prélevées à la bêche puis émottées pour éliminer le maximum de terre sans détacher les radicelles.

Les parties aériennes des plantes sont coupées à 3 cm au-dessus du sol pour éviter toute contamination de terre.

Les feuilles, les fleurs, les fruits sont arrachés manuellement.

Plusieurs réplicats peuvent être réalisés pour constituer un échantillon composite moyen (environ 100 g) conditionné en flacon en verre ou en sachet plastique hermétique.

Les échantillons sont conservés au réfrigérateur à 4°C avant analyses.

Préparation des échantillons

Pré-traitement

Les racines sont débarrassés du sol par lavages à l'eau osmosée et nettoyées 15 minutes aux ultrasons. Les parties aériennes peuvent être lavées ou non à l'eau osmosée, l'analyse peut se faire sur matière fraîches ou préalablement séchée. Dans tous les cas la détermination de la matière sèche est réalisée. Les échantillons sont séchés à l'étuve à 60°C jusqu'à poids constant, puis broyés au broyeur à agate, ou hachés (hachoir à couteau). La taille de la fraction obtenue dépend du mode de broyage et du type de végétal (filamenteux ou cassant). La teneur en eau est déterminée sur une partie de l'échantillon brut à une température de 105°C.

Mise en solution

Le protocole utilisé est inspiré de la norme NF ISO 11 466 de juin 1995 transposé à la méthode micro-ondes (marque Milestone) et de la norme NF ISO 14 869-1 de août 2001.

La mise en solution des éléments métalliques est réalisée sur échantillon broyé (prise d'essai de 2 g) et calciné 3 heures à 450°C dans des capsules en porcelaine. Après transfert en bombe téflon puis rinçage des capsules, ajout de 7,5 ml d'acide chlorhydrique 37 % (HCl, Merck Suprapur max Hg 0,005 ppm) et 2,5 ml d'acide nitrique 65 % (HNO₃, Merck Suprapur max Hg 0,005 ppm). Mise en place des bombes dans le carrousel du micro-onde puis programme de chauffage de 17 minutes : 10 min à 300 Watts, 5 min à 600 Watts, 2 min de ventilation. Après refroidissement à l'eau glacée, filtration du minéralisat sur filtre bande rouge et récupération en jaugée de 100 ml.

Analyses

L'analyse des métaux est faite en ICP/AES (Cd, Pb, Pd, Pt, Zn).

Le spectromètre d'émission atomique avec plasma couplé par induction est un Tracescan séquentiel à torche axiale (Thermo Jarrell Ash).

La limite de quantification des polluants dans les végétaux (en mg.kg⁻¹ matière sèche) est pour la méthode utilisée :

Cd	Pb	Pd	Pt	Zn
0,1	0,25	1,25	0,5	0,1

ETM sur VÉGÉTAUX - Fiche 3 bis

Analyse des teneurs en métaux dans les végétaux**Pratiques de laboratoire d'analyses****C. Hébrard-Labit, 2004**

Analyse de diverses espèces végétales (végétaux comestibles ou non). Evaluation du taux de transfert des éléments traces métalliques (Cd, Pb, Pd, Pt, Zn) via le sol ou l'air vers les différents compartiments végétaliens (racines, tiges, feuilles, fleur et/ou fruits).

Méthode 2 : Extraction acide HF + HClO₄**Mode de prélèvement**

Les parties racinaires sont prélevées à la bêche puis émottées pour éliminer le maximum de terre sans détacher les radicelles.

Les parties aériennes des plantes sont coupées à 3 cm au-dessus du sol pour éviter toute contamination de terre.

Les feuilles, les fleurs, les fruits sont arrachés manuellement.

Plusieurs réplicats peuvent être réalisés pour constituer un échantillon composite moyen (environ 100 g) conditionné en flacon en verre ou en sachet plastique hermétique.

Les échantillons sont conservés au réfrigérateur à 4°C avant analyses.

Préparation des échantillons**Pré-traitement**

Les racines sont débarrassés du sol par lavage à l'eau osmosée et nettoyés 15 minutes aux ultrasons. Les parties aériennes peuvent être lavées ou non à l'eau osmosée, l'analyse peut se faire sur matière fraîche ou préalablement séchée. Dans tous les cas, la détermination de la matière sèche est réalisée. Les échantillons sont séchés à l'étuve à 60°C jusqu'à poids constant, puis broyés au broyeur à agate ou hachés (hachoir à couteau). La taille de la fraction obtenue dépend du mode de broyage et du type de végétal (filamenteux ou cassant). La teneur en eau est déterminée sur une partie de l'échantillon brut à une température de 105°C.

Mise en solution

Le protocole utilisé est inspiré de la norme NF ISO 14 869-1 de août 2001.

La mise en solution des éléments métalliques est réalisée sur échantillon broyé (prise d'essai de 1 g) et calciné à 450°C pendant 3 heures en creuset en porcelaine. Les cendres sont transférées dans un bécher en PTFE et le creuset est rincé par une faible quantité d'eau ultra pure (environ 5 ml).

Après ajout de 5 ml d'acide fluorhydrique 40 % (HF, Merck Suprapur) et 1,5 ml d'acide perchlorique 70 % (HClO₄, Merck Suprapur max Hg 0,005ppm), laisser évaporer sur bain de sable à 150°C +/-10°C (thermostat 7) jusqu'à l'obtention d'un gâteau en fond de bécher (ne pas évaporer à sec !). Reprendre le résidu par 1 ml d'acide nitrique 65 % (HNO₃, Merck Suprapur max Hg 0 ;005 ppm) et 5 ml d'eau ultra pure puis réchauffer quelques minutes sur le bain de sable pour redissoudre le résidu.

Filtrer sur papier Whatman 2V et ajuster au trait de jauge à 50 ml avec de l'eau ultra pure.

Analyses

L'analyse des métaux est faite en ICP/AES (Cd, Pb, Pd, Pt, Zn).

Le spectromètre d'émission atomique avec plasma couplé par induction est un Tracescan séquentiel à torche axiale (Thermo Jarrell Ash).

La limite de quantification des polluants dans les végétaux (en mg.kg⁻¹ matière sèche) est pour la méthode utilisée :

Cd	Pb	Pd	Pt	Zn
0,1	0,25	1,25	0,5	0,1

Teneurs en Pb, Cd et Zn dans des blés et maïs cultivés aux alentours des usines métallurgiques de Noyelle-Godault et d'Auby. Comparaison avec les caractéristiques physico-chimiques des sols, leur degré de contamination et la spéciation des polluants métalliques

F. Douay, C. Pruvot, M. François, 2002

Etude menée sur deux productions agricoles : le blé (grain et paille) et le maïs (grain et fourrager).

Mode de prélèvement

Prélèvements réalisés à un stade de maturité des cultures, quelques jours avant la récolte.

Blé

Les épis sont arrachés manuellement sur un rang de 50 à 70 cm représentant au moins une cinquantaine d'individus. Puis, les pailles sont coupées à une hauteur d'environ 10 cm à l'aide d'un couteau en acier. Les épis sont ensuite égrainés au laboratoire et la balle est éliminée par air comprimé filtré.

Remarque : Il a été démontré par Douay et al. (2001) que la méthode utilisée pour l'égrainage des épis de blé n'avaient aucune influence sur les concentrations en métaux mesurées dans les grains. Ce constat repose sur la comparaison d'échantillons de grains non lavés et lavés à l'acide acétique dilué.

Maïs

Coupe des pieds (choix aléatoire) à l'aide d'un couteau en acier à la hauteur d'une barre de coupe d'ensileuse. Découpage de certains pieds en tronçons pour constitution d'un échantillon moyen de maïs fourrager. Egrainage des épis d'autres pieds.

Préparation des échantillons

Séchage des grains de blé, et des tronçons et grains de maïs en étuve à 50°C maximum puis broyage au broyeur à anneaux oscillant en carbure de tungstène, puis tamisage des échantillons à 315 µm.

Mise en solution d'une partie représentative du tamisat dans un mélange de H₂O₂ et HNO₃ en réacteur fermé avec chauffage par micro-ondes.

Analyses

Détermination des teneurs totales en métaux (appareil non précisé).

ETM sur VEGETAUX - Fiche 5

Etude de la pollution atmosphérique autoroutière en forêts de Rennes et de Liffré**J.P. Garrec, C. Rose et F. Radnai, 2002**

Etude des zones soumises à la pollution routière et des niveaux relatifs de cette pollution autour des structures routières traversant une zone forestière, par analyse des dépôts foliaires. Application à l'impact actuel de la RN 12 et de l'A 84 sur les forêts de Rennes et de Liffré.

Mode de prélèvement**Dépôts foliaires :**

Prélèvement de rameaux effectués sur des pins sylvestres par tirs au fusil dans la partie supérieure des houppiers⁹.

Préparation des échantillons

Les aiguilles de pins (quelques grammes) sont trempées pendant 1 minute dans un solvant (mélange de tétrahydrofurane et toluène, 1 pour 1) afin de récupérer les dépôts foliaires avec les cires de surface.

Le mélange est ensuite filtré sur un filtre nylon de porosité 0,20 µm, afin de séparer le dépôt foliaire.

Analyses

L'ensemble filtre + dépôt est analysé par micro-analyseur X afin de connaître la composition chimique élémentaire du dépôt minéral foliaire. Détermination en particulier des teneurs en Fe.

⁹ Ensemble des ramifications portées par la tige d'un arbre au-dessus du fût (partie du tronc dépourvue de rameaux).

Utilisation de la bioindication végétale comme moyen d'investigation de la pollution atmosphérique de proximité d'une autoroute

Thèse de doctorat S. Promeyrat, 2001 - Chapitre 4

Suivi spatio-temporel de la contamination métallique par voie atmosphérique à proximité d'une autoroute et estimation de la zone d'impact par utilisation de lots de graminées (ray-grass) exposés à différentes distances de l'autoroute.

Mode de prélèvement

Suite à une durée d'exposition connue (dans des conditions déterminées, non détaillées ici), les parties aériennes des plantes sont coupées à 2 ou 3 cm au-dessus du sol pour éviter toute contamination. Les prélèvements sont placés dans des sachets en papier dûment identifiés.

Préparation des échantillons

A leur arrivée au laboratoire, chaque échantillon est séché à 60°C jusqu'à obtention d'un poids constant. Le séchage des échantillons protège la plante contre la décomposition microbienne et permet en outre d'assurer une valeur de référence constante en déterminant le poids sec.

Les végétaux subissent une minéralisation acide à chaud sous pression. Les échantillons secs, 3 répétitions de 100 mg, sont introduits dans des tubes de polyéthylène de 10 ml auxquels sont ajoutés 2 ml d'acide nitrique (69 %, Normapur) dilué au 1/2. Les échantillons sont ensuite minéralisés à 60°C pendant 24 h sous pression. Durant ces 24 h, les tubes sont régulièrement agités afin de maintenir les végétaux dans l'acide. Après refroidissement des tubes de façon à condenser les vapeurs acides, les minéralisats sont dilués par ajout de 8 ml d'eau distillée. Les mélanges eau/acide sont homogénéisés (retournements successifs) et centrifugés à 2 000 trs/min pendant 15 minutes pour obtenir un surnageant clair pour le dosage.

Des blancs de minéralisation (sans végétaux) sont préparés selon le même protocole afin d'évaluer d'éventuelles contaminations.

Analyses

Le dosage des métaux dans les minéralisats est réalisé par spectrométrie d'absorption atomique en mode flamme (Perkin Elmer 2380) ou en four (Varian Spectra A 300/400) selon les teneurs.

La limite de détection des polluants dans le végétal (en mg.kg⁻¹ matière sèche) est :

Cd	0,01
Pb	0,15
Zn	1,00

Les résultats d'analyse (c) sont exprimés en mg ou µg/l puis sont convertis en mg ou µg/kg de matière sèche de végétal (C) :

$$C = (c \cdot V) / M$$

avec V = volume de minéralisat en litre, M = poids sec en kilogramme.

Phyto-réhabilitation des sols pollués par des éléments métalliques : facteurs et mécanismes de prélèvement dans les sols et d'accumulation par les espèces métallophytes

Thèse de doctorat H. Dahmani-Muller, 2000

Etude du potentiel de phytoextraction des métaux, ie capacité des espèces végétales à prélever les métaux du sol et les transférer vers leurs parties aériennes.

