

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET
POPULAIRE**

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

INSTITUT DES SCIENCES DE LA MER ET DE L'AMENAGEMENT DU LITTORAL

MEMOIRE

Présenté en vue de l'obtention du diplôme

d'Ingénieur d'Etat en Halieutique

Option : Pollution - Marine

THEME

*Evaluation de la pollution phénolique
dans les eaux usées*

PREPARES PAR MRS :

Mr RAMDANI Abdelkader

Et

Mr NAIT-CHALAL Zohir

DEVANT LA COMMISSION DE JURY SUIVANTE :

Mr W. REFES

Mr M.H. GUERMOUCHE

Mr S. SEBBIH

Mr B. SELLALI

Mr M. ROUBAH

Président

Promoteur

Promoteur

Co-Promoteur

Examineur



Sommaire

Sommaires

	<i>Pages</i>
<i>Introduction</i>	<i>1</i>
<i>Chapitre 1 : Généralités et site d'étude.</i>	
<i>1 – Généralités sur la pollution des eaux.</i>	<i>3</i>
<i>1.1– Les micropollutions chimiques des eaux.</i>	<i>3</i>
<i>2 – Généralités sur la pollution phénolique.</i>	<i>4</i>
<i>2.1 – Définition.</i>	<i>4</i>
<i>2.2 – Propriétés physiques.</i>	<i>5</i>
<i>2.3 – Propriétés chimiques.</i>	<i>5</i>
<i>2.4 – Préparation des phénols.</i>	<i>6</i>
<i>2.5 – Origine.</i>	<i>7</i>
<i>2.5.1 – Principales industries</i>	<i>8.</i>
<i>2.5.1.1 – Raffineries du pétrole et industrie pétrochimiques.</i>	<i>8</i>
<i>2.5.1.2 – Produits chimiques organiques.</i>	<i>9</i>
<i>2.5.1.3 – Industrie de la mélanine et résine.</i>	<i>9</i>
<i>2.5.1.4 – Industrie pharmaceutiques.</i>	<i>10</i>
<i>2.7 – Seuil de toxicité.</i>	<i>10</i>
<i>3 – Site d'étude.</i>	<i>12</i>
<i>2.2 – Choix et localisation des stations.</i>	<i>14</i>

Chapitre 2 : Evaluation des phénols totaux par colorimétrie.

1 – Introduction	16.
2 – Méthode d'échantillonnage et prétraitement.	16
2.1 – Matériel utilisé.	16
2.3 – Echantillonnage, prétraitement.	17
2.3 – Méthodes analytiques existantes.	17
2.3.1 – Méthode spectrométrique infrarouge.	19
2.3.2 – Méthode volumétrique.	19
2.3.3 – Méthode colorimétrique (spectrophotométrique).	20
2.3.4 – Méthode HPLC.	20
3 – Les paramètres physico-chimiques.	20
4 – Principales méthodes colorimétriques utilisées.	20
4.1 – Méthode de Gibbs.	20
4.2 – Méthode à l'acide nitreux.	22
4.3 – Méthode à l'amino-4 antipyrine.	22
5 – Partie expérimentale.	23
5.1 – Echantillonnage.	23
5.2 – Conservation.	23
5.3 – Réactifs.	24
5.4 – Matériels utilisés.	26
5.5 – Distillation.	26
5.6 – Extraction.	27

5.7 – Protocole expérimental	27.
5.7.1 – Méthode adaptée aux teneurs supérieures à 0,5 mg/L.	27
5.7.2 – Méthodes adaptée aux teneurs comprises entre 0,025 et 0,5 mg/L.	28
5.8 – Préparation du blanc.	31
5.9 – Etalonnage.	31
5.9.1 – Etablissement de la courbe d'étalonnage pour les teneurs supérieures à 0,5 mg/L.	31
5.9.2 – Etablissement de la courbe d'étalonnage pour les teneurs comprises entre 0,025 et 0,5 mg/L.	32
5.10 – Dosage.	33
6 – Résultats.	34
6.1 – Résultats des paramètres physico-chimiques.	34
6.2 – Résultats de la méthode colorimétrique.	35
6.2.1 – Etalonnage.	35
6.2.1.1 – Résultats pour les teneurs comprises entre 0,025 et 0,5 mg/L.	35
6.2.1.2 – Résultats pour les teneurs supérieures à 0,5 mg/L.	36
6.2.2 – Dosage.	36
6.3 – Interprétation des résultats.	40
Conclusion	44

**Chapitre 3 – Evaluation des différentes formes des phénols par chromatographie
liquide à haute performance (HPLC).**

1 – Introduction.	47
2 – Principe.	48
3 – Méthode chromatographique utilisée.	50
3.1 – Introduction.	50
3.2 – Système de chromatographie liquide.	51
3.3 – Phase mobile.	53
3.4 – Phase stationnaire.	54
3.5 – Détecteurs.	55
4 – Partie expérimentale.	56
4.1 – Appareillage.	56
4.2 – Réactifs.	57
4.3 – Méthodes utilisées.	60
4.3.1 – Extraction.	60
4.3.2 – Etude qualitative.	60
4.3.3 – Etude quantitative.	61
5 – Résultats et discussions.	63
5.1 – Temps de rétention et hauteur du pic.	63
5.1.1 – Etalons du phénol extrait et du phénol non extrait.	63
5.1.2 – Etude qualitative.	63
5.1.3 – Etude quantitative.	65
- Interprétation des résultats.	68
Conclusion.	73

Conclusion Générale

75.

Annexe.

Bibliographie.

INTRODUCTION

Parmi les problèmes qui, chaque jour, s'offrent à l'activité de l'hygiéniste, celui de la pollution des eaux est sans aucun doute, l'un des plus importants. Il n'est, pour s'en rendre compte, que de parcourir la longue liste des ouvrages qui, tant à l'Etranger qu'en Algérie, traitent de cette question.

Cependant, la richesse même d'une telle littérature rend plus saisissante encore une contestation qui, dès l'abord, s'est imposée à nous : les travaux ont eu surtout pour objet les recherches sur la pollution des eaux usées.

Une notion qui est couramment répandue dans le public, c'est que l'eau de mer est peu contaminée .

Cette fausse conception est à l'origine de l'insouciance quasi générale du profane en face d'une des sources les plus sûres de contagion inter-humaine . Car s'il est vrai que l'eau du large peut être considérée comme exempte de souillures , il en va tout autrement de l'eau captée près du littoral .

Il n'en est pas moins contestable que les eaux d'égouts constituent la cause de beaucoup la plus importante de la pollution marine.

Au cours des années soixante, la pollution des eaux continentales, océaniques et littorales s'est accrue à un rythme alarmant (Ramade , 1982). Les progrès de cette pollution reflètent fidèlement ceux de la croissance industrielle.

L'histoire de Oued El Harrach est un exemple vivant à cet égard, ce fut un oued sain et propre, il est devenu un égout à ciel ouvert.

-

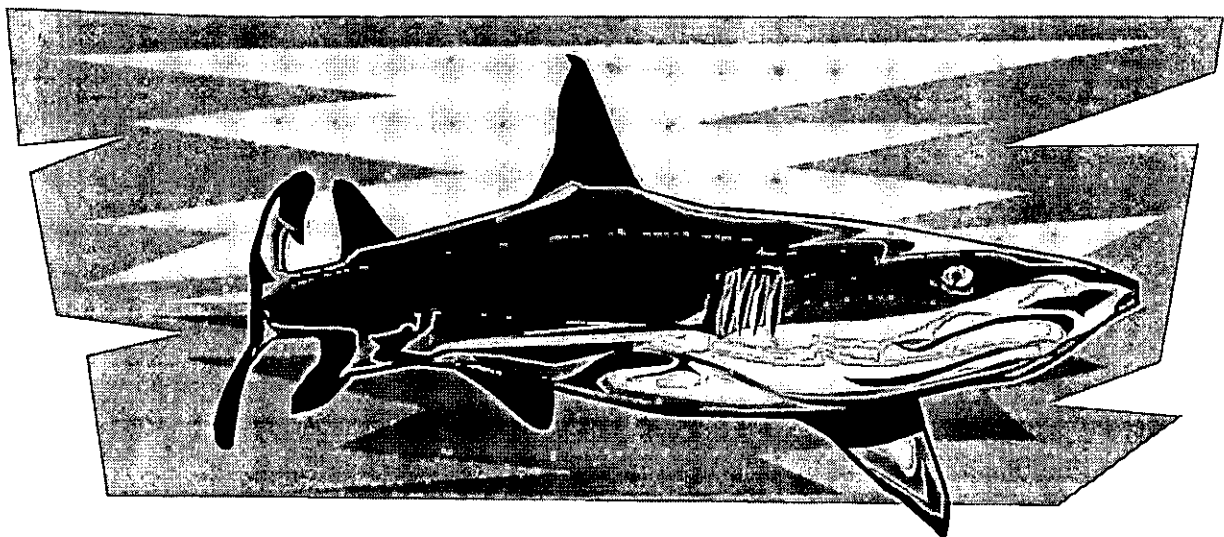
Dans le cadre du thème principal, " évaluation de la pollution phénolique dans les eaux usées ", nous présentons dans une première partie des généralités sur la pollution phénolique, son origine, son évolution et sa dépollution.