Une plante au potentiel d'extraction élevé pourra avantageusement être utilisée pour la phytoréhabilitation de sites pollués, sous réserve que ces espèces hyperaccumulatrices aient une forte production de biomasse (afin d'optimiser la phytoextraction).

Site d'une ancienne usine métallurgique.

Partie sur les VEGETAUX :

Mode de prélèvement

Méthodologie 1

Observation des stratégies de réponse des espèces végétales à de fortes teneurs en ETM pour identifier la plante la plus hyperaccumulatrice.

3 réplicats de chacune des espèces végétales dominantes au sein de chaque zone, racines et partie aérienne

Méthodologie 2

Evaluer la capacité de la plante la plus hyperaccumulatrice à extraire les ETM associés à divers constituants du sol (matière organique, argile, scories).

Détermination de zones de dominance des espèces végétales, localisation d'un point "central" puis d'une surface de 1 m² autour de ce point.

Prélèvement de la biomasse aérienne à trois reprises, à intervalle de 2 mois.

Préparation des échantillons

Méthodologie 1

Les échantillons de végétaux sont débarrassés du sol, lavés, et nettoyés aux ultrasons (Deltasonic 521, 300 W, 28 kHz) pendant 20 minutes afin d'enlever les particules de terre et de boues.

Les racines, les tiges (stems) et les feuilles sont séparées à la main. Pour certaines espèces, les feuilles de couleur différente sont ensuite triées (marron, vert).

Les échantillons sont séchés à l'étuve à 85°C pendant 15 heures, puis broyés (tamisés ?) à une fraction inférieure à 500 µm avant analyse.

Méthodologie 2

Lavage de la partie aérienne à l'eau permutée, séchage pendant 24 h à 50°C, puis pesée pour déterminer la masse sèche récoltée par m².

Analyses

Dosage des métaux Zn, Pb, Cd, et Cu selon la norme NF X 31-147.

Prise d'essai de 0,250 g chauffée progressivement jusqu'à 450°C. Après refroidissement, ajout d'un mélange d'acide fluohydrique (HF) et d'acide perchlorique (HClO₄) au résidu et chauffage jusqu'à évaporation complète. Ajout d'acide chlorhydrique (HCl) et chauffage pour redissolution du résidu. Solution complétée à 50 ml avec eau distillée.

Analyse des concentrations en métaux par SAA à la flamme ou au four selon les teneurs.

Remarque :

Le chapitre IV est consacré à la localisation tissulaire et cellulaire des éléments métalliques dans les organes végétaux :

Observation de la localisation des éléments métalliques dans les différents organes afin de contribuer à la compréhension des mécanismes d'hyperaccumulation des plantes.

Utilisation de la microscopie électronique à balayage couplée à la microanalyse X (MEB/EDS) et à la microfluorescence X pour la localisation des éléments métalliques à l'échelle tissulaire, et de la microscopie électronique à transmission couplée à la microanalyse X (MET/EDS) pour une localisation plus fine à l'échelle cellulaire et intracellulaire.

Teneurs en métaux (Pb, Cd et Zn) de végétaux cultivés dans les exploitations agricoles et les jardins familiaux

L. Des Ligneris, F. Douay, T. Sterckeman, 1999

Etude des sols et des cultures de 15 jardins localisés autour des usines métallurgiques de Noyelles-Godault et d'Auby. La démarche tente d'évaluer la teneur en métaux de ces récoltes et de rechercher les relations avec le degré de contamination des sols, les pratiques culturales et le lavage des légumes.

Mode de prélèvement

Légumes prélevés : radis, salades, pommes de terre, carottes, poireaux, tomates.

Prélèvement :

La constitution de l'échantillon poursuit un double objectif de représentativité de la variabilité inter-individu et l'obtention d'un poids sec suffisant pour les besoins de l'analyse.

Prélèvement selon le type de légumes de 3 à 20 individus. Les végétaux en bordure des allées sont écartés de façon à limiter les biais dus aux dépôts de poussières. Choix des individus au hasard. Relevé de l'état physiologique des échantillons.

Transport :

Dans des sacs en polypropylène.

Préparation des échantillons

Découpe et élimination des extrémités et des fanes (carottes, radis), ainsi que des feuilles externes abîmées (salade, poireaux).

Lavage : Cherche à reproduire au mieux les méthodes utilisées par les particuliers : utilisation de bassines et essoreuses à salade en plastique, double lavage à l'eau du robinet, avec ou sans trempage et essorage, ou épluchage selon les légumes.

Découpage : Petits morceaux (tomates), rondelles (radis) ou fines tranches (carottes, pommes de terre) au couteau en inox. Découpe dans le sens de la longueur pour les poireaux.

Séchage des échantillons en étuve à 50°C au maximum. Lyophilisation des tomates.

Broyage des échantillons au broyeur oscillant à anneaux en carbure de tungstène et tamisage à 315 µm.

Une partie représentative est ensuite mise en solution selon deux méthodes :

1/ calcination à 550°C, mise en solution par HF et HClO₄ à chaud, jusqu'à évaporation complète des acides, reprise du résidu par HCl 5 %,

2/ mise en solution par un mélange de H₂O₂ et de HNO₃ en réacteur fermé avec chauffage par micro-ondes.

La « méthode HNO₃ » en réacteur fermé présente l'avantage d'éviter des pertes en cadmium par volatilisation.

Analyses

Taux de matière sèche et concentrations en Cd, Pb et Zn exprimées en poids sec et poids frais.
Mesure des concentrations en métaux dans l'eau de lavage utilisée et dans les végétaux.

Dosage des métaux par absorption atomique avec atomisation électrothermique (avec correction de fond par effet Zeeman), ou par émission atomique de plasma induit d'argon, selon l'élément et le niveau de concentration. Les seuils de détection, exprimés en mg.kg^{-1} , matière sèche, sont :

Cd	0,025
Pb	0,2
Zn	1,0

ETM sur VEGETAUX - Fiche 9

Première approche de la pollution par les métaux lourds (Zn, Pb, et Cd) en bordure de l'A4, au nord de Strasbourg. Le suivi des métaux dans les dépôts foliaires et les tissus internes des graminées autochtones.

Rapport de DESS de N. Malbreil, 1997

Réalisation de mesures de métaux dans les dépôts foliaires et les tissus internes des graminées autochtones pour évaluer le niveau de pollution en ETM.

Mode de prélèvement

Dépôts foliaires

Pas d'indication sur le mode de prélèvement.

Tissus végétaux internes

Pas d'indication sur le mode de prélèvement.

Préparation des échantillons

Dépôts foliaires

Les échantillons sont séchés à l'étuve à 70°C, puis pour chaque point de prélèvement, 4 g de plantes sont placés dans un récipient à couvercle avec 80 ml d'une solution d'acide chlorhydrique à 5 %. Un lavage par agitation manuelle douce est alors réalisé pendant 5 minutes, puis les végétaux sont immédiatement retirés du récipient et mis à sécher à l'étuve (70°C).

Tissus végétaux internes

Une digestion acide de 100 mg de végétaux précédemment séchés, par 2 ml d'une solution d'acide nitrique à 35 % est alors réalisée à chaud, sous pression, pendant 24 h. La solution est ensuite diluée par ajout de 8 ml d'eau distillée.

Analyses

Dépôts foliaires

La solution de lavage est ensuite dosée par spectrométrie d'absorption atomique (SAA) à la flamme pour le zinc, et au four pour le plomb et le cadmium, dont les concentrations sont plus faibles.

Tissus végétaux internes

Dosage des métaux par SAA

II.3. Comparaison des méthodes

II.3.1. Prélèvement

II.3.1.a. Echantillonnage

De façon générale, la constitution d'un échantillon de végétaux poursuit un triple objectif :

- Réaliser un échantillonnage adapté au sujet de l'étude : impact sur la santé, transfert des polluants, analyse des dépôts particulaires, etc.,
- Assurer la représentativité inter-individus,
- Obtenir un poids sec suffisant pour les besoins de l'analyse.

Les types et parties de végétaux ainsi que les modalités de prélèvement sont aussi différentes que les objectifs d'étude sont variés. Il est en effet possible de réaliser des analyses sur différentes espèces végétales (graminées, fruits, légumes, etc.) et différents compartiments tel que les racines, les tiges (ou les branches), les feuilles, les fleurs, les fruits, etc.

Dans chacun des cas, une précaution importante se dégage des protocoles de prélèvement de végétaux recensés : éviter au maximum que l'échantillon soit souillé par le « sol » que ce dernier soit en place ou sous forme de poussières.

- Les prélèvements des parties racinaires doivent se faire sans couper les racelles et être émiettées soigneusement sur place,
- Les parties aériennes des plantes doivent être prélevées en coupant la « plante » à environ 3 cm au dessus du sol pour éviter toute contamination,
- Les végétaux en bordure d'allées ou de parcelles ne doivent pas être prélevés car ils peuvent être souillés par la poussière lors de passage de personne ou de véhicules.

Lors du prélèvement, chaque laboratoire réalise plusieurs répliques pour constituer un échantillon moyen afin de garantir une représentativité minimum inter-individu et une bonne représentativité de la parcelle. Afin de limiter les sources d'erreurs importantes liées à cette première étape les végétaux malades, mal formés, blessés sont écartés du prélèvement.

Enfin outre l'importance d'assurer la représentativité de l'échantillonnage, il est nécessaire d'obtenir un poids de végétaux suffisant pour pouvoir réaliser les analyses en laboratoire : sur ce point, une bonne centaine de grammes de matière fraîche paraît être un minimum [23].

A titre d'information, le tableau établi en annexe 3 [mode de prélèvement des plantes de l'INRA de Bordeaux] peut servir de base de protocole de prélèvement puisqu'il reprend une grande partie d'espèces végétales comestibles ou non y compris les fruits et les légumes.

En fonction de l'objectif de l'étude, les prélèvements sont réalisés de façon manuelle ou à l'aide d'outils adaptés à la partie du végétal retenu (bêche, couteaux, ciseaux, pinces, etc.).

II.3.1.b. Conservation des échantillons

Les échantillons sont conditionnés en flacon de verre, en sac plastique ou en filet plastique (pour les fruits et les légumes).

L'utilisation de « flaconnage » en papier comme proposé dans la fiche 6 ne paraît pas être un bon moyen de conserver l'échantillon, sauf le cas de végétaux secs (graines par exemple), car le papier peut absorber l'eau de constitution du végétal.

Contrairement au sol, le souci principal est d'éviter la fermentation et la dégradation des végétaux avant analyse, ainsi que leur séchage prématuré si la teneur en matière sèche doit être déterminée ou si l'analyse doit être réalisée sur matière fraîche. Il est par conséquent préférable de privilégier un flaconnage hermétique pour éviter toute évaporation.

L'INRA propose, pour les feuillus notamment, de faire sécher les feuilles à l'air ou au soleil avant le transport afin de limiter la fermentation. Une fraction de feuille fraîche pouvant être conservée pour la détermination de la matière sèche.

Pour l'analyse des dépôts particuliers, il est pas nécessaire de prendre davantage de précautions que celle relative à la contamination par le sol.

Quoi qu'il en soit la préparation des échantillons devra démarrer dans les plus brefs délais après le prélèvement (éviter les transports longs).

La conservation au froid à une température inférieure à 4°C, voire une congélation, peut permettre de conserver la qualité des échantillons en limitant leur décomposition microbienne.

II.3.2. Préparation des échantillons

Contrairement au cas des sols, aucune normalisation n'a été établie pour la préparation des échantillons de végétaux en vue d'analyse physico-chimiques. En l'absence de méthode de référence, chaque laboratoire pratique selon son expérience et les moyens dont il dispose. Les protocoles sont ainsi très variés.

II.3.2.a. Pré-traitement

Bien que l'analyse puisse être effectuée sur matière fraîche, l'ensemble des protocoles recensés réalise le séchage préalable des échantillons. La teneur en poids frais est déterminée par calcul à partir de la teneur en matière fraîche.

Le lavage des végétaux paraît indispensable pour se prémunir des risques de contamination par le sol. Ce lavage ne pose généralement pas de problème pour la détermination des dépôts particuliers puisque les cires végétales sont insolubles à l'eau. D'autre part ces « eaux » de lavage peuvent également être récupérées et analysées.

Lavage

On distingue deux types de lavage :

- celui réalisé pour éliminer les contaminations,
- celui réalisé dans le but de mesurer le taux d'ETM contenus dans les particules.