On parlera également de quelques méthodes évaluant les traces de phénols dans l'eau.

Un chapitre est consacré à l'évaluation globale des phénols totaux avec l'4-aminoantipyrine, méthode appliquée au dosage des phénols dans les eaux potables et polluées.

Enfin, nous avons mis en œuvre une technique permettant une évaluation de différentes formes des composés phénoliques, c'est la chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC).

Chapitre 1



GENERALITES ET SITE D'ETUDE

1 - Généralités sur la pollution des eaux :

La pollution est une modification généralement provoquée par l'homme, dans la qualité de l'eau, qui la rend impropre ou dangereuse à la consommation humaine, à l'industrie, à l'agriculture, à la pêche, aux loisirs aux animaux domestiques et à la vie sauvage.

L'évacuation des déchets ou d'eaux usées, qui provoque des pollutions d'ordre physique, chimique, organique, thermique, ou radioactif, ne doit pas mettre en danger la santé publique et doit tenir compte de l'aptitude des eaux à assimiler (par dilution ou auto-épuration) les résidus déchargés. Les aspects sociaux et économiques des méthodes de traitement des eaux revêtent une grande importance à cet égard.

Pour terminer ce tour d'horizon sur la signification du terme de pollution, on peut encore distinguer diverses catégories de pollutions en considérant la nature même de ces dernières, plus que leurs origines.

La pollution organique est essentiellement due aux déversements, dans les cours d'eau, les lacs ou la mer, des égouts urbains ou des égouts particuliers raccordés directement au milieu récepteur.

La pollution chimique des eaux est créée généralement par les déversements d'établissements industriels. Elle est plus ou moins nocive, selon la nature des substances dissoutes dans l'eau (exemple : pollution par les phénols) et selon les concentrations de ces substances.

1.1 - Les micropollutions chimiques des eaux :

On appelle micropolluants les corps chimiques qui, étant à l'origine de nuisances et pouvant se trouver ou s'accumuler dans les eaux, échappent à l'analyse grossière. On donne aussi une définition plus nuancée en disant que les micropolluants sont les corps qui ne sont pas communément mis en cause par les normes de qualité officielles, mais dont les effets organoleptiques et sanitaires sont soit certains, soit même simplement soupçonnés. Il faut ajouter que des corps contenus dans les eaux, à des teneurs inférieures à celles qui sont tolérées par les normes, peuvent être à l'origine de nuisances et sont aussi des micropolluants.

Les toxicologues font observer que le véritable danger actuel provient moins des surcharges en pollution banale que de la présence dans les eaux de traces très ténues de corps qu'on a proposé d'appeler des oligopolluants mais qu'il est d'usage d'appeler micropolluants.

2 - GENERALITES SUR LA POLLUTION PHENOLIQUE.

2.1 - Définition :

Si l'on se tient à une définition stricte, les phénols appelés aussi benzènes Hydroxylés sont des composés organiques cycliques à noyau aromatique, qui renferment des atomes de carbone, d'hydrogène en plus d'un groupement OH.

Les phénols de formule générale Ar-OH, sont des composés comportant un ou plusieurs groupes hydroxyles OH, liés à un groupe aromatique, celui-ci peut être un groupe phényl ou oxyle d'un composé aromatique. Le plus simple des phénols est le phénol dérivé monohydroxylé du benzène.

Les phénols se comportent à la fois comme des réactifs nucléophiles (réaction sur l'oxygène) et comme des substrats nucléophiles (réaction sur le cycle), ce dernier point les différencie des alcools qui réagissent comme des substrats électrophiles ; des réactions irréalisables avec le benzène deviennent possibles avec le phénol, par exemple les sels de diazonium aromatiques, faiblement électrophiles ne réagissent qu'avec des substrats très nucléophiles tel que les phénols.

Les phénols sont insolubles dans les solutions aqueuses de base faible (carbonate de sodium) mais solubles dans les solutions de base forte (NaOH, KOH) sous forme de phénates.

2.2 - Propriétés physiques :

Les phénols, peu solubles dans l'eau, sont très solubles dans les solvants organiques. La déshydratation interne des phénols est impossible car la liaison C-OH est équivalente à une double liaison donc plus difficile à rompre que celle des alcools, les phénols ne donnent pas lieu à des réactions de substitution du groupe OH.

Les atomes de carbone en ortho et para du groupe hydroxyle sont des sommets de forte densité électronique, ils sont donc plus facilement attaqués par des réactifs électrophiles que dans le benzène.

Les points d'ébullition conditionnent la vitesse à laquelle les phénols les plus volatiles vont s'évaporer à la surface de l'eau. Ils sont aux alentours de 180°. Quant aux points de fusion, ils ne dépassent pas 40 ° (The Merck index, 1976).

2.3 - Propriétés chimiques :

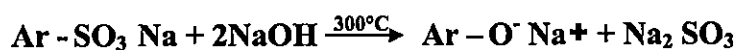
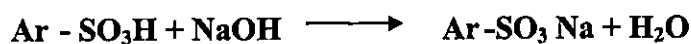
Les phénols ont une acidité comparable à celle des thiols : $pK_a = 10$, ils sont moins acides que les acides carboxyliques, mais plus acides que les alcools. Leur acidité

dépend de la nature des substituants, en général, les substituants électron attracteurs augmentent l'acidité en stabilisant l'ion phénate, alors que les substituants électron donneurs le déstabilisent ; le phénol donne des sels avec des solutions basiques aqueuses : il est plus acide dans l'eau.

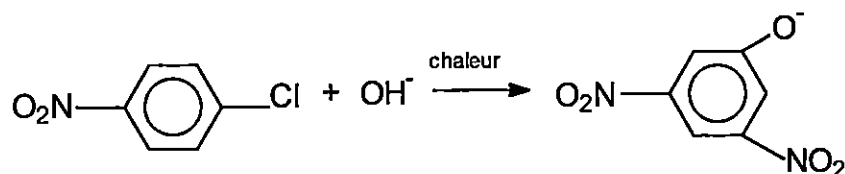
Pour l'oxydation, en présence de chlorure ferrique F_2Cl_3 les phénols dihydroxylés sont facilement oxydés en quinones intenses colorées.

2.4 - Préparation des phénols :

- A partir d'acide benzène monosulfonique par fusion alcaline

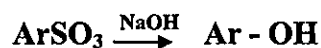


- A partir d'halogénures d'aryles



Toutes les préparations importantes des phénols mettent en jeu des réactions qui sont :

- La fusion des acides arenesulfonique avec la soude



- Hydrolyse des halogénures benzéniques avec la soude à haute température

- L'hydrolyse des sels d'arène diazonium



Une préparation industrielle importante du phénol implique l'oxydation du cumène, un hydrocarbure bon marché en hydroperoxyde de cumène, cette oxydation de type radicalaire est particulièrement facile vu que le radical cumyle est tertiaire et benzylique l'hydroxyle est ensuite traité avec l'acide sulfurique pour donner le phénol et l'acétone.

Les phénols peuvent être convertis en esters mais pas par réaction directe avec les acides carboxyliques.

2.5 - Origine :

Le phénol qui est un constituant du goudron de houille, se forme au cours de la décomposition naturelle des substances organiques. La majeure partie du phénol présent dans l'environnement provient cependant de l'activité humaine.

Les sources potentielles en sont la production et l'utilisation, tel quel ou sous forme de dérivés, en particulier de résines phénoliques et de caprolactane, les gaz d'échappements, la combustion de bois de construction et la fumée de cigarette. Une autre source potentielle est constituée par la dégradation atmosphérique du benzène. Les dérivés du benzène et du phénol peuvent, par conversion in vivo, constituer une source d'exposition humaine endogène (Environmental Health Critéria, 1994).