Un tiers des laboratoires recensés (tableau 22) pratique le lavage destiné à l'élimination des contaminations extérieures notamment sur la partie racinaire, ce qui paraît indispensable compte tenu du contact direct du végétal avec le sol. Le lavage des parties aériennes peut améliorer l'analyse mais n'apparaît pas indispensable. Après lavage manuel, le nettoyage peut encore être affiné par passage aux ultrasons.

Pour l'analyse des ETM dans les dépôts particulaires, le lavage est indispensable. La moitié des protocoles utilise l'eau comme solvant, l'autre moitié un mélange de solvant organique ou une solution d'acide chlorhydrique (HCl) à 5%. L'utilisation du mélange toluène/tétrahydrofurane paraît plus adapté pour libérer les particules emprisonnées dans les cires végétales au cours du temps.

Tableau 22 : Protocoles de lavage des végétaux utilisés

	Fiche 1	Fiche 2	Fiche 3 et 3bis	Fiche 4	Fiche 5	Fiche 6	Fiche 7	Fiche 8	Fiche 9
Lavage pour contamination	?	Oui	Oui	Non	Non	Non	Oui	Non	Non
Lavage pour dépôts	?	?	Oui	?	Oui	?	?	Oui**	Oui
Solvant	?	Eau	Eau	/	Toluène/THF*	/	Eau	Eau	HCl 5%
Passage aux ultrasons (en min)	?	?	15	/	?	/	20	Non	Non

*THF : tétrahydrofurane

**lavage destiné à reproduire la pratique humaine pour le nettoyage des légumes.

Séchage

Dès leur arrivée au laboratoire les échantillons sont séchés. Cette étape est, comme pour les sols, réalisée de deux façons selon qu'il s'agisse de déterminer la matière sèche (séchage à « haute » température) ou de préparer l'échantillon en vue de l'analyse des ETM (séchage à « basse » température).

Le séchage à « basse » température entre 40 et 60°C permet d'éviter la perte des éléments les plus volatils, comme le mercure, avant l'étape de mise en solution. Une température supérieure (70 et 85°C) paraît déjà excessive pour limiter le phénomène. Les trois quarts des laboratoires recensés réalisent le séchage à une température inférieure ou égale à 60°C (tableau 23).

Tableau 23 : Caractéristiques du mode de séchage utilisé

	Fiche 1	Fiche 2	Fiche 3 et 3bis	Fiche 4	Fiche 6	Fiche 7	Fiche 8	Fiche 9
Température de séchage pour analyse (en °C)	60	40	60	50	60	85	50	70
Température de séchage pour MS* (en °C)	?	103 ± 2	105 ± 2	?	60	50	50	50

*MS : matière sèche

Par contre pour la mesure de la teneur en matière sèche seulement un quart des laboratoires pratique le séchage à 105°C selon les recommandations de la norme NF ISO 11 465 de août 1994 relative à la détermination de la teneur en eau dans les sols et qui a priori peut s'appliquer aux végétaux.

Il est important de noter qu'il est également possible de lyophiliser certains végétaux pour les sécher (fiche 8 pour les tomates).

Broyage

L'homogénéisation, étape indispensable à l'obtention d'un échantillon d'analyse, est réalisée par « broyage ». Deux sortes de végétaux se distinguent après séchage : les végétaux fibreux ou filamenteux (feuille de roseaux, bois, etc.) et les végétaux cassants (feuilles par exemple).

Pour les végétaux fibreux, un broyeur à couteau de type hachoir est préconisé. L'obtention d'une poudre fine est quasiment impossible.

Pour les végétaux cassant les broyeurs couramment utilisés pour les sols peuvent être adaptés aux plantes : broyeur à anneau, centrifuge, planétaire, etc. L'obtention d'une poudre fine est alors assez aisée.

Parmi les protocoles recensés (tableau 24), comme pour les sols, les différences résident davantage dans le manque de précisions de la technique utilisée que dans la diversité des méthodes et de la granulométrie finale de l'échantillon. De façon générale, la majorité des laboratoires utilise le broyage en poudre fine inférieure à 315 µm ou 500 µm.

Tableau 24 : Caractéristiques du broyage des végétaux

	Fiche 1	Fiche 2	Fiche 3 et 3bis	Fiche 4	Fiche 6	Fiche 7	Fiche 8	Fiche 9
Broyeur	?	Couteau planétaire centrifuge	Agate hachoir	Anneaux	?	?	Anneaux	?
Taille du tamis (en µm)	?	< 500	< 315 > 1000 si haché	< 315	?	< 500	< 500	?

Comme dans le cas des sols, les différences de pratiques relevées dans cette étape de préparation des échantillons peut être à l'origine de variations dans les teneurs en polluants obtenues à l'issue des analyses.

II.3.2.b. Mise en solution

La mise en solution des éléments traces métalliques est essentielle car l'analyse fine en laboratoire ne peut être effectuée que sur des liquides.

Le principal problème de cette étape réside dans la désagrégation de la matière organique qui constitue à l'exception de l'eau et des sels, 100% du végétal. La cellulose et la lignine ne sont pas attaquées par les acides classiques utilisés pour minéraliser les sols. L'eau régale par exemple oxyde peu ces matières organiques et provoque la formation d'un précipité à base de carbone dans les réacteurs.

La calcination préalable ou l'ajout de produit oxydant comme l'eau oxygénée sont réalisés en préalable pour palier ce problème.

Les possibilités de variation des méthodes utilisées à cette étape du processus d'analyse sont importantes car de nombreux paramètres entrent en considération : masse de prise d'essai, type et volume de réactifs, chauffage, etc. L'optimisation de ces paramètres est recherchée par les laboratoires afin d'obtenir le rendement d'extraction maximum sans perdre de polluants au cours de la minéralisation.

La mise en solution par oxydation à sec ou calcination à haute température est la méthode la plus souvent employée. Elle assure la mise en solution de l'ensemble de la matière organique, et la partie minérale est dissoute dans un acide adapté. L'avantage de cette méthode par rapport aux autres modes de digestion réside dans la possibilité de calciner une masse importante d'échantillon reprise ensuite dans un volume réduit de liquide. Ce qui permet de pré-concentrer la solution et faciliter le dosage des ETM lors de la détermination de faibles concentrations. Le résidu et la solution finale sont exemptes de toute matière organique, pré-requis nécessaire à certaines techniques de dosage telles que l'ICP/MS [30].

Les méthodes de mise en solution par voie humide, pour lesquelles la matière organique est minéralisée à chaud en phase aqueuse par ajout d'agents oxydants (mélange d'acides et d'eau oxygénée), ne permet pas une décomposition complète de cette fraction organique qui reste alors partiellement présente dans la solution finale et qui peut gêner le dosage par certaines techniques (tout comme l'excès d'acide) [30].

Les protocoles utilisés sont soit dérivés de normes « sols » (NF ISO 11 466 de juin 1995, NF X 31-147 de juillet 1996, et NF X 31-151 de juin 1993), soit de pratiques éprouvées (Comité Inter Instituts des techniques analytiques (CII)) avec éventuellement des variantes à l'intérieur même de chaque laboratoire.

La méthode du CII qui réalise une oxydation complète de la matière organique par ajout d'acide fluorhydrique après une calcination de l'échantillon à 450°C [30] est à ce jour la méthode jugée la mieux adaptée aux végétaux. Par comparaison à d'autres types de mise en solution, elle n'occasionnerait de surcroît pas de pertes d'éléments volatils tels que l'arsenic ou le sélénium lors de leur dosage sur les végétaux terrestres.

Rapport volume de réactif / masse de sol

Comme pour les sols, la prise d'essai conditionne la répétabilité et la reproductibilité de l'analyse. En effet, plus elle est petite, plus les erreurs risquent d'être importantes et la teneur en ETM à doser trop faible pour être détectée. D'un autre côté, plus la prise d'essai est grande (nécessaire dans le cas des végétaux fibreux), plus les interférences les risques d'erreurs sont nombreux.

Pour optimiser la mise en solution, il est possible de jouer directement sur la masse de l'échantillon ainsi que sur le volume final de liquide (par augmentation ou diminution du volume de réactifs utilisés). Le tableau 25 présente le rapport volume de réactif / masse d'échantillon utilisé dans les méthodes recensées.

Tableau 25 : Rapport volume de réactif / masse d'échantillon pour la mise en solution

	Fiche 1	Fiche 2	Fiche 3	Fiche 3bis	Fiche 4	Fiche 6	Fiche 7	Fiche 8	Fiche 9
Rapport volume/masse (ml/g)	100/0,5 ? ou 50/2	100/1	100/2	50/1	?	10/0,1	50/0,25	?	10/0,1
Coefficient	200 ? ou 100	100	50	50	?	100	200	?	100

Une plus grande disparité est observée pour les végétaux que lors de la mise en solution sur les sols. En l'absence de référence, environ un tiers des protocoles recensés utilise un coefficient de 200, un autre tiers un coefficient de 100 et le troisième tiers un coefficient de 50. Pour les autres protocoles, la prise d'essai et/ou le volume n'ont pas été précisé(s).

Aucune variante n'est mentionnée pour le cas d'échantillon fibreux.

Minéralisation

a- Calcination

L'étape de calcination permet d'oxyder les matières organiques et constitue une pré-minéralisation de l'échantillon, favorisant la mise en solution des éléments traces métalliques. Cependant, comme lors du séchage, une température excessive peut entraîner la perte de certains ETM volatils.

La calcination lorsqu'elle est utilisée provient en général directement d'un protocole dérivé d'une norme sol ou d'une recherche en laboratoire (programme de chauffe) (tableau 26).

Tableau 26 : Caractéristiques de l'étape de calcination

	Fiche 1	Fiche 2 voie sèche	Fiche 2 voie humide	Fiche 3	Fiche 3bis	Fiche 4	Fiche 6	Fiche 7	Fiche 8	Fiche 9
Température de calcination (en °C)	Non	420°C programme de chauffe	Non	450°C	450°C	Non	Non	450°C progressif	550°C	Non
Temps (en heure)	/	4	/	3	3	/	/		?	/

La moitié des méthodes recensées calcinent l'échantillon (avant la mise en solution) par attaques acides. La température de référence se situe autour de 450°C (420 à 550°C), la montée en température est progressive, et la durée de calcination est d'environ 3 heures.

Cette étape est indispensable pour les laboratoires qui réalisent la mise en solution totale par acide fluorhydrique, elle n'est en revanche pas nécessaire pour la mise en solution à l'eau oxygénée et/ou à l'acide nitrique (à l'exception de la voie sèche sans volatilisation de la silice fiche 2).

b- Réactifs

La mise en solution totale des ETM nécessite l'utilisation d'acides forts concentrés comme l'acide chlorhydrique, l'acide nitrique, l'acide fluorhydrique, ainsi que l'eau oxygénée pour oxyder les matières organiques. Ces réactifs permettent de « désagréger » les liaisons chimiques des constituants des végétaux et solubilisent ainsi les éléments sous forme « libre » qui deviennent alors facilement dosables par les techniques analytiques classiques.

Ces réactifs sont souvent utilisés en mélange, ce qui augmente encore leur pouvoir solubilisant. Cependant, il est important de souligner que malgré le terme de mise en solution « totale », l'attaque réalisée par ces acides n'est jamais complète puisque le rendement d'extraction de 100 % n'est pas atteint pour tous les métaux. En règle générale, il reste toujours un résidu d'attaque que l'on piège par filtration, plus ou moins important.

Comme précédemment les différentes méthodes de mise en solution sont basées sur les protocoles des normes NF ISO 11 466 de juin 1995, NF X 31-147 de juillet 1996, et NF X 31-151 de juin 1993 soit du CII ou de pratiques de laboratoire.

Les acides utilisés sont soit purs, soit au maximum de la concentration à laquelle il est possible de les trouver dans l'eau (exemple de 65% pour l'acide nitrique). L'eau oxygénée est utilisée à 30%.

Le tableau 27 présente les différents mélanges de réactifs utilisés, la présence de calcination préalable, les rapports masse/volume en fonction de la prise d'essai, ainsi que le volume final de la solution à analyser.

Tableau 27 : Réactifs utilisés pour la mise en solution des ETM sur les végétaux

	Fiche 1	Fiche 2 Voie sèche	Fiche 2 Voie humide	Fiche 3	Fiche 3bis	Fiche 4	Fiche 6	Fiche 7	Fiche 8	Fiche 9
Mélange de réactifs	eau/HNO ₃ H ₂ O ₂ /HNO ₃ H ₂ O ₂ /HNO ₃	HNO ₃	H ₂ O ₂ /HNO ₃	HCl/HNO ₃	HF/HClO ₄	H ₂ O ₂ /HNO ₃	HNO ₃ 50%	HF/HClO ₄	HF/HClO ₄ H ₂ O ₂ /HNO ₃	HNO ₃ 50%
Calcination	Non Non Non	Oui	Non	Oui	Oui	Non	Non	Oui	Oui Non	Non
Rapport masse/volume PE/réactifs (en g/ml/ml)	0,5/3/10 0,5/2/8 2/ ?/ ?	1/5	1/5/5	2/7,5/2,5	1/5/1,5	?	0,1/2	0,25/ ?/ ?	?/ ?/ ? ?/ ?/ ?	0,1/2
Volume final	50 ou 100	100	100	100	50	?	10	50	?	10

PE : prise d'essai

La plupart des méthodes recensées utilisent la mise en solution par mélange acide fluorhydrique/acide perchlorique (HF/HClO₄) ou eau oxygénée/acide nitrique (H₂O₂/HNO₃). La mise en solution à l'aide de ce dernier n'est jamais précédé d'une calcination puisque l'eau oxygénée permet de « volatiliser » la matière organique en milieu fermé.

La mise en solution par attaque fluorhydrique présente le désavantage d'être réalisée en milieu ouvert ce qui risque d'entraîner la perte d'ETM volatils comme le cadmium (cf. fiche 8). Elle est de plus toujours précédée d'une calcination qui rallonge le temps de préparation.

L'attaque à l'acide nitrique seul, dilué ou non, est employée dans à peu près un tiers des méthodes de mise en solution présentée. Non précédée d'une calcination, elle apparaîtrait comme peu efficace pour oxyder les matières organiques.

Aucun problème survenant durant la mise en solution n'est cité dans les protocoles quelle que soit la méthode.

L'addition d'une petite quantité d'HF (200 µl) à un mélange d'acide nitrique et d'eau oxygénée (7ml/1ml) pour une prise d'essai de 0,25 g de lichens de référence ou naturel suivie d'une digestion par micro-ondes assure la dissolution complète de l'échantillon et améliore la répétabilité de l'analyse de l'aluminium du chrome, du titane et du fer [2].

c- Digestion

Avant l'étape d'analyse, la mise en solution des végétaux au contact des réactifs est accélérée par une étape supplémentaire de « digestion ». Comme précédemment, les différentes méthodes de digestion sont basées sur les protocoles des normes NF ISO 11 466 de juin 1995, NF X 31-147 de juillet 1996, et NF X 31-151 de juin 1993 soit du CII ou de pratiques de laboratoire.

Cette étape est également très importante car elle conditionne en grande partie le rendement d'extraction des ETM des végétaux. En effet, sans la digestion, le simple contact des réactifs ne suffirait pas pour « dissoudre » la matière organique. Il faut également que cette étape soit répétable et reproductible d'une analyse à l'autre.

Plusieurs modes de mise en solution sont possibles, en système ouvert ou en système fermé, mais toujours à chaud. Parmi les méthodes recensées, trois modes principaux de digestion sont distingués :

- la mise à sec en « système ouvert » après attaque à l'acide fluorhydrique (HF/HClO₄),
- le chauffage en « système fermé » après attaque au mélange acide nitrique / eau oxygénée (H₂O₂/HNO₃).
- le chauffage en système ouvert ou fermé après attaque à l'acide nitrique.

A priori le système fermé est recommandé pour éviter la perte d'éléments volatils. Néanmoins, la température de mise à sec ne dépasse pas 200°C ce qui est trop faible par rapport à la température de calcination réalisée au préalable.

Pour le chauffage en système fermé, deux matériels sont utilisables, le four à micro-ondes et le système par chauffage à reflux.

Le temps de digestion par micro-ondes est très rapide puisqu'il ne prend que quelques minutes alors que les autres « systèmes » de mise en solution nécessitent plusieurs heures de contact. Il est important de noter que toutes les minéralisations par micro-ondes se font en bombe fermée sous pression.

Parmi les fiches répertoriées, 3 protocoles sur 10 utilisent des mises à sec, 4 protocoles utilisent le micro-ondes en bombe fermée, un protocole utilise le système par reflux et 2 protocoles utilisent le chauffage en tube fermé sous pression à 60°C (tableau 28). Certains laboratoires réalisent aussi bien l'attaque HF que l'attaque micro-ondes.

Quelle que soit la méthode, avant analyse, les minéralisats sont filtrés ou centrifugés puis jaugés.

Tableau 28 : Systèmes de digestion utilisés

	Attaque HF	Attaque H₂O₂/HNO₃	Attaque HNO₃
Système	Ouvert	Fermé	Ouvert/Fermé
Mode	Mise à sec	Chauffage	Mise à sec/Chauffage à 60°C
Moyen	Bain de sable, plaque chauffante	Micro-onde système à reflux	Bain de sable plaque/tube fermé sous pression
Temps de digestion	Environ 3 heures	Micro-onde 15 à 20 minutes Reflux plusieurs heures	?/24 heures

Deux protocoles effectuent, dans l'attaque HF, la reprise du résidu après mise à sec à l'acide chlorhydrique au lieu de l'acide nitrique (fiche 7 et 8).

II.3.3. Analyse

II.3.3.a. Appareils analytiques utilisés

Parmi les protocoles recensés, l'analyse des ETM est toujours réalisée sur solution liquide acidifiée, soit par ICP, soit par SAA (cf. partie II, I.2, et annexe 1) (tableau 29).

A noter l'analyse par micro-analyseur X pour le dosage des dépôts foliaire de la fiche 5.

Tableau 29 : Matériel analytique utilisé pour le dosage des ETM

	Fiche 1	Fiche 2	Fiche 3 et 3bis	Fiche 4	Fiche 6	Fiche 7	Fiche 8	Fiche 9
ICP/AES	X	X	X	?			X	
ICP/MS	X			?				
SAA four ou flamme	X	X		?	X	X	X	X

Environ 50% des laboratoires recensés effectuent les analyses par SAA (flamme ou four) et 50% par ICP (AES ou MS) en fonction de la teneur en ETM dans les végétaux, la SAA four ou l'ICP étant privilégiés lors de faibles teneurs. Un seul un laboratoire dispose d'un ICP/MS.

Comme pour les sols la méthode analytique varie également selon le métal à analyser. Les métaux le plus couramment dosés sont le cadmium, le plomb et le zinc, classiquement analysés dans le cas d'étude d'impact de projets routiers. Il est fait mention dans plusieurs fiches de l'utilisation de la SAA four ou flamme en fonction des teneurs en métaux dans l'échantillon mais sans précision du type de métal. Dans ce cas nous considérons ici que l'analyse peut être faite des deux façons.

Pour la fiche 4 l'appareil utilisé pour réaliser le dosage des ETM n'a pas été mentionné. Pour certaines fiches, c'est le type de métal analysé qui n'est pas indiqué (fiche 1 et 4). Pour la fiche 5 la détermination par micro-analyseur X se limite au fer.

La technique privilégiée pour le cadmium et le plomb (tableau 30) est la SAA four car elle est bien adaptée dans le cas de concentrations faibles en présence de bruit de fond. L'utilisation de la flamme pour ces mêmes métaux ne sera valable que pour de très fortes teneurs.

A contrario les trois techniques semblent convenir pour le zinc compte tenu de sa présence en plus forte quantité dans les végétaux en bordure d'infrastructures routières.

L'analyse des autres métaux semblent plus marginale dans le cadre d'étude.

Le dosage par ICP peut être apprécié pour sa rapidité, notamment pour le zinc, mais au détriment de la sensibilité pour le cadmium et le plomb.

L'analyse de lichens de référence et de lichens naturels minéralisés suivant le même protocole a montré une bonne corrélation dans les résultats par SAA four par ICP/AES et ICP/MS pour le chrome et le nickel.

Tableau 30 : Choix de la méthode d'analyse par type de métal

Métal	ICP/AES	ICP/MS	SAA flamme	SAA four
Al	X			
As	X		X	X
B	X			
Cd	X-X-X		X-X-X	X-X-X-X-X
Co	X		X	X
Cr	X		X	X-
Cu	X		X	X
Fe	X			
Mn	X			
Mo	X			X
Ni	X		X	X
Pd	X			
Pb	X-X-X		X-X-X	X-X-X-X-X
Pt	X			
Se	X		X	X
Zn	X-X-X		X-X-X	X-X-X
Fiche	2-3 et 3bis-8	1?	2-6-7-9	2-6-7-8-9

Une corrélation satisfaisante a été montrée également entre l'ICP/AES et l'ICP/MS pour les métaux détectables et notamment pour le cuivre le manganèse et le zinc.

Pour les autres métaux l'ICP/MS paraît indispensable pour abaisser les limites de détection de ces éléments à l'état d'ultra traces [2].

II.3.3.b. Limites de quantification

La limite de quantification (cf. glossaire) est donnée en fonction de l'appareil et du métal analysé. Cette valeur est également liée aux paramètres de mise en solution et notamment au rapport volume/masse (volume du jaugé, prise d'essai) cité plus haut, entre 50 et 200 (100 ml/0,5 g ou 100 ml/1 g ou 100 ml/2 g) quelle que soit la méthode de minéralisation.

Le tableau 31 reprend les protocoles pour lesquels sont mentionnés les seuils de quantification des ETM en mg.kg⁻¹ de matière sèche.

Seules quatre fiches font mention des seuils de quantification ; et il est difficile de savoir exactement quel appareil a été utilisé pour déterminer ces teneurs limites. Cependant pour le cadmium et le plomb, compte tenu du seuil indiqué, on peut supposer qu'il s'agisse de la technique par four.

Il aurait été intéressant que les limites de quantification par ICP/MS soit citées dans la fiche 1.

Comme pour les sols la technique SAA en four apparaît plus sensible que la technique par ICP pour le cadmium et le plomb. Cependant l'ICP reste intéressant pour son rapport rapidité/seuil lorsque l'analyse porte sur plusieurs métaux.

Tableau 31 : Limites de quantification mentionnées dans les protocoles répertoriés

Métal	ICP/AES	SAA flamme	SAA four
Al	4		
As	0,1?	0,1?	0,1?
B	0,57		
Cd	0,01?-0,1-0,025?	0,01?-0,01?	0,01?-0,01?-0,025?
Co	0,03?	0,03?	0,03?
Cr	0,05?	0,05?	0,05?
Cu	0,13		
Fe	0,045		
Mn	0,008		
Mo	0,13?		0,13?
Ni	0,03?	0,03?	0,03?
Pd	1,25		
Pb	0,1?-0,25-0,2?	0,1?-0,15?	0,1?-0,15?-0,2?
Pt	0,5		
Se	0,1	0,1?	0,1?
Zn	0,007-0,1-1?	1?	1?-1?
Fiche	2-3 et 3bis-8	2-6	2-6-8

Le seuil de quantification du platine et du palladium donné pour l'ICP/AES est assez élevé par rapport à celui donné pour les sols par ICP/MS. 25 fois plus élevé pour le palladium et

10 fois plus élevé pour le platine. Ces deux éléments métalliques sont le plus souvent analysés en ultra traces.

L'analyse de lichens a montré que l'utilisation de l'ICP/MS permet d'élargir le champ d'investigation de recherche des métaux comme l'arsenic, le cadmium, le nickel, le plomb, etc. présents à l'état d'ultra trace dans les végétaux [2].

II.3.4. Conclusion

A l'étude des différentes méthodes recensées dans ce document, il n'apparaît pas de protocole type pour l'analyse des ETM dans les végétaux et chaque laboratoire suit un mode opératoire qui lui est propre, plus ou moins adapté de la normalisation issue des sols ou de pratiques éprouvées. Le schéma représenté en figure 7 reprend la trame générale des processus suivis et les variantes utilisées.

Les différences sont plus marquées sur les étapes qui précèdent la mise en solution et l'analyse de l'échantillon, et notamment pour l'étape de prélèvement dont les modalités varient fortement d'un laboratoire à l'autre. En l'absence de norme, le protocole de prélèvement de l'INRA (annexe 3) peut servir avantageusement de référence s'il n'est pas en contradiction avec le sujet de l'étude.

Pour les étapes de préparation et d'analyse des échantillons, les modes opératoires répertoriés sont plus proches les uns des autres et il est possible de dégager trois types principaux de mise en solution : l'attaque à l'acide fluorhydrique, l'attaque à l'acide nitrique et l'attaque au mélange H_2O_2/HNO_3 .