Le phénol présent dans l'eau et le sol peut être décomposé par des réactions Abiotiques ainsi que par l'activité microbienne en un certain nombre de produits, dont les plus importants sont le dioxyde de carbone et le méthane. La part des réactions biologiques dans la décomposition globale du phénol dépend de nombreux facteurs tels que la concentration, l'acclimatation, la température et la présence d'autres

composés. (Environmental Health Critéria, 1994).

Les phénoplastes sont utilisées pour la fabrication des vernis, laques, peintures, résols liquides, articles de ménage, appareils photos, isolant thermique (mousse phénolique).

Les composés benzéniques hydroxylés (ou phénols) sont diffus dans les déchets domestiques et industriels. Les produits qui donnent lieu à des rejets phénoliques sont :

- Les produits aromatiques industriels tels que : le coke, l'amiante, les peintures, les parfums et les pesticides (Pesticides et fongicides).
- La production chimique organique
- La production des matières plastiques
- L'industrie de la mélanine et résines
- L'industrie du papier
- L'industrie pharmaceutique
- Les raffineries du pétrole et industrie pétrochimiques.

2.5.1 - Principales industries :

2.5.1.1 - Raffineries du pétrole et industries pétrochimiques :

Les déchets phénoliques sont produits presque dans toutes les phases du procédé. Après le fractionnement du pétrole brut, les eaux de décharge contiennent des phénols, des sulfures, des chlorures d'ammoniaque et des mercaptans. Aussi bien le cracking chimique ou catalytique, que l'hydrocracking, donnent lieu à un débit majeur des eaux de déchets. Les concentrations en phénols dans les effluents sont de 50 à 200 mg/l pour la distillation du pétrole brut, 20 à 100 mg/l pour le cracking et 5 à 50 mg/l pour les procédés pétrochimiques (O.M.S, 1979).

L'aspect des déchets est un ensemble de fractions d'huiles flottantes et dissoutes. En général, l'eau peut-être de couleur noire et peut-être améliorée par l'inclusion d'une section de traitement des eaux. Un procédé de traitement typique comprend des séparateurs, des lagunes, un traitement à boues actives, une sédimentation et une addition de produits chimiques. A la suite de ce traitement, la concentration en phénols et en composés aromatiques sera presque égale à zéro.

2.5.1.2 - Produits chimiques organiques :

Les déchets proviennent de la condensation de la vapeur, du rinçage des appareils, de la préparation des produits et de la régénération des catalyseurs. Les concentrations en phénols, pour ces catégories sont respectivement de 0 à 15 , 0 à 6 et 0 à 150 mg/l (OMS, 1979).

Les détritits seront aqueux éventuellement, colorés et laiteux. La plupart des déchets Phénoliques proviennent de la phase aqueuse des réactions, lesquelles sont continues, l'effluent sera donc continu.

Les systèmes de traitement sont semblables à ceux des raffineries, on peut utiliser des traitements biologiques. Une alternative possible est l'absorption par le charbon actif, les concentrations dans les effluents seront donc voisines de zéro.

2.5.1.3 - Industrie de la mélanine et résine :

Les composés du phénol sont délivrés par les procédés de productions des résines, des laminés plastiques mélaniques. La production des colles et des adhésifs pour le bois contre-plaqué, les feuilles isolantes.... produits également des déchets contenant du phénol et des solvants aromatiques. La production des résines

telle que l'urée-phénol aldéhyde et des poudres l'étampage est également associée à des émissions de phénols et autres substances aromatiques.

Les déchets du procédé contiennent jusqu'à 100 mg/l de phénols, associés à l'acide phénique, aux aldéhydes et à l'acétone (OMS, 1979).

Les déchets sont normalement acides, les rejets complexifs de l'établissement contiennent de 5 à 10 mg/l de phénols (OMS, 1979).

Les déchets sont troubles, odorants, colorés de rouge - noir avec des solides en suspension et des boues. A peu près 100 m³ de déchets sont produits par tonne de résine, desquels environ 5 m³ par tonne de produits sont des déchets de procédés riches en phénols (OMS, 1979).

Un traitement à la chaux produira la précipitation de calcium. Ce précipité, une fois séparé pourra être évaporé jusqu'à la formation d'une boue épaisse qui sera évacuée comme déchets dangereux, sur un site contrôlé, ou incinéré. La concentration en phénols après ce traitement sera inférieure à 100 mg/l ou à 0,5 mg/l dans l'effluent total. (OMS, 1979).

2.5.1.4 - Industries pharmaceutiques :

Les déchets produits par ces industries contiennent de nombreuses substances aromatiques parmi lesquelles : benzène, phénols,...

En considération de la diversité des industries du secteur, nous ne fournissons aucun détail spécifique.

2.7 - Seuil de toxicité :

Les produits phénoliques sont sources de pollution de l'environnement. Ils sont introduits dans l'air et les eaux, soit directement à partir des effluents industriels,

soit indirectement comme produits de dégradation. Du fait qu'ils sont difficilement biodégradables et toxiques (produits cancérigènes) ils créent une demande d'oxygène et altèrent la saveur et l'odeur de l'eau.

Il suffit d'une concentration de 0,01 à 0,1 mg/l dans l'eau (Ouadjenak, 1986), pour que le phénol soit perceptible par l'odorat humain.

Des cas bien documentés d'exposition humaine au phénol par la voie percutanée, buccale ou intraveineuse, ont donné lieu à l'observation d'effets indésirables très divers. Il a été fait état d'une irritation des voies gastro-intestinales après ingestion de phénol. Après exposition de la peau, les effets observés localement vont d'un blémissement cutané indolore ou d'un érythème à la corrosion et à la nécrose profonde. Parmi les effets généraux, on a noté les troubles suivants : arythmies cardiaques, acidose métabolique, hyperventilation, détresse respiratoire, insuffisance rénale aiguë (notamment des convulsions), choc cardio-vasculaire, coma et mort. La dose orale la plus faible qui ait entraîné un décès humain était de 4,8 g ; la mort est survenu dans les 10 minutes. (Environnement Health Critéria, 1994).

Dans l'eau potable, lorsque les phénols existent, la présence du chlore utilisé comme Désinfectant amplifie l'intensité de son odeur par formation de chlorophénol beaucoup plus toxique.

Selon l'agence de protection de l'environnement Américaine, la quantité maximale de phénol tolérée dans l'eau potable est de 1 mg/l (Crompton, 1985).

Cependant, les composés phénoliques sont également utilisés comme additifs antioxydants pour la conservation des produits alimentaires cosmétiques et pharmaceutiques, à titre d'exemple, la protection des produits contenant des huiles et

des graisses susceptibles de roussir, est assurée par la combinaison de deux ou plusieurs antioxydants phénoliques dont les plus importants sont:

- 3,5 ditertiobentyl - 4 hydroxytolène (BHT)
- Tertiobentyl hydroxyquinone (TBHQ) (Ouadjenak, 1986).

3 – Site d'étude : (carte n°1)

Notre zone d'étude se situe dans la baie d'Alger plus exactement près de Bab-el-Oued « Kaa-Sour ». C'est une zone protégée par un grand mur qui fait 5 mètres de hauteur ; au contact de la mer il y a deux (02) grandes canalisations où se déversent toutes les eaux usées urbaines et domestiques de cette région.

La baie d'Alger est située dans la partie centrale de la côte algérienne. De forme semi-circulaire, elle est délimitée à l'est par le Cap Matifou et à l'ouest par la Pointe Pescade. La limite du plateau continental est pratiquement en ligne droite entre la Pointe Pescade et le Cap Matifou.

Pour la présente étude, « Kaa-Sour » à l'ouest du port d'Alger, a été choisie pour les raisons suivantes :

- Une population importante en nombre avec un taux démographique parmi les plus élevés au monde.
- Une activité urbaine et rurale importante
- Zone protégée, faible renouvellement des eaux

Les principales sources de pollution sont :

- Les émissaires urbains d'Alger centre et Alger centre-ouest qui déversent en mer les déchets domestiques et industriels et aussi les rejets du centre hospitalo-universitaire de Bab-el-Oued.

Carte n°1 - Site d'étude

OUED

Piscine

Keltani

ALGER

Ilot de la M

MASBAH

Place J. J. Moitte



- Le nombre important des pêcheurs à la ligne et des petites barques quotidiennement.

La pollution est surtout de type domestique, elle est accentuée selon le sens des courants.

La connaissance des courants est très importante pour estimer l'influence de la pollution. Ceux-ci déterminent les phénomènes de mélange, de dilution et de transport des polluants.