Cette dernière est très intéressante car elle est réalisée en système fermé et l'eau oxygénée permet une oxydation efficace de la matière organique. Pour le dosage proprement dit, les différences sont moins marquées compte-tenu des appareils disponibles pour réaliser ce type d'analyse. L'utilisation de tel ou tel appareil est essentiellement déterminé par l'ordre de grandeur de la teneur en métal à mesurer dans l'échantillon.

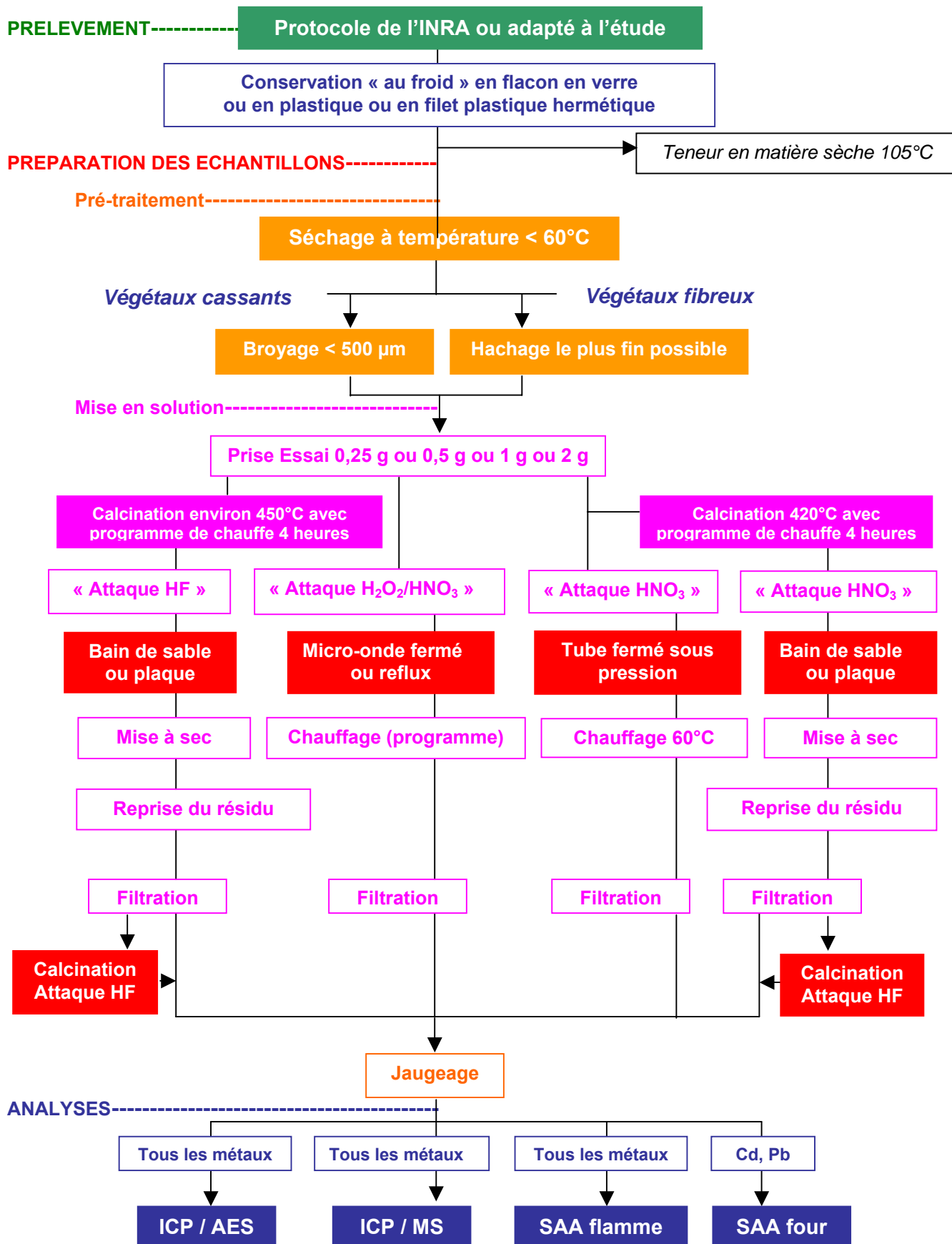


Figure 7 : Représentation du processus d'analyse des ETM sur les végétaux

III. Dosage des HAP sur les végétaux : Exemples de protocoles

III.1. Présentation de la méthode

Les exemples de protocoles sont présentés sous forme de fiches techniques. Ils proviennent, dans le cas du dosage des hydrocarbures aromatiques polycycliques dans les végétaux, de pratiques de laboratoire (fiches 1) et d'un rapport de DEA (fiche 2).

Très peu de laboratoires réalisent ce type d'analyse et il a été difficile, dans le cadre de cette étude, de se procurer d'autres exemples de protocoles.

III.2. Liste des fiches présentées

Fiche 1 : Laboratoire E.P.L.D., 2004, [pratiques de laboratoire d'analyses]
Centre de Lagor
Prestations d'analyses sur les végétaux
[Diverses espèces végétales \(végétaux comestibles ou non\)](#)

Fiche 2 : Rapport de DEA de Carine Bryselbout, 1998 [4]
Laboratoire Sols et Environnement ENSAIA – INRA, Nancy
Effets de proximité des autoroutes, cas des émissions d'Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP)
[Diverses espèces végétales en bordure d'autoroute](#)

HAP sur VEGETAUX - Fiche 1

Analyse des Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques sur les végétaux

Pratiques de laboratoire, 2004 :

EPLD, Centre de Lagor

Analyse de diverses espèces végétales (végétaux comestibles ou non).

Mode de prélèvement

Pas de mode opératoire particulier.

Préparation des échantillons

Extraction au soxhlet au dichlorométhane,
Purification des extraits sur colonne d'alumine.

Analyses

Dosage des HAP par HPLC à fluorescence.

HAP sur VEGETAUX - Fiche 2**Effets de proximité des autoroutes, cas des émissions d'Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP)****Rapport de DEA de C. Bryselbout, 1998**

Etude bibliographique sur les HAP : présentation de leur forme chimique, leur origine, leur toxicité pour l'homme, leur impact sur les végétaux, les teneurs moyennes rencontrées dans l'environnement, etc. Le lecteur désireux de plus amples informations sur ces composés est invité à consulter le rapport de Mlle Bryselbout.

Etude expérimentale : caractérisation des effets d'une autoroute en matière de pollution des sols, des végétaux et des aérosols en HAP en fonction de la distance à la voie.

Mode de prélèvement

Chaque échantillon est composé de 3 prélèvements de végétaux de 50 g environ effectués à 1 m d'intervalle parallèlement à l'axe de l'autoroute, puis mélangés.

Préparation des échantillons**Préparation et extraction :**

Les échantillons sont séchés à l'étuve à 45°C pendant 18 h, puis broyés à l'aide d'un pilon en céramique. Une masse de 150 mg est ensuite prélevée et mélangée à 300 mg de silice (silicagel 60, d = 0,063-0,200 mm, Merck). Le tout est introduit dans une pipette pasteur préalablement cotonnée. Les HAP sont extraits par passages successifs de 3 fois 1 ml de dichlorométhane et récoltés dans un pilulier préalablement étiqueté et pesé.

Séparation des fractions d'hydrocarbures saturées et aromatiques :

5 à 10 mg d'extrait séché et pesé sont transférés sur une colonne formée par une pipette pasteur contenant 600 mg de silice et 150 mg de Florisil (TLC, Merck) puis sont élués par 3 fois 500 µl de *n*-pentane afin de récolter la fraction hydrocarbure saturée, puis par 3 fois 500 µl de *n*-pentane / dichlorométhane (65/35 v:v) pour récolter la fraction hydrocarbure aromatique. Chaque fraction est collectée dans un pilulier préalablement étiqueté et pesé.

Analyses

Analyse des fractions hydrocarbures aromatiques par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS).

Le chromatographe en phase gazeuse (Varian 3400) est équipé d'un passeur automatique d'échantillons (Varian 8200) et couplé à un spectromètre de masse à trappe ionique (Saturne 2000, Varian). L'injection se fait en tête de colonne où la pression en hélium est de 11,6 psi. La colonne capillaire a une longueur de 30 m, un diamètre interne de 0,25 mm et une épaisseur de phase de 0,25 µm.

Programmation du four : montée en température de 35 à 110°C à 25°C/min, puis de 110 à 300°C à 3°C/min, puis maintien à 300°C pendant 10 minutes. Même programme pour l'injecteur mais reste toujours 3°C au-dessus du four.

Paramètres d'acquisition : impact électronique de 70 eV et balayage de 100 à 300 uma. Injection de 0,8 µl d'échantillon en automatique selon la méthode du sandwich (0,2 µl de dichlorométhane, 0,2 µl d'air, et 0,8 µl d'extrait).

Analyse de standards des 16 HAP à différentes concentrations dans les mêmes conditions afin de calibrer l'appareil et faciliter l'identification des composés contenus dans les échantillons.

III.3. Comparaison des méthodes

Seuls deux exemples de protocole de dosage des HAP sur les végétaux ont pu être rassemblés dans le cadre de cette étude, rendant difficile une réelle comparaison des méthodes employées.

L'analyse des HAP dans les végétaux présente en effet une certaine difficulté car ces composés sont souvent présents en faible proportion dans les plantes contaminées. D'où le peu de cas rencontrés présentant le dosage des hydrocarbures aromatiques polycycliques sur les végétaux et a fortiori l'analyse des HAP d'origine routière. En outre, certains HAP peuvent se trouver au sein de la plante sous forme liée et peu extractible ce qui rend difficile leur quantification.

Conclusion

Après avoir présenté les principales sources de pollution d'origine routière, les niveaux de contamination les plus souvent rencontrés dans les sols et les végétaux à proximité des voies urbaines et inter-urbaines, et les caractéristiques des deux familles de polluants que sont les éléments traces métalliques (ETM) et les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), notre étude a permis de préciser les méthodes générales de dosage associées sur les deux matrices étudiées et de comparer les différents protocoles utilisés.

Si l'analyse des polluants sur les sols, et notamment des métaux, fait l'objet de procédures normalisées, la détermination de la contamination des végétaux n'est réalisée que par un nombre limité d'organismes et s'appuie davantage sur des pratiques de laboratoire.

Les méthodes recensées concernent parfois des matrices différentes, renfermant des concentrations en polluants variées, décrites, pour certaines d'entre elles, sans précision de leur origine ni des facteurs de choix ayant prévalu à leur utilisation. L'emploi de tel ou tel produit ou procédé, lorsqu'il ne fait pas référence à une norme, n'est que très rarement explicité.

En l'absence de critères objectifs tels que rendement d'extraction, limites de quantification, répétabilité, etc., la comparaison des protocoles recueillis peut difficilement être étendue à l'ensemble des fiches présentées.

Néanmoins, cette étude s'est efforcée de comparer les différentes méthodologies employées à chaque étape du processus d'analyse (conservation, transport, préparation des échantillons, mise en solution des polluants, et dosage) et d'en dégager les avantages et inconvénients. Elle a notamment mis en évidence la grande hétérogénéité des pratiques en ce qui concerne l'analyse sur les végétaux. C'est particulièrement vrai pour les mesures relatives aux HAP que très peu de laboratoires réalisent et pour lesquels la majorité des différences constatées s'expliquent en premier lieu par les caractéristiques du matériel utilisé par les différents laboratoires.

Au delà du travail de comparaison, ce rapport propose, pour chacun des couples matrice/polluant un schéma général d'analyse, établi à partir de la synthèse des différentes méthodes recensées, qui a vocation à servir de guide de référence pour la détermination des ETM et HAP sur les sols et les végétaux.

Glossaire

Biais (parfois appelé rendement ou taux de récupération) : erreur systématique du système de mesure. Cette différence entre la quantité d'élément analysé présente dans l'échantillon et celle de l'échantillon présentée à la fin du processus de mesure peut être due aux pertes, à la contamination ou aux interférences liées au traitement. Le biais est généralement estimé par la comparaison à des échantillons certifiés de matériaux de référence.

Blanc : échantillon artificiel destiné à contrôler l'introduction d'artéfacts dans un procédé. En particulier, les blancs de laboratoire permettent de tester la méthode, l'appareillage et les réactifs utilisés, en terme de d'interférence ou de pollution [21].

Bruit de fond : concentration représentative ambiante en un élément ou composé dans un milieu donné. Elle tient compte des concentrations naturelles et de celles provenant éventuellement de source d'origine anthropique autres que celles du site étudié [21].

Dérive : défaut d'un laboratoire qui produit des valeurs variables en fonction des dates d'analyse (contraire : fidélité) [21].

Incertitude de la mesure : paramètre associé au résultat d'un mesurage qui caractérise l'étendue des valeurs parmi lesquelles est supposée se situer la valeur vraie, avec un certain degré de confiance qui est spécifié [15].

Limite de détection : plus basse concentration d'un élément ou d'une substance décelable pour une méthode et une matrice données. Cette valeur est par convention fixée à la concentration équivalent à trois fois la valeur de l'écart-type déterminé sur une série de mesures effectuées sur des essais à blanc [15].

Limite de quantification (limite de dosabilité inférieure) : concentration au-dessus de laquelle dans une matrice définie, une mesure quantitative peut être réalisée par une méthode donnée avec un niveau de confiance spécifié. Elle est par convention fixée à la concentration équivalent à 10 fois la valeur de l'écart-type déterminé sur une série de mesures effectuées sur des essais à blanc [15].

Sonication : procédé de traitement par ultrasons, utilisé le plus souvent en biologie pour briser les parois cellulaires des micro-organismes de façon à libérer les substances retenue à l'intérieur des cellules. L'utilisation des ultrasons provoque la formation de microbulles dans la solution expérimentale contenant les cellules, qui par un cycle de décompression, compression et d'implosion de ces microbulles génère, à l'échelle microscopique, de puissantes forces qui détruisent les cellules en suspension [Guide d'utilisation d'un sonificateur haute densité].

Bibliographie

- [1] – **Académie des Sciences, 2000.** Pollution localisée des sols et des sous-sols par les hydrocarbures et par les solvants chlorés. Rapport n°44, mars 2000, Paris : Tec et Doc, 417 p.
- [2] – **Baffi, C., Bettinelli, M., Beone, G.M. et Spezia, S., 2002.** Comparison of different analytical procedures in the determination of trace elements in lichens. *Chemosphere*, vol. 48, pp 299-306.
- [3] – **Belkessam, L., Lecomte, P. et Milon, V., 1998.** Comparaison inter laboratoire de résultats d'analyse des hydrocarbures aromatiques polycycliques dans un sol. *Déchets, Sciences et Techniques*, n°12, 4^{ème} trimestre 1998, pp 41-47.
- [4] – **Bryselbout, C., 1998.** Effets de proximité des autoroutes, cas des émissions d'Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques. Rapport de DEA, Institut National Polytechnique de Lorraine, 33 p.
- [5] – **Dahmani-Muller, H., 2000.** Phyto-réhabilitation des sols pollués par des éléments métalliques : facteurs et mécanismes de prélèvement dans les sols et d'accumulation par des espèces métallophytes. Thèse de doctorat, ENGREF Paris, 151 p.
- [6] – **Deletraz, G. et Paul, E., 1998.** Etat de l'art pour l'étude des impacts des transports routiers à proximité des routes et autoroutes. Rapport intermédiaire non confidentiel mars 1998, ADEME, 144 p.
- [7] – **Des Ligneris, L., Douay, F. et Sterckeman, T., 1999.** Teneurs en métaux (Pb, Cd et Zn) de végétaux cultivés dans les exploitations agricoles et les jardins familiaux. Programme de recherches concertées, Etude d'un secteur pollué par les métaux, Partie 1, Volume 3, Laboratoire Sols et Environnement, ISA Lille, 131 p.
- [8] – **Doornaert, B. et Pichard, A., 2003.** Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP). Evaluation de la relation dose-réponse pour des effets cancérigènes : approche substance par substance (facteurs d'équivalence toxique - FET) et approche par mélange. Evaluation de la relation dose-réponse pour des effets non cancérigènes : Valeurs Toxiques de Référence (VTR). INERIS, Rapport final du 18 décembre 2003, 64 p.
- [9] – **Douay, F. et Fourier, H., 2003.** Détermination des teneurs en métaux lourds (plomb, cadmium et zinc) dans les sols des potagers et des pelouses du lotissement du Grand marais, Commune d'Auby. Laboratoire Sols et Environnement, ISA Lille, 13 p.
- [10] – **Douay, F. Pruvot, C. et François, M., 2002.** Teneurs en Pb, Cd et Zn dans des blés et maïs cultivés aux alentours des usines métallurgiques de Noyelle-Godault et d'Auby. Comparaison avec les caractéristiques physico-chimiques des sols, leur degré de contamination et la spéciation des polluants métalliques. Laboratoire Sols et Environnement, ISA Lille, 39 p.
- [11] – **Douay, F. Pruvot, C. et Sterckeman, T., 2001.** Etude d'un secteur pollué par les métaux. Complément sur la connaissance des teneurs en métaux (Cd, Pb et Zn) de végétaux cultivés dans les exploitations agricoles aux alentours des sites métallurgiques de Noyelles-Godault et d'Auby. Influence des retombées de poussières sur la contamination de

cultures potagères. Laboratoire Sols et Environnement, ISA Lille, Programme de recherche concertées, 63 p.

[12] - Durand, C., 2003. Caractérisation physico-chimique des produits de l'assainissement pluvial. Origine et devenir des métaux traces et des polluants organiques. Thèse de doctorat, Université de Poitiers, 248 p.

[13] – Garrec, J-P., Rose, C. et Radnai, F., 2002. Etude de la pollution atmosphérique autoroutière en forêts de Rennes et de Liffré. Institut National de la Recherche Agronomique, Nancy. 3 p.

[14] – Garrec, J-P. et Van Haluwyn, C., 2002. Biosurveillance végétale de la qualité de l'air : concepts, méthodes et applications, Paris : Editions Tec et Doc, 117 p.

[15] – Guide pour la qualité en chimie analytique. Aide pour l'accréditation. 2002. Guide CITAC / EURACHEM, version française, 51 p.

[16] – Guide technique relatif aux installations de stockage de déchets inertes. 2001. Guide du Ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement, Avril 2001, 44 p.

[17] – Hébrard-Labit, C., 1998. Influence du compartiment bactérien sur le transfert du zinc en milieu poreux non saturé – Expériences et modélisation. Thèse de doctorat, INSA de Lyon, 306 p.

[18] – Ignatiadis, I. et Abou Akar, A., 1999. Analyse in situ des polluants métalliques des sols par fluorescence X et inter comparaison avec des méthodes d'analyse de laboratoire après extraction. Séminaire sur l'analyse, les méthodologies de traitement et la réhabilitation de sols pollués, Paris, 13-15 avril 1995. Poster-conférence.

[19] – Infos Cnrssp, Janvier 2004. Diagnostic rapide sur site, utilisation de méthodes d'évaluation de la teneur en métaux de sols pollués par mesure de leur susceptibilité magnétique et par fluorescence X. Centre National de Recherche sur les Sites et Sols Pollués, Revue d'information, janvier 2004.

[20] – Infos Cnrssp, Mai 2004. Outils de diagnostic rapide *in situ* appliqués aux HAP et aux BTEX sur les anciens sites de la carbochimie. Centre National de Recherche sur les Sites et Sols Pollués, Revue d'information, mai 2004.

[21] – Jeannot, R., Lemièrre, B. et Chiron, S., 2001. Guide méthodologique pour l'analyse des sols pollués. Orléans : Editions du BRGM, 83 p.

[22] - Lemièrre, B. et al., 2001. Guide sur le comportement des polluants dans les sols et les nappes. Orléans : Editions du BRGM, 119 p.

[23] – MacNaeidhe, F., 1995. Procedures and precautions used in sampling techniques and analysis of trace elements in plant matrices. The Science of the Total Environment, vol. 176, pp 25-31.

[24] – Malbreil, N., 1997. La pollution en bordure d'autoroute et son impact sur la végétation. Rapport de DESS, Université de Metz, 56 p.

[25] – Massounie, O., 2002. Jardins familiaux et pollution atmosphérique de proximité d'origine routière. Rapport de fin d'études ENSAIA Nancy, publication CERTU/SETRA, 72 p.

[26] - Pagotto, C., 1999. Etude sur l'émission et le transfert dans les eaux et les sols des éléments traces métalliques et des hydrocarbures en domaine routier. Thèse de doctorat, Université de Poitiers, 252 p.

[27] – Proix, N., Sterckeman, T., Thomas, P. et Hennebert, P., 2004. Extraction des éléments métalliques des sols et sédiments par l'eau régale : comparaison de différents modes de digestion. Etude menée dans le cadre de travaux de normalisation Afnor, Commission X 31-C.

[28] – Promeyrat, S., 2001. Contribution à l'étude de la pollution atmosphérique autoroutière. Caractérisation des flux de déposition et de la contamination métallique de l'environnement de proximité. Thèse de doctorat, Université de Metz, 206 p.

[29] – Schwedt, G., 1993. Atlas de poche des méthodes d'analyse. Paris : Flammarion Médecine-Sciences, 234 p.

[30] – Vassileva, E., Docekalova, H., Baeten, H., Vanhentenriijk, S. et Hoenig, M., 2001. Revisitation of mineralization modes for arsenic and selenium determinations in environmental samples. Talanta, vol. 54, pp 187-196.

Annexes

Annexe 1 : Méthodes analytiques de laboratoire

Annexe 2 : Liste des normes relatives au dosages des ETM et HAP

Annexe 3 : Protocole de prélèvement des plantes de L'INRA de Bordeaux

Annexe 1

Méthodes analytiques de laboratoire

Définitions et commentaires issus de l'Encyclopédie Universalis, 1995, du rapport de Deletraz et Paul, 1998 (Chapitre 2. Méthodes et techniques), du rapport n°44 de l'Académie des Sciences, 2000, de la thèse de Durand, 2003 (Chapitre 1), et de divers sites internet sur les techniques analytiques.

1. La chromatographie

La chromatographie est une technique de séparation des substances chimiques qui repose sur des différences de comportement de séparation entre une phase mobile courante et une phase stationnaire. Introduite en 1952, elle constitue une technique incontournable de l'analyse des gaz. Elle permet de séparer les constituants d'un mélange et, grâce à son couplage avec divers détecteurs, d'effectuer la plupart des dosages, quelle que soit la teneur des constituants.

Principe :

La séparation chromatographique peut être réalisée avec des mélanges contenant de nombreux constituants. Le mélange, en très faible quantité, est dissous dans un solvant puis introduit dans la phase fixe, au sommet d'une colonne dont les conditions, de température notamment, doivent être adaptées au mélange. La colonne est soumise à percolation ce qui entraîne la migration des substances. Chaque substance ayant sa propre vitesse de migration, la séparation est bientôt effective entre les différents composés.

L'échantillon est transporté par un courant de gaz mobile au travers d'un tube rempli d'un solide finement morcelé, ou peut-être enduit d'une pellicule d'un liquide.

Chromatographie en phase gazeuse :

En gazométrie, la chromatographie en phase gazeuse (**CPG** ou **CG** le plus souvent) est la plus répandue. Cette technique est basée sur une phase stationnaire solide pour laquelle la rétention des substances à analyser est la conséquence de l'adsorption physique. Grâce à sa simplicité, sa sensibilité et son efficacité, la CPG représente l'un des instruments les plus importants dans le domaine de la chimie.

Chromatographie en phase liquide :

Les laboratoires utilisent également la chromatographie en phase liquide (**CPL**) qui permet la détection en continu des fractions. La chromatographie liquide haute performance (**HPLC**) est aussi fréquemment utilisée. La HPLC est utile pour la séparation des ions ou des molécules dissous dans un solvant. Si la solution échantillon entre en contact avec une deuxième phase solide ou liquide, les différents solutés interagiront à des degrés variables avec l'autre phase en raison des différences d'adsorption, d'échange d'ions, de cloisonnement ou de taille. Ces différences permettent aux composants du mélange de se séparer les uns des autres et déterminent le temps de transit des solutés à travers une colonne.

D'autres techniques existent : chromatographie par adsorption, chromatographie de partage liquide-liquide, chromatographie sur résines échangeuses d'ions, chromatographie sur papier, chromatographie sur couches minces.