Le principal courant rencontré est le courant atlantique de surface qui longe les côtes algériennes d'Ouest en Est et peut engendrer des contre-courants au niveau des baies et golfes.

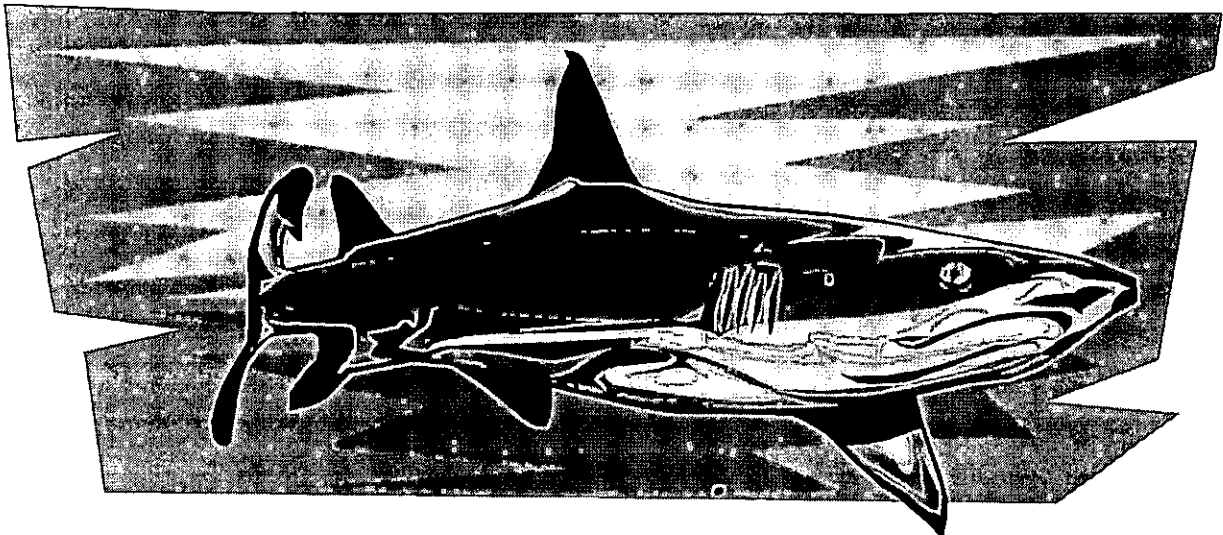
3.1 - Choix et localisation des stations : (carte n°2)

La trame d'échantillonnage a été établie tout d'abord directement des deux (02) égouts, et puis selon des radiales et un dernier échantillon qui est pris à la perpendiculaire aux deux égouts et aux trois radiales, et enfin un dernier échantillon est prélevé aux environs d'une zone industrielle (Oued de Reghaia), à titre comparatif. Les prélèvements des échantillons ont été effectués au cours de deux sorties, la première en juillet 99 pour l'analyse par colorimétrie et par HPLC ; et la deuxième en Janvier 2000 pour l'analyse des paramètres physico-chimiques in situ.



Carte n°2 - Localisation des stations

Chapitre 2



EVALUATION DES PHENOLS TOTAUX PAR

COLORIMETRIE

1 / INTRODUCTION :

Une variété de méthodes d'évaluations globales (colorimétriques) des composés phénoliques sont préconisés :

- Méthode colorimétrique de Gibbs (au 2.6-dibromoquinone – chloroïmide)
- Méthode colorimétrique à l'acide nitreux
- Méthode colorimétrique à l'amino-4 antipyrine qui est la plus recommandée.

2 – Méthode d'échantillonnage et prétraitement :

Dans cette partie sont décrites toutes les étapes de l'échantillonnage et prétraitement précédant l'analyse.

2.1 - Matériel utilisé :

Un soin tout particulier a été pris pour éviter toute contamination tant qu'au moment du prélèvement qu'au laboratoire. Les flacons utilisés lors du traitement des échantillons ont subi les opérations suivantes :

- Lavage avec de l'acide chlorhydrique (HCl) rinçage avec l'eau courante
- Lavage avec un détergent, rinçage avec l'eau distillée puis aux solvants organiques (méthanol, hexane).
- Séchage dans un four à 120°C.

2.2 - Echantillonnage, pré-traitement :

Les moyens de prélèvements utilisés lors de l'échantillonnage en milieu marin peuvent être une source de contamination du milieu étudié.

Pour cela les prélèvements ont été effectués tout d'abord directement des deux (02) égouts. Quatre (04) échantillons ont été pris au niveau de chaque égout, ensuite à bord d'une barque, les échantillons ont été collectés à un (01) mètre de la surface et à la verticale de chaque station. Trois (03) radiales ont été sélectionnées, la première suit le sens du déversement des eaux usées dans la mer à partir du premier égout, la troisième radiale suit le sens du déversement des eaux usées dans la mer du deuxième égout, et la deuxième radiale se situe entre la première et la troisième radiale ; chaque radiale comprend trois (03) stations qui sont distantes l'une par rapport à l'autre de cinq (05) mètres ; la dernière station se situe à cinquante (50) mètres des deux égouts et en parallèle des trois radiales (carte n°2).

Les échantillons sont conservés dans des bouteilles (verre fumé) préparées à cet effet. La figure n°1 montre le dispositif d'échantillonnage.

Aussitôt après les prélèvements, les échantillons ont été ramenés au laboratoire et additionnés de sulfate de cuivre à raison de 1 ml pour 100 ml d'échantillon. Ces échantillons sont alors conservés à 4°C.

2.3 - Méthodes analytiques existantes :

L'analyse des polluants organiques dans l'eau est en plein essor depuis une vingtaine d'années.

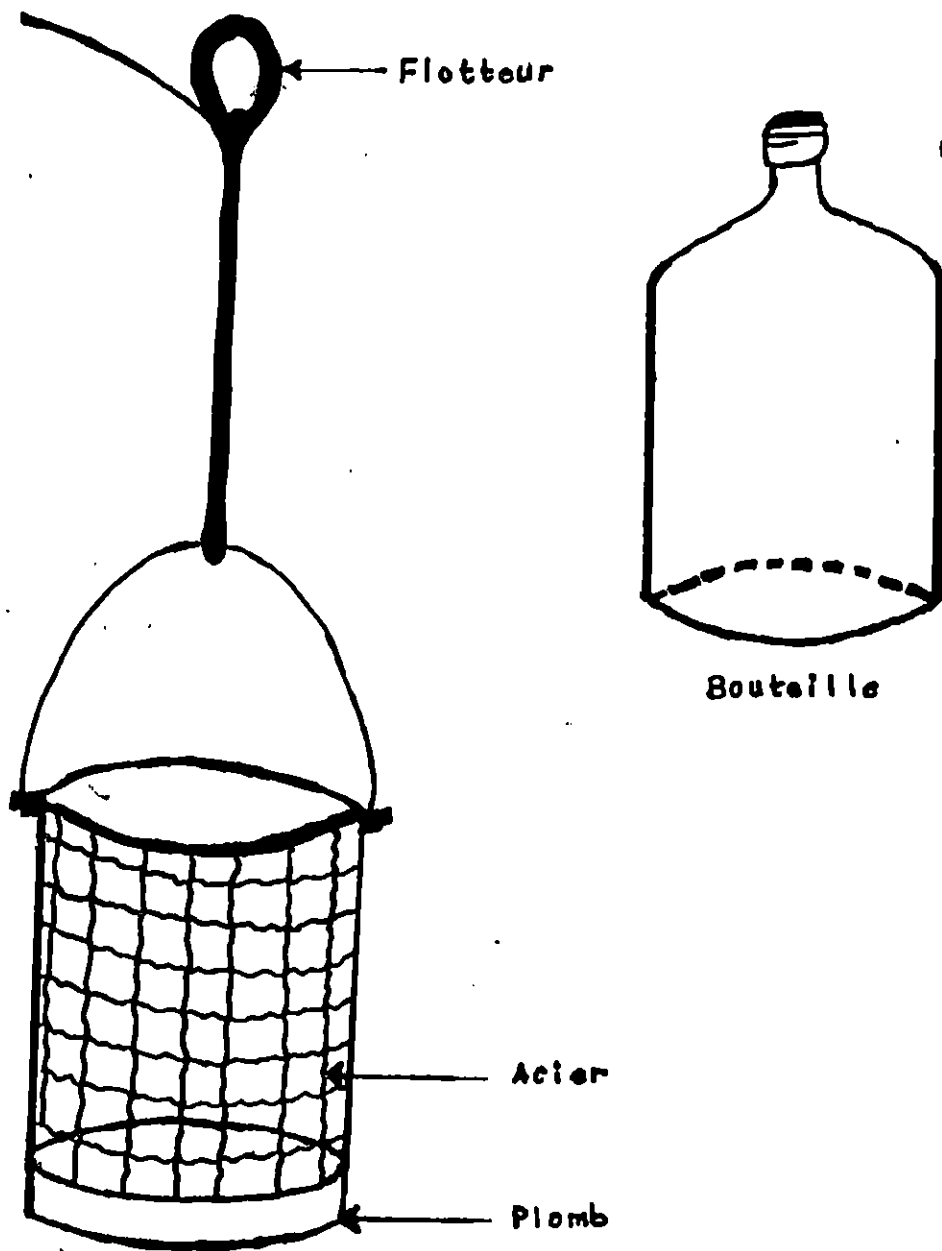


Figure n° 2. Dispositif d'écrantillage

L'analyse dispose à cet effet de différentes techniques de mesures en fonction des objectifs recherchés. La spectrométrie infra rouge, la volumétrie, la colorimétrie, les méthodes chromatographiques, etc.