Figure 8 : Exemple de chromatographe en phase gazeuse – GC/MS

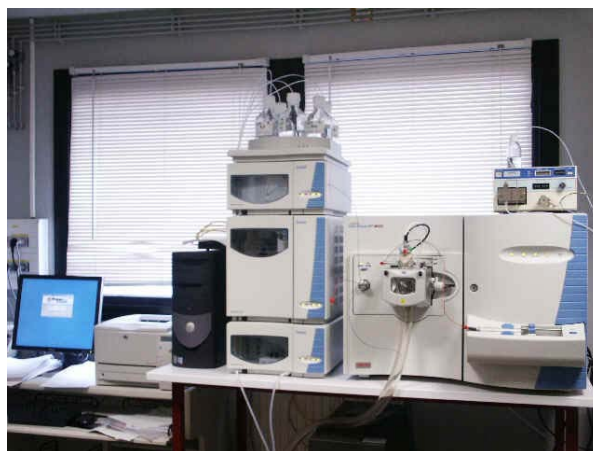


Figure 9 : Exemple de chromatographe en phase liquide – HPLC/MS

Amélioration du système :

Pour affiner les analyses, de nombreux autres détecteurs sont venus s'ajouter aux catharomètres (qui mesurent la conductivité thermique du gaz) : des détecteurs à flamme (détecteur à photométrie de flamme (DPF)), à ionisation (« chromatographie ionique » avec détecteur à ionisation de flamme (FID)), à décharge dans un gaz sous basse pression, détecteurs électrochimiques, balances à gaz.

Pour faciliter l'identification des constituants de mélanges complexes, notamment lorsqu'ils ne sont présents qu'à l'état de traces, on utilise fréquemment les couplages chromatographie / spectroscopie infrarouge et chromatographie / spectrométrie de masse.

2. La spectrométrie de masse

La spectrométrie de masse (**MS**) utilise le mouvement des ions dans les champs électriques et magnétiques afin de les classer en fonction de leur rapport masse/charge. Cette technique fournit des informations qualitatives et quantitatives sur la composition atomique et moléculaire des matériaux inorganiques et organiques.

Principe :

Le spectromètre de masse est un appareil qui fait correspondre à chacune des masses des élément d'un corps (atomes, molécules, fraction ou association de molécules, radicaux, etc.), après ionisation, sous vide élevé, une indication chiffrée renseignant sur la présence et les quantités relatives des éléments constitutifs de ce corps.

Les mesures sont qualitatives car le spectre constitue une empreinte digitale plus ou moins caractéristique, selon l'échantillon, de sa structure moléculaire et les conditions d'ionisations, et quantitatives, puisque l'amplitude du signal pour un fragment quelconque est directement proportionnelle à la masse de produit déposé dans l'appareil. Les banques de spectres

renferment plus de 120 000 produits, organiques pour la plupart. Les moyens informatiques permettent de comparer le spectre d'un échantillon a priori inconnu avec ceux de la banque et d'en déduire en quelques minutes son identité ainsi que la quantité présente.

Composés détectables :

La méthode s'applique à presque tous les gaz et à presque tous les liquides.

3. La spectrométrie d'absorption atomique (SAA)

La spectroscopie se base sur l'analyse des rayonnements électromagnétiques se traduisant par un spectre d'absorption du gaz dans des longueurs d'onde spécifiques. Ces méthodes utilisent l'absorption dans le visible, l'ultraviolet et l'infrarouge, mesurée grâce au spectromètre, souvent appelé spectrophotomètre dans les articles. La spectrométrie d'absorption atomique (**SAA**) est une des méthodes de spectroscopie.

La SAA est fondée sur le principe que les atomes libres peuvent absorber la lumière d'une certaine longueur d'ondes. L'absorption de chaque élément est spécifique, aucun autre élément n'absorbe sa longueur d'ondes. L'absorption de lumière par les atomes fournit ainsi un puissant instrument analytique à la fois pour l'analyse quantitative et qualitative.

Principe :

La détermination spectroscopique d'espèces atomiques peut seulement être réalisée à partir d'un échantillon à l'état gazeux, dans lequel les atomes individuels comme l'Ag, l'Al, l'Au, le Fe et le Mg sont nettement séparés les uns des autres.

La chaleur nécessaire pour faire passer l'échantillon à l'état gazeux et placer l'élément à doser dans un état « fondamental » est générée par une flamme ou un four de graphite. La SAA de flamme analyse seulement les solutions, tandis que la SAA de four de graphite analyse les solutions, les boues liquides et les échantillons à l'état solide.

SAA flamme :

Un atomiseur de flamme consiste en un nébuliseur qui convertit l'échantillon en un aérosol, qui est alimenté dans le brûleur. L'atomisation se produit dans la flamme qui est habituellement alimentée par de l'acétylène et du protoxyde d'azote.

SAA four :

Un atomiseur électrothermique fournit une grande sensibilité parce qu'il atomise l'échantillon rapidement. L'atomisation se produit dans un four de graphite cylindrique, ouvert aux deux extrémités et qui contient un trou au centre pour la présentation des échantillons. Deux courants de gaz inertes sont utilisés. Le courant externe empêche l'air de rentrer dans le foyer et le courant interne garantit que les vapeurs générées dans la matrice de l'échantillon sont rapidement éloignées du four. Le gaz le plus communément utilisé est l'argon.

Une fois que l'élément à doser est dissocié, on mesure alors son absorption sur des longueurs d'onde caractéristiques.



Figure 10 : Exemple de SAA flamme et four (appareil INRA Bordeaux)

Composés détectables :

Pratiquement tous les métaux et métalloïdes, à l'exception du soufre, du carbone, des halogènes et des gaz.

3. La spectrométrie infrarouge

La spectrométrie infrarouge est la mesure de la longueur d'ondes et de l'intensité de la lumière infrarouge moyenne pour un échantillon. L'infrarouge moyen dispense suffisamment d'énergie pour stimuler les vibrations moléculaires à des niveaux d'énergie supérieurs. La longueur d'ondes des bandes d'absorption infrarouges est caractéristique des types particuliers de liaisons chimiques, et la spectroscopie infrarouge trouve sa plus grande utilité dans l'identification des molécules organiques et organométalliques.

La haute sélectivité de la méthode rend possible l'estimation de la substance à analyser dans une matrice complexe. Cette méthode implique l'examen des mouvements de torsion, de courbure, de rotation et de vibration des atomes dans une molécule.

Principe :

Un spectrophotomètre infrarouge est un instrument qui fait passer de la lumière infrarouge à travers une molécule organique et produit un spectre contenant un graphique du montant de lumière transmise sur l'axe vertical, par rapport à la longueur d'ondes de la radiation infrarouge sur l'axe horizontal. Dans les spectres infrarouges les pics d'absorption pointent vers le bas parce que l'axe vertical correspond au pourcentage de transmission de la radiation à travers l'échantillon. L'absorption de la radiation abaisse la valeur du pourcentage de transmission. Comme tous les liens d'une molécule organique interagissent avec la radiation infrarouge, le spectre infrarouge fournit une somme considérable de données structurales.

Composés détectables :

Molécules organiques et organométalliques.

4. La spectrométrie (optique) d'émission atomique (AES)

Les atomes ou les molécules qui sont stimulés à de hauts niveaux d'énergie peuvent se désintégrer à des niveaux plus bas en émettant des radiations (émission ou luminescence). Pour les atomes stimulés par une source d'énergie à haute température, cette émission de lumière est communément appelée émission atomique ou optique (spectroscopie d'émission atomique), et pour les atomes stimulés par la lumière, on emploie le nom de fluorescence atomique (spectroscopie de fluorescence atomique).

Principe :

La spectroscopie d'émission atomique (**AES**) utilise une mesure quantitative de l'émission optique provenant des atomes stimulés, pour déterminer la concentration de la substance à analyser. Les atomes de la substance à analyser dans la solution sont aspirés dans la région de stimulation où ils sont dissous, vaporisés et atomisés par une flamme, une décharge, ou un plasma. Ces sources d'atomisation haute température fournissent suffisamment d'énergie pour propulser les atomes à de hauts niveaux d'énergie. Les atomes se désintègrent pour retourner à des niveaux plus bas en émettant de la lumière.

5. Plasma couplé par induction (ICP)

Cette technique est couramment utilisée au laboratoire pour quantifier la teneur en métal d'échantillons liquides ou solides.



Figure 11 : Exemple ICP/AES



Figure 12 : Exemple ICP/MS

Principe :

Un générateur haute fréquence est utilisé pour chauffer un courant d'argon et créer un plasma (gaz ionisé) par l'intermédiaire d'une bobine d'induction. La température atteinte est de l'ordre de 7000 à 8000°K. Au contact du plasma, l'échantillon, préalablement minéralisé, est réduit à l'état d'atomes indépendants et d'ions. Ces atomes, excités par le plasma, réémettent l'énergie qu'ils ont acquise sous forme d'un rayonnement électromagnétique (photons). La lumière émise entre dans un spectromètre qui la disperse et sépare les différentes raies d'émission présentes dans le rayonnement. Chaque élément chimique possède un spectre optique caractéristique et l'intensité des raies émises par l'échantillon est proportionnelle à la concentration des éléments qu'il contient.

Cette méthode est beaucoup moins sensible que la SAA mais elle est appréciée pour sa rapidité (quelques dizaines d'éléments par minute en ICP contre un élément toutes les 7 minutes en SAA).

ICP/AES :

Le dosage par spectromètre d'émission atomique avec plasma couplé par induction (**ICP/AES**) est utilisable pour presque tous les éléments de la classification périodique. Il est utilisé pour de larges gammes de concentrations.

ICP/MS :

La spectrométrie de masse utilisant un plasma inductif comme source d'excitation (**ICP/MS**) est actuellement la technique multi élémentaire la plus performante permettant d'obtenir une information quantitative quasi exhaustive sur la composition d'un échantillon. La grande sensibilité des instruments, associé à un très faible bruit de fond du système de détection, permet d'obtenir, pour la plupart des éléments recherchés, des limites de quantification plus faibles que celles obtenues par d'autres techniques.

Annexe 2

Liste des normes relatives au dosage des ETM et HAP

Cette liste recense les références des normes citées dans le présent document. Certaines normes relatives au dosage sur les eaux n'y sont pas mentionnées.

NF ISO 10 381-1 (X31-008-1) : Qualité du sol. Echantillonnage. Partie 1 : Lignes directrices pour l'établissement des programmes d'échantillonnage. Mai 2003.

NF ISO 10 381-2 (X31-008-2) : Qualité du sol. Echantillonnage. Partie 2 : Lignes directrices pour les techniques d'échantillonnage. Mars 2003.

NF X 31-101 : Qualité des sols. Préparation d'un échantillon de sol pour l'analyse physico-chimique. Séchage, émottage et tamisage à 2 mm. Novembre 1992.

NF ISO 11 465 (X 31-102) : Qualité des sols. Détermination de la teneur pondérale en matière sèche et en eau. Méthode gravimétrique. Août 1994.

NF X 31-147 : Qualité des sols. Sols, sédiments. Mise en solution totale par attaque acide. Juillet 1996.

NF X 31-151 : Qualité des sols. Sols, sédiments, boues de station d'épuration. Mise en solution d'éléments métalliques en traces (Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb, Zn) par attaques acides. Juin 1993.

PR NF ISO 18 287 (X 31-170) : Qualité des sols. Dosage des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP). Méthode par chromatographie en phase gazeuse avec détection par spectrométrie de masse.

NF X 31-210 : Déchets. Essai de lixiviation. Mai 1998.

NF X 31-410 : Qualité du sol. Dosage des huiles minérales. Méthode par spectrométrie à l'infrarouge et méthode par chromatographie en phase gazeuse. Statut : expérimentale. Septembre 1994.

NF ISO 11 464 (X 31-412) : Qualité des sols. Pré traitement des échantillons pour analyses physico-chimiques. Décembre 1994.

NF ISO 11 466 (X 31-415) : Qualité des sols. Extraction des éléments en traces solubles dans l'eau régale. Juin 1995.

NF ISO 13 877 (X 31-417) : Qualité du sol. Dosage des hydrocarbures aromatiques polycycliques. Méthode par chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC). Avril 1999.

NF ISO 14 507 (X31-425) : Qualité du sol. Pré-traitement des échantillons pour la détermination des contaminants organiques. Septembre 2003.

NF ISO 15 009 (X 31-426) : Qualité du sol. Détermination par chromatographie en phase gazeuse des teneurs en hydrocarbures aromatiques volatils, en naphthalène et en

hydrocarbures halogénés volatils. Méthode par purge et piégeage avec désorption thermique. Février 2003. (non citée dans corps de texte)

NF ISO 14 869-1 (X31-428-1) : Qualité du sol. Mise en solution pour la détermination des teneurs élémentaires totales. Partie 1 : Mise en solution par l'acide fluorhydrique et l'acide perchlorique. Août 2001.