2.3.1 - Méthode spectrométrique infrarouge :

Elle permet de doser les phénols dans l'eau jusqu'à 0,01 mg/l (Rodier, 1984), elle s'applique aux composés phénoliques susceptibles d'être bromés en position ortho et en respectant le groupement hydroxyle, ce qui exclut le dosage des phénols déjà substitués.

Après action du brome et extraction des composés bromés, les phénols sont dosés par spectrométrie infrarouge à 2,84 μ .

2.3.2 - Méthode volumétrique :

Elle convient surtout pour des quantités de produits phénoliques supérieures à 1 mg/l (Rodier, 1984). Elle permet de doser totalement les phénols non substitués. En ce qui concerne les dérivées monosubstituées, il est nécessaire de tenir compte de coefficients pour effectuer le calcul, les dérivés trisubstitués ne sont pas dosés. D'une mise en oeuvre rapide, si les quantités sont suffisantes, elle permet le contrôle du déphénolage des eaux industrielles et la surveillance des eaux résiduaires d'industries entraînant des pollutions importantes. C'est une méthode qui consiste à soumettre le phénol à une bromuration, puis un dosage par iodométrie après concentration et purification de l'échantillon.

2.3.3 - Méthode colorimétrique : (Spectrophotométrie)

Elle permet d'évaluer globalement la pollution phénolique, et est appliquée au dosage des phénols dans les eaux potables et polluées (Rodier, 1984).

2.3.4 - Méthode HPLC :

Cette technique permet d'estimer la totalité des phénols de caractériser la nature de la contamination par un profil chromatographique caractéristique (Tellia, 1994).

3 - Les paramètres physico-chimiques :

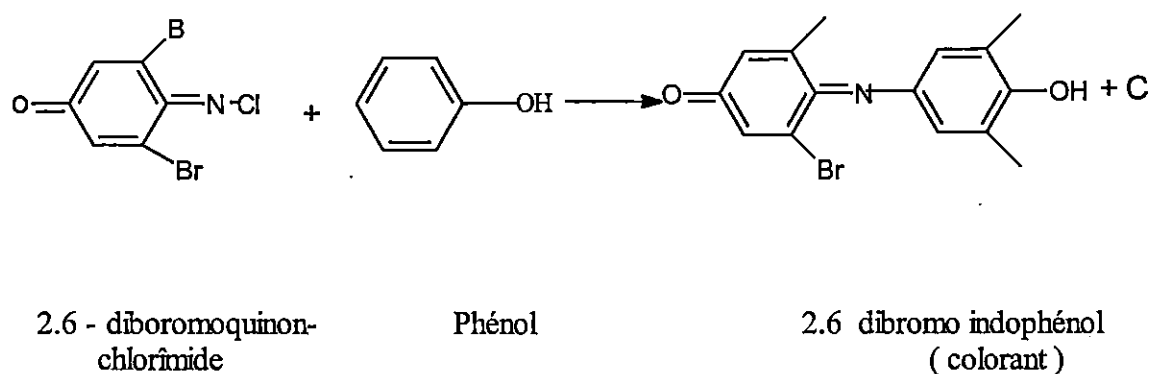
L'étude physico-chimique des eaux de la baie d'Alger a fait l'objet de nombreux travaux entrepris par l'institut océanographique d'Alger dans le cadre de ses recherches. Pour l'analyse des paramètres physico-chimiques in situ on a utilisé un pH mètre pour l'analyse du potentiel d'hydrogène. Un oxymètre pour la mesure de l'oxygène dissous, et un conductimètre pour la mesure de la salinité.

4 / PRINCIPALES METHODES COLORIMETRIQUES :

4.1 / Méthode de Gibbs :

L'analyse quantitative des phénols par colorimétrie a été réalisée durant plusieurs années selon la méthode de Gibbs qui consiste à former des produits colorés par action en milieu basique du 2,6- dibromoquinone – chloroïmide

sur les phénols (non substitués dans la position para). En milieu alcalin (pH 9,4 environ) et après extraction à l'éther, le phénol et ses homologues immédiatement supérieurs (crésols, naphthols, etc.) donnent avec la 2.6 - dibromoquinone - chloroîmide, des indophénols susceptible d'un dosage colorimétrique. Thériault à utilisé un tampon de borate pour ajuster le pH à 9,4. Le shéma réactionnel est le suivant (Ouadjenik, 1986).

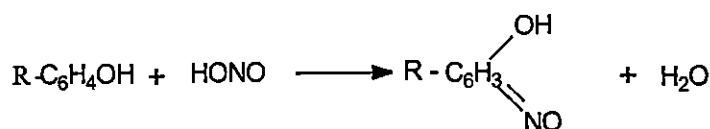


Néanmoins, cette méthode n'est pas aisée, car elle nécessite d'une part un contrôle rigoureux de la température (celle de l'échantillon doit être la même que celle des solutions étalons) et d'autres part, un temps très long pour la formation complète du complexe coloré 2.6 - dibromo indophénol (6 à 24 heures).

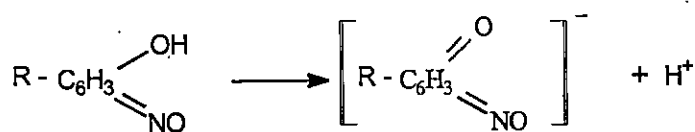
Ettinger et Ruchhoft ont montré que les courbes d'étalonnage des phénols données par la méthode de Gibbs ne sont pas reproductibles et qu'une relation linéaire était obtenue lorsque les concentrations sont supérieures à 100 ppm (Ouadjenik, 1986).

4.2/ Méthode à l'acide nitreux :

La formation des nitrophénols est un autre moyen colorimétrique pour mettre en évidence les phénols substitués en ortho, méta et para, selon la réaction suivante (Crompton, 1985).



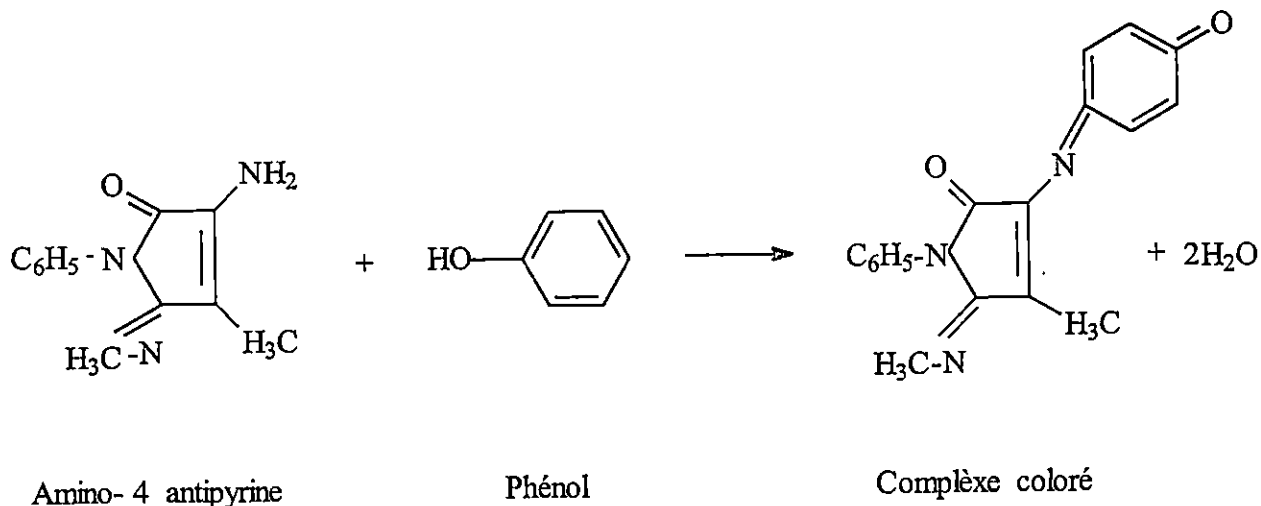
Phénols Acide nitreux Nitrosophénols



Sel quinoïdal

4.3/ Méthode à l' amino-4 antipyrine :

Dans le but d'une évaluation plus rigoureuse de la pollution engendrée par les phénols, la méthode à l' amino-4 antipyrine a fait l'objet de notre étude. C'est une technique colorimétrique très largement utilisée. Les phénols réagissent avec l' amino-4 antipyrine en milieu alcalin et en présence de ferricyanure de potassium comme agent oxydant et former une coloration extractible par un solvant organique qui est le chloroforme. Le pH était maintenu au voisinage de 10.



5 / PARTIE EXPERIMENTALE :

Pour notre partie expérimentale nous avons sélectionné la méthode à l' amino-4 antipyrine qui est la plus recommandée. C'est une technique colorimétrique très largement utilisée.

5.1/ Echantillonnage :

Le prélèvement des échantillons des deux égouts et de l'eau de mer est une opération délicate à laquelle le plus grand soin doit être apportée. En effet, les solutions très diluées de phénols se décomposent rapidement, les échantillons doivent être analysés dans les douzes (12) heures qui suivent le prélèvement, ou alors procéder à leurs conservations. Pour le recueil des échantillons, les bouteilles en verre fumé sont recommandés vivement pour éviter toute dégradation .

5.2/ Conservation :

La méthode Rödier recommande la solution de sulfate de cuivre à 100 g / l à raison de 10 ml / l d'échantillon, puis ajuster à $\text{pH} < 4$ avec une solution d'acide phosphorique au 1 / 10 en présence de Méthyl orange.

Conserver les échantillons à l'obscurité et au réfrigérateur à 4° C.

Il est précisé dans cette méthode que le cuivre a pour but d'éviter la dégradation bactérienne et permet d'éliminer l'interférence due aux sulfures, son action est renforcée par la stabilisation préalable du milieu grâce à l'acidification ($\text{pH} < 4$) au moyen d'acide phosphorique, qui à son tour limite les modifications chimiques liées à l'alcalinité du milieu.

5.3 / Réactifs :

- Eau distillée exempt de phénol et de chlore.
- Solution de sulfate de cuivre (CuSO_4) à 100 g / l.
- Solution d'acide phosphorique au 1 / 10.
- Solution tampon pH 9,5

34 g de chlorure d'ammonium

200 g de tartrate double de sodium et de potassium

285 ml d'hydroxyde d'ammonium ($d = 0,92$)

eau distillée q.s.p 1000 ml.

Ajuster le pH à 9,5 par addition d'hydroxyde d'ammonium

- Solution d' amino-4 antipyrine

2 g d' amino-4 antipyrine

eau distillée q.s.p 1000 ml

Dans un flacon en verre teinté, hermétiquement bouché, cette solution se conserve un mois si l'eau à été dégazée au préalable, dans le cas contraire, la renouveler chaque jour.

- Solution de ferricyanure de potassium

8 g de ferricyanure de potassium

eau distillée q.s.p 100 ml

Préparer cette solution chaque jour.

- Chloroforme
- Solution mère étalon de phénol à 1 g/l.

1 g de phénol

eau distillée 1000 ml

Conserver cette solution 1 mois à l'obscurité et à 4° C.

- Solution fille étalon de phénol à 10 mg/l

Diluer extemporanément la solution mère au 1 / 100

- Solution fille étalon de phénol à 1 mg/l

Diluer extemporanément la solution précédente au 1 / 5.

5.4 / Matériels utilisés :

La distillation et l'extraction ont nécessité :

- Appareil à distiller en verre de 1 litre comprenant :
 - 1 ballon à deux tubulures
 - 1 entonnoir à robinet
 - 1 réfrigérant
- Laine de verre dégraissée à l'hexane et traitée au mélange sulfochromique
- Ampoules à décanter
- Bêchers
- Fioles
- 1 colorimètre et 1 cellule de 1 cm de trajet optique.

Pour notre cas la distillation a été faite à l'aide d'un évaporateur rotatif (fig n° 2).

5.5 / Distillation :

C'est une méthode utilisée pour obtenir la séparation des constituants d'un mélange généralement liquide, en utilisant les volatilités différentes de ces constituants.

La phase liquide sous l'action de la chaleur passe à l'état de vapeur. Les vapeurs obtenues sont condensées par refroidissement, le liquide ainsi recueilli s'appelle distillat. L'efficacité de la séparation dépend des propriétés des constituants de

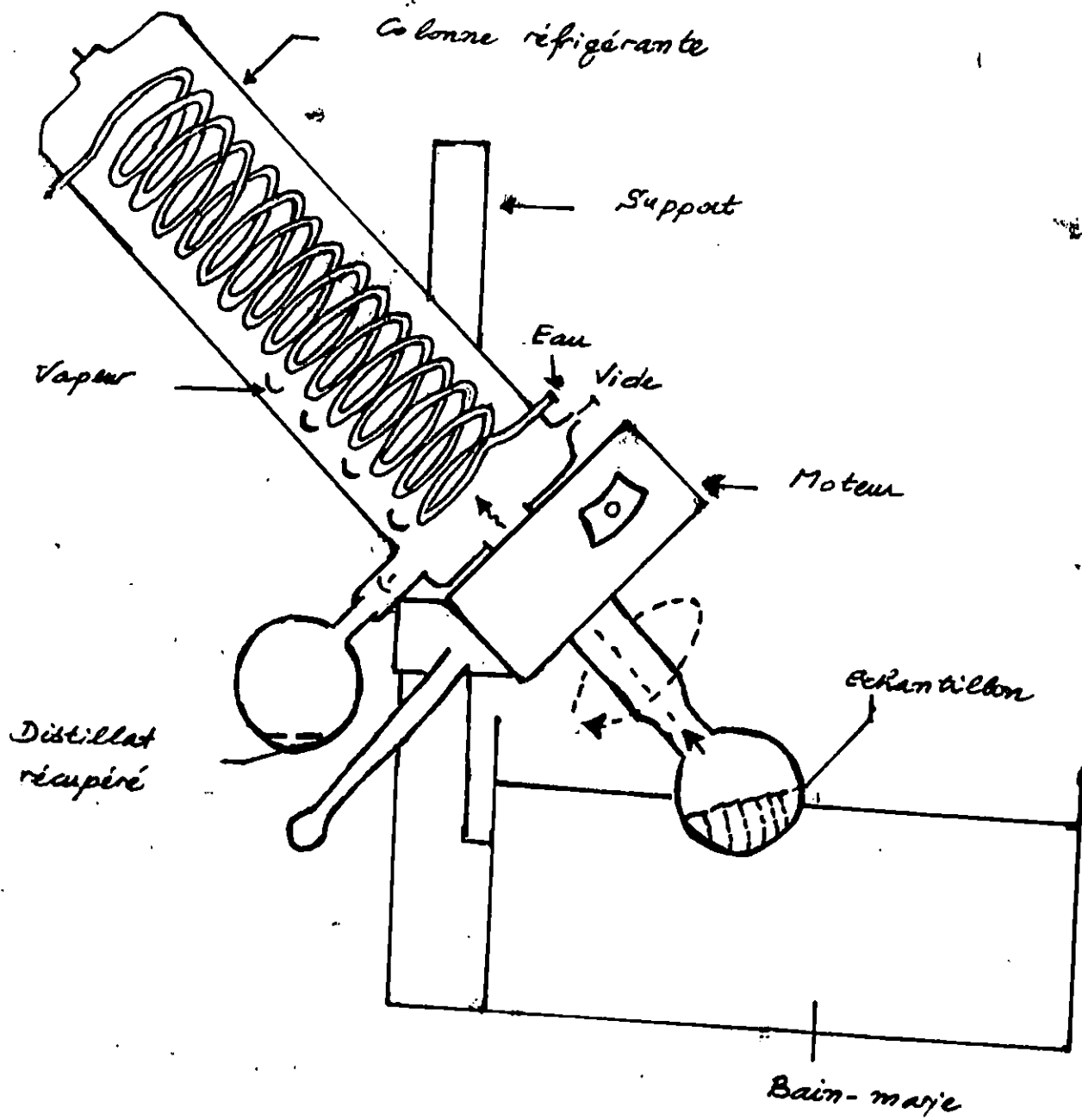


Figure n° 8, Évaporateur Rotatif

l'appareillage utilisé et des méthodes de distillation mise en oeuvre.