FD X 31-610 : Qualité du sol. Méthode de détermination semi-quantitative des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) dans les sols. Guide de sélection et d'utilisation des kits de dosage immuno-enzymatiques. Novembre 1997.

XP T 90-115 : Essais des eaux. Dosage de 6 hydrocarbures aromatiques polycycliques. Méthode par chromatographie liquide haute pression (CLHP). Septembre 1998.

XP T 90-210 : Qualité de l'eau. Protocole d'évaluation d'une méthode alternative d'analyse physico-chimique quantitative par rapport à une méthode de référence. Décembre 1999.

XP X 33-012 : Caractérisation des boues. Dosage des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) et des polychlorobiphényles (PCB). Mars 2000.

EPA 8270 : Petroleum waste, Environmental Protection Agency.

Annexe 3

Protocole de prélèvement des plantes de l'INRA de Bordeaux

ESPECE	QUAND	OU	COMMENT	QUANTITE	PRECAUTIONS
Blé	floraison	Tige principal	3 feuilles maxi sous l'épi	50 fois 2 feuilles sur toute la parcelle	Pas en pleine floraison
Cerisier	45 jours après ouverture de 50 % des fleurs	Rameaux de l'année ou 2 côtés opposés (ne pas choisir les gourmands)	1 feuille centrale pour 4 rameaux de l'année	25 fois 4 feuilles sur tout le verger	Pas d'arbres malades, mal formés ou en bordure de parcelle
Fruitiers à noyaux	105 +/- 5 jours après ouverture de 50 % des fleurs				
Fruitiers à pépins	75 ou 105 ou 135 +/- 5 jours après ouverture de 50 % des fleurs				
Feuillus	2 ^{ème} quinzaine d'août	10 arbres sains représentatifs de la parcelle	Couper l'extrémité d'un ou plusieurs rameaux latéraux sans détacher les feuilles	30 à 50 g de feuilles vertes minimum pour 10 arbres	Séchage immédiat à l'air ou au soleil avant expédition, les feuilles se détachent après séchage
Feuillage persistants et Résineux	De fin octobre à fin décembre		Sur la cime la pousse terminale ou les pousses annuelles bilatérales du 1 ^{er} ou du 2 ^{ème} verticille au dessus de la flèche sans détacher les feuilles		Expédition immédiate de l'échantillon (les feuilles se détachent après séchage)
Fruits pomme poire	Quelques jours avant la récolte	Sur arbres où les feuilles ont été analysées	En plein vent 2 fruits à 2 côtés opposés	10 fois 2 fruits	Ecarter les fruits malades mal formés et blessés et ceux situés à l'intérieur de l'arbre
Maïs	Pendant la floraison	En fonction de la variété de la date de semis	Sous l'épi principal le tiers central de la feuille enlever la nervure centrale	12 feuilles/jeunes plants (moins de 5 feuilles 20 feuilles/plants (au moins 8 feuilles)	Jamais de prélèvement avant la floraison. Eviter la pollution du végétal par le sol.
Carottes	Quelques jours avant la récolte	Sur l'ensemble de la parcelle	A la bêche émotter à la main	300 à 500 g de matière fraîche	Eviter de blesser la partie racinaire laver sécher
Choux et salades	Quelques jours avant la récolte	Sur l'ensemble de la parcelle	Parties aériennes	300 à 500 g de matière fraîche pour 10 plants	Eviter de souiller l'échantillon avec du sol
Fraisiers	Début de floraison	Sur l'ensemble de la parcelle	Jeunes feuilles adultes	100 feuilles	/
Kiwi	Fin août	Plante entière	Sur pousse comportant au moins 6 feuilles et 5 à 6 fruits	24 feuilles	/
Olivier	Repos hivernal	25 arbres sains et 4 brindilles par arbres	Feuilles formées au cours du printemps de l'année précédente	25 fois 4 fois 2 feuilles	Pas d'arbres malades, mal formés ou en bordure de parcelle
Peuplier	Dernière semaine d'août ou 1 ^{ère} semaine de septembre	Le plus près du sommet (le dernier verticille)	4 rameaux de l'année aux 4 points cardinaux élimination des 2 1 ^{ères} et 2 dernières feuilles	30 feuilles avec leur pétioles/arbres	Ne pas prélever tôt le matin ou tard le soir ou par temps de pluie ou lorsque les feuilles sont humides
Vigne	Fin de floraison début de véraison	3 souches par rang sur 16 rangs	1 feuille par souche opposée à la 1 ^{ère} grappe ou la feuille immédiate située au dessus du sarment	48 feuilles	Souche saine et en bon état
Pétioles de vignes	Début de véraison	Zones homogènes	1 pétiole sur la feuille opposée à la 2 ^{ème} grappe du sarment situé au milieu de l'aste ¹⁰	50 pétioles	Souche saine et en bon état

¹⁰ Bois de taille de l'hiver.

Table des illustrations

Figures

Figure 1 :	Principales voies de dispersion des polluants émis en milieu routier (d'après [26]).....	10
Figure 2 :	Teneurs moyennes en HAP de différents types de sols (Wild et Jones, 1995 <i>in</i> [26]).....	14
Figure 3 :	Métaux lourds dans la classification périodique.....	17
Figure 4 :	Principales sources de pollution des ETM et HAP (d'après [26]).....	18
Figure 5 :	Principales sources d'erreurs au cours du processus analytique (d'après [21]).....	29
Figure 6 :	Représentation du processus d'analyse des ETM sur les sols	54
Figure 7 :	Représentation du processus d'analyse des ETM sur les végétaux	98
Figure 8 :	Exemple de chromatographe en phase gazeuse – GC/MS	110
Figure 9 :	Exemple de chromatographe en phase liquide – HPLC/MS	110
Figure 10 :	Exemple de SAA flamme et four (appareil INRA Bordeaux).....	112
Figure 11 :	Exemple ICP/AES.....	113
Figure 12 :	Exemple ICP/MS.....	113

Tableaux

Tableau 1 :	Ordre de grandeur de la concentration en polluants et de la charge annuelle transportée par les eaux de ruissellement [26]	12
Tableau 2 :	Exemples de teneurs en métaux (Pb, Cd, Zn) dans des sols non pollués et pollués en bordure d'autoroute (en ppm)	13
Tableau 3 :	Teneurs en HAP dans le sol selon son éloignement à une autoroute, en µg/kg [4]	14
Tableau 4 :	Exemples de teneurs en polluants de végétaux pollués (MS : matière sèche)	15
Tableau 5 :	Liste des 16 HAP de l'US-EPA	19
Tableau 6 :	Schéma d'extraction séquentielle du Bureau Communautaire de Référence [12]	27
Tableau 7 :	Nombre de réplicats réalisés lors de l'étape de prélèvement	44
Tableau 8 :	Profondeur des profils étudiés dans les fiches répertoriées	44
Tableau 9 :	Caractéristiques du mode de tamisage utilisé	46
Tableau 10 :	Caractéristiques du mode de séchage utilisé	46
Tableau 11 :	Caractéristiques du broyage	47
Tableau 12 :	Rapport volume de réactifs/masse de sol utilisé pour la mise en solution des ETM	48
Tableau 13 :	Caractéristiques de l'étape de calcination	48
Tableau 14 :	Types et volumes de réactifs utilisés pour la mise en solution des ETM	49
Tableau 15 :	Systèmes de digestion utilisés	51
Tableau 16 :	Matériel analytique utilisé pour le dosage des ETM	51
Tableau 17 :	Choix de la méthode d'analyse par type de métal	52
Tableau 18 :	Limites de quantification mentionnées dans les protocoles répertoriés	53
Tableau 19 :	Méthodes de séparation des matières organiques	60
Tableau 20 :	Méthodes d'extraction des HAP utilisées	61
Tableau 21 :	Matériel analytique utilisé pour le dosage des HAP	61
Tableau 22 :	Protocoles de lavage des végétaux utilisés	88
Tableau 23 :	Caractéristiques du mode de séchage utilisé	89
Tableau 24 :	Caractéristiques du broyage des végétaux	89
Tableau 25 :	Rapport volume de réactif / masse d'échantillon pour la mise en solution	91
Tableau 26 :	Caractéristiques de l'étape de calcination	91
Tableau 27 :	Réactifs utilisés pour la mise en solution des ETM sur les végétaux	92
Tableau 28 :	Systèmes de digestion utilisés	94
Tableau 29 :	Matériel analytique utilisé pour le dosage des ETM	94
Tableau 30 :	Choix de la méthode d'analyse par type de métal	95
Tableau 31 :	Limites de quantification mentionnées dans les protocoles répertoriés	96

Table des matières

Notice analytique	3
Sommaire	5
Introduction	6
Partie I : Les polluants à proximité des axes routiers : ETM et HAP	8
I. LA POLLUTION DES SOLS ET DES VÉGÉTAUX DUE AU TRAFIC ROUTIER	8
I.1. Les types de pollution	8
I.2. Les sources de pollution	9
I.3. Les niveaux de pollution	12
I.4. La dispersion des polluants aux abords des axes routiers	15
II. LES ETM : ÉLÉMENTS TRACES MÉTALLIQUES	17
II.1. Définition	17
II.2. Origine	17
II.3. Principales propriétés physico-chimiques	18
III. LES HAP : HYDROCARBURES AROMATIQUES POLYCYCLIQUES	19
III.1. Définition	19
III.2. Origine	19
III.3. Principales propriétés physico-chimiques	20
Partie II : Méthodes de dosage sur les sols	22
I. L'ANALYSE DES ETM ET HAP SUR LES SOLS	22
I.1. Introduction	22
I.2. Schéma général d'une analyse en laboratoire sur les sols	23
I.3. Précautions particulières	30
I.4. Présentation des résultats	30
I.5. Les méthodes rapides de terrain	30
II. DOSAGE DES ETM SUR LES SOLS : EXEMPLES DE PROTOCOLES	32
II.1. Présentation de la méthode	32
II.2. Liste des fiches présentées	32
II.3. Comparaison des méthodes	44
III. DOSAGE DES HAP SUR LES SOLS : EXEMPLES DE PROTOCOLES	55
III.1. Présentation de la méthode	55
III.2. Liste des fiches présentées	55
III.3. Comparaison des méthodes	59
Partie III : Méthodes de dosage sur les végétaux	64
I. L'ANALYSE DES ETM ET HAP SUR LES VÉGÉTAUX	64
I.1. Introduction : la biosurveillance végétale	64
I.2. Méthodes d'analyse des végétaux en laboratoire	65
II. DOSAGE DES ETM SUR LES VÉGÉTAUX : EXEMPLES DE PROTOCOLES	70
II.1. Présentation de la méthode	70
II.2. Liste des fiches présentées	70
II.3. Comparaison des méthodes	86
III. DOSAGE DES HAP SUR LES VÉGÉTAUX : EXEMPLES DE PROTOCOLES	99
III.1. Présentation de la méthode	99
III.2. Liste des fiches présentées	99
III.3. Comparaison des méthodes	102

Conclusion	103
Glossaire	104
Bibliographie	105
Annexes	108
ANNEXE 1 MÉTHODES ANALYTIQUES DE LABORATOIRE	109
ANNEXE 2 LISTE DES NORMES RELATIVES AU DOSAGE DES ETM ET HAP	115
ANNEXE 3 PROTOCOLE DE PRÉLÈVEMENT DES PLANTES DE L'INRA DE BORDEAUX	117
Table des illustrations	118
Table des matières	119

© ministère de l'Équipement, des Transports, de l'Aménagement du territoire, du Tourisme et de la Mer
centre d'Études sur les réseaux, les transports, l'urbanisme et les constructions publiques

Toute reproduction intégrale ou partielle, faite sans le consentement du Certu est illicite (loi du 11 mars 1957).
Cette reproduction par quelque procédé que ce soit, constituerait une contrefaçon sanctionnée par les articles 425 et suivants du code pénal.

Reprographie: CETE de Lyon ☎ (+33) (0) 4 72 14 30 30 (décembre 2004)
Dépôt légal: 4^e trimestre 2004
ISSN: 1263-2570
ISRN: Certu/RE -- 04-21 -- FR

Certu
9, rue Juliette-Récamier
69456 Lyon cedex 06
☎ (+33) (0) 4 72 74 59 59
Internet <http://www.certu.fr>