Au cours de notre distillation, le phénol est entraîné par la vapeur d'eau, suite au refroidissement, il passe à l'état liquide. Une fois, les 450 ml du distillat recueillies, on procède à l'extraction (Mahuzier, 1982).

5.6 / Extraction :

Elle permet de réaliser le transfert d'un soluté initialement contenu dans une phase solide ou liquide vers un solvant non miscible au premier milieu.

L'extraction se fait à l'aide d'ampoules à décanter de formes et de tailles diverses, l'agitation peut être manuelle ou mécanique, et est réalisée de manière à éviter les émulsions .

Le solvant organique utilisé, dans notre extraction est le chloroforme. Après décantation, on effectue la lecture au spectrophotomètre à 460 nm de la phase colorée dans un délai inférieur à 30 nm, sans oublier de tenir compte de la valeur lue pour le témoin (Mahuzier, 1982).

5.7 / Protocole expérimental :

5.7.1/ Méthode adaptée au teneurs supérieures à 0,5 mg / l :

On met 500 ml de l'échantillon dans une fiole de 1 litre et on ajoute de l'acide phosphoric (H_3PO_4) jusqu'à obtenir un $pH < 4$, et on verse cette solution dans 1 ballon de 1 litre, après distillation on récupère jusqu'à 450 ml du distillat et on ajoute 50 ml de l'eau distillée dans ce ballon de litre pour continuer notre

distillation afin de récupérer toutes les traces du phénol qui restent, on met ce distillat dans une fiole de 1 litre et on prend 50 ml de ce distillat et on le met dans un bécher de 150 ml, on ajoute dans l'ordre doucement et avec agitation 2 ml de solution tampon, 0,3 ml de la solution d' amino-4 antipyrine, et 1 ml de la solution de ferricyanure de potassium. On attend 5 mn à la température ambiante et on passe au colorimètre à une longueur d'onde de 510 nm. (fig n° 3).

5.7.2/ Méthode adaptée aux teneurs comprises entre 0,025 et 0,5 mg/l :

C'est la même procédure que pour la méthode adaptée aux teneurs supérieures à 0,5 mg/l, sauf quant on met le distillat dans une fiole de 1 litre, on prend 200 ml de ce distillat et on le met dans une ampoule à décantation de 500 ml et on ajoute dans l'ordre doucement et avec agitation 2 ml de la solution tampon, 3 ml de la solution d' amino-4 antipyrine à 2 % et 10 ml de la solution de ferricyanure de potassium à 2 % ; on attend 3 mn et on ajoute 25 ml de chloroforme en agitant doucement, après une agitation énergétique pendant 1 mn, on laisse décanter et on agite une deuxième fois, on laisse décanter jusqu'à formation de deux phases bien distinctes. On recueille le chloroforme en le filtrant sur un petit tampon de laine de verre et on passe au colorimètre à une longueur d'onde de 460 nm. (fig n° 4).

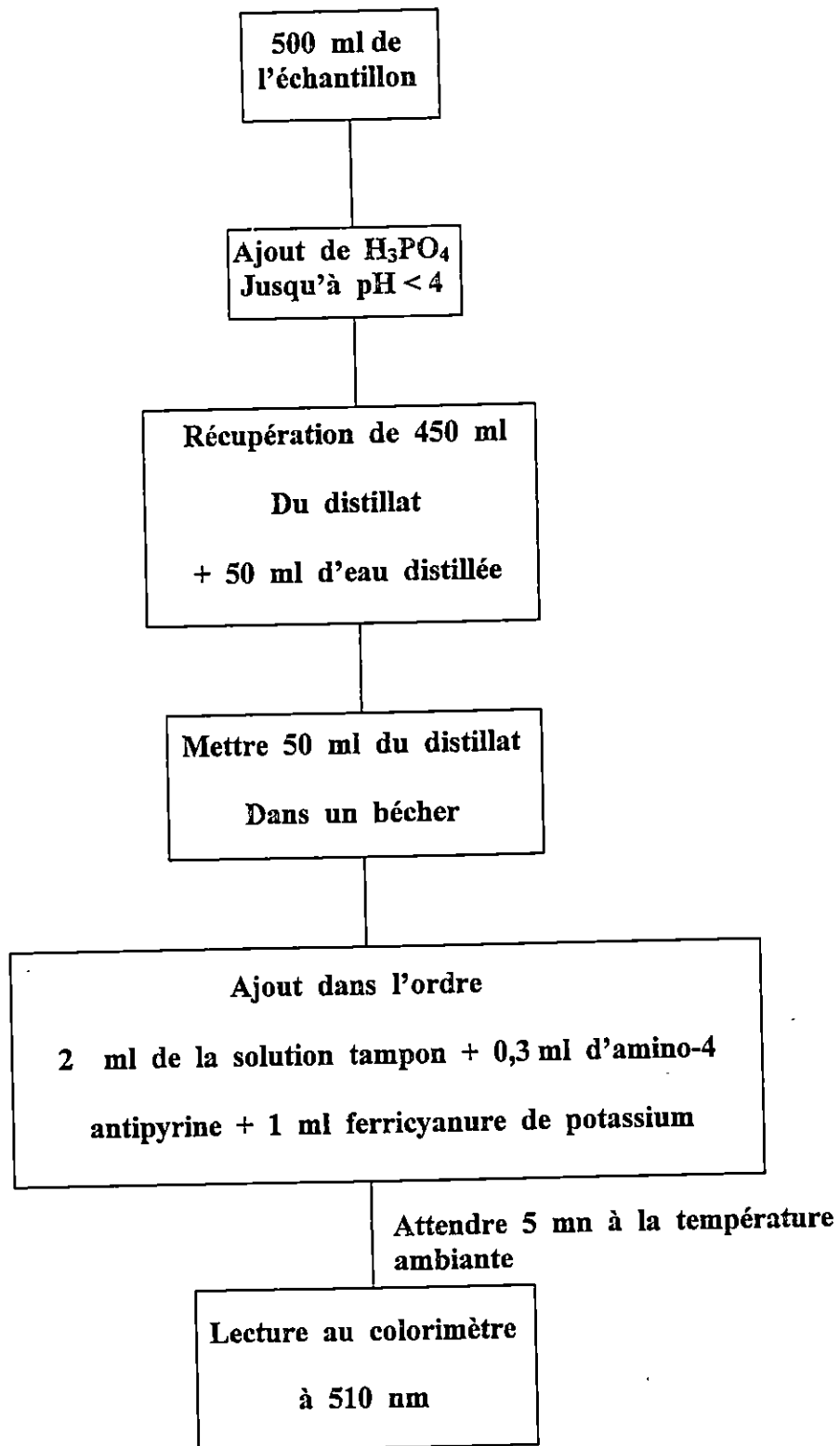


figure n°3 Protocole expérimental colorimétrique adapté

Aux teneurs supérieures à 0.5 mg/l

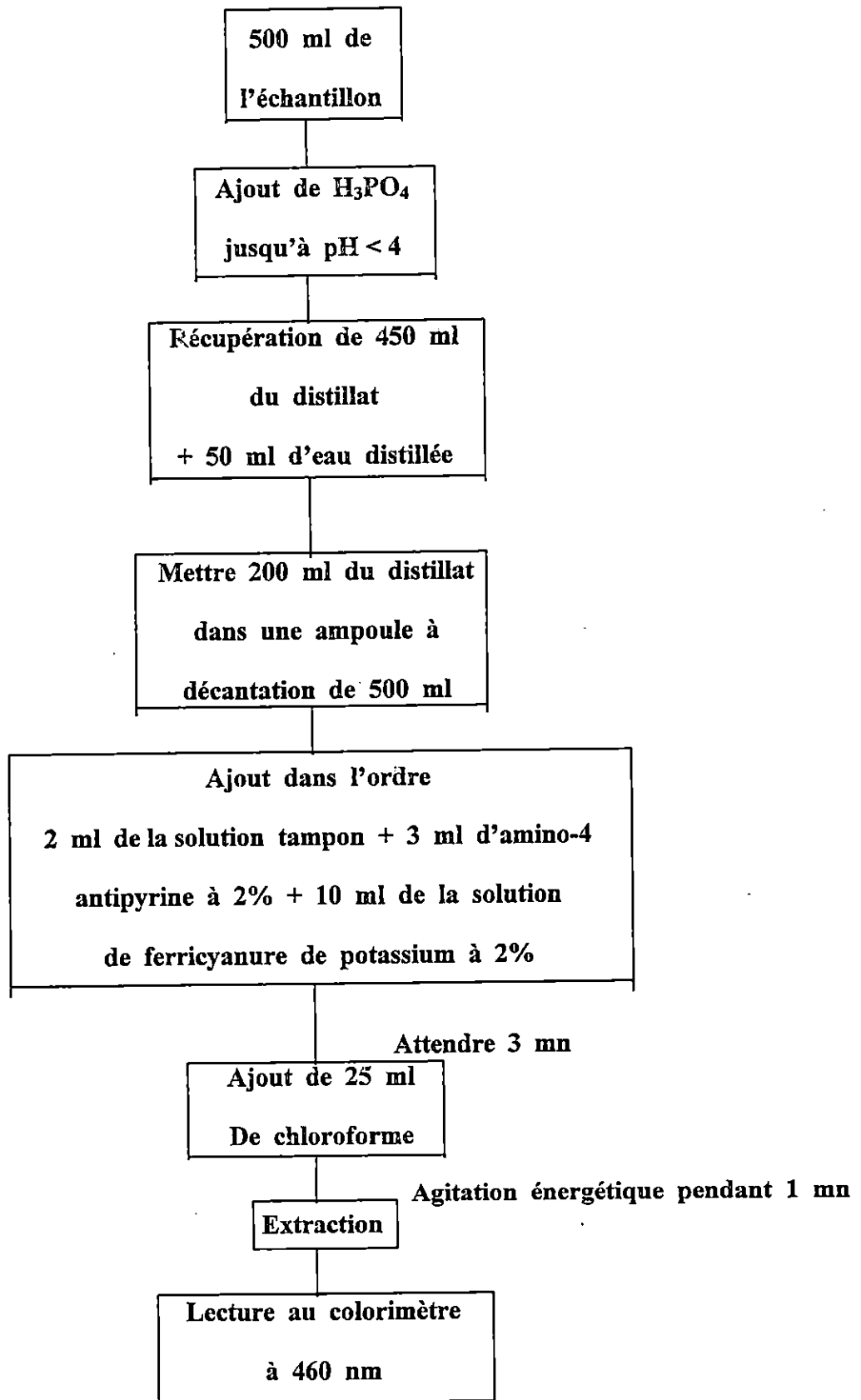


figure n°4 Protocole expérimental colorimétrique adapté aux teneurs comprises entre 0,025 et 0,5 mg/l

5.8/ Préparation du blanc :

Pour la méthode adaptée aux teneurs supérieures à 0,5 mg / l, on prend 50 ml d'eau distillée, et on répète les étapes du protocole expérimental hormis la première étape.

Pour la méthode adaptée aux teneurs comprises entre 0,025 et 0,5 mg / l, on prend 200 ml d'eau distillée, et on répète les étapes du protocole expérimental hormis la première étape .

5.9/ Etalonnage :

5.9.1/ Etablissement de la courbe d'étalonnage pour les teneurs supérieures à 0,5 mg / l :

Dans une série de béchers de 150 ml numérotés, on introduit successivement :

Numéro des béchers	T	1	2	3	4	5	6
Solution étalon à 10 mg/l	0	5	10	20	30	40	50
Eau distillée (ml)	50	45	40	30	20	10	
Solution tampon (ml)	2	2	2	2	2	2	2
Solution d' amino-4 antipyrine	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Solution de ferricyanure de potassium	1	1	1	1	1	1	1
Correspondance en mg/l de phénol	0	0,5	1	2	3	4	5

On attend 5 mn à la température ambiante. On effectue les lectures au spectrophotomètre à 510 nm. On doit tenir compte de la valeur lue pour le témoin. On trace la courbe d'étalonnage.

➤ **5.9.2/ Etablissement de la courbe d'étalonnage pour les teneurs comprises entre 0,025 et 0,5 mg/l :**

(Dans une série d'ampoules à décantation de 500 ml, on introduit successivement :

Numéro des ampoules	T	1	2	3	4	5	6
Solution étalon de phénol à 1 mg/l	0	5	10	20	30	40	50
Eau distillée	200	195	190	180	170	160	150
Solution tampon	2	2	2	2	2	2	2
Correspondance en mg/l de phénol	0	0,025	0,050	0,10	0,15	0,20	0,25

(On ajoute en agitant après chaque addition :

- Solution d' amino-4 antipyrine à 2 % 3 ml
 - Solution de ferricyanure de potassium à 2 % 10 ml
-)

(Attendre 3 mn. On ajoute 25 ml de chloroforme. On agite energiquement pendant 1 mn. On laisse décanter le chloroforme et on agite une deuxième fois.

On laisse décanter le chloroforme en le filtrant sur un petit tampon de laine de verre.

On effectue la lecture au spectrophotomètre à 460 nm dans un délai inférieur à une heure après l'extraction. On doit tenir compte de la valeur lue pour le témoin. On trace la courbe d'étalonnage.)

(**5.10/ Dosage :**)

(On a soumis les huit (08) échantillons prélevés des deux égouts et les dix (10) échantillons prélevés de l'eau de mer à une distillation, puis extraction en suivant le protocole expérimental de la méthode adaptée aux teneurs comprises entre 0,025 et 0,5 mg / l.) Par contre l'échantillon comparatif du Reghaïa à été soumis à une distillation, puis extraction en suivant le protocole expérimental de la méthode adaptée aux teneurs supérieures à 0,5 mg / l, une fois qu'on a trouvé la concentration du phénol était inférieure à 0,5 mg / l on a refais la distillation puis l'extraction en suivant le protocole expérimental de la méthode adaptée aux teneurs comprises entre 0,025 et 0,5 mg / l.

6/. RESULTATS :

(6.1- Résultats des paramètres physico-chimiques :)

Le comportement des composés phénoliques en mer (diffusion, évaporation, dissolution, oxydation, biodégradation,...) dépend des caractères physico-chimiques (T°, O₂ dissous, pH, S‰, densité, etc...). Ces paramètres montrent des variations en fonction des conditions météorologiques (état de la mer, vent, courant, etc...) Vu l'intérêt de ces paramètres, des mesures ont été réalisées pour chaque prélèvement, à bord d'une barque lors des prélèvements en mer, nous présentons ci-après les résultats obtenus pour les différents prélèvements consignés dans le tableau suivant :

Stations	Températures	O ₂ dissous	pH	S‰	
E ₁ :	E ₁ A	17,9	4,8	7,73	5,1
	E ₁ B	17,7	4,6	7,73	4,3
	E ₁ C	17,8	4,8	7,77	4,8
	E ₁ D	17,9	4,7	7,75	5,1
E ₂ :	E ₂ A	15,8	5,0	7,62	5,6
	E ₂ B	15,8	4,9	7,66	5,1
	E ₂ C	15,9	5,1	7,65	5,2
	E ₂ D	16,0	5,1	7,66	5,6
R ₁ :	1	17,0	7,0	8,04	35,2
	2	17,2	6,9	8,01	35,6
	3	17,1	7,0	8,10	36,3
R ₂ :	4	15,1	7,9	8,01	36,3
	5	15,2	7,8	8,09	36,5
	6	15,2	7,8	8,26	36,1
R ₃ :	7	15,3	7,6	8,17	34,7
	8	15,3	7,7	8,15	35,6
	9	15,2	7,7	8,13	36,1
	10	14,9	7,9	8,11	37,2

(Les résultats obtenus pour toutes les mesures effectuées sont conformes aux valeurs trouvées au niveau de la Méditerranée, pour des sites comparables.

La température est saisonnière (hiver) et varie dans un intervalle de 14,9 à 17,9°C.

L'O₂ dissous évolue dans l'intervalle (4,6 - 7,9) mg/l. Les valeurs du pH se situent entre 7,62 et 8,26.

La salinité présente une variation presque uniforme, les teneurs oscillent entre 35,2 et 37,2‰, ce n'est qu'au niveau des deux égouts on trouve une certaine valeur de salinité qui se situe entre 4,3 et 5,6‰ .)

(**6.2 / Résultats de la méthode colorimétrique :**)

(**6.2.1/ Etalonnage :**)

(**6.2.1.1/ Résultats pour les teneurs comprises entre 0,025 et 0,5 mg/l :**)

L'expérience à donné les résultats suivants :

Numéro des ampoules	1	2	3	4	5	6
Absorbances	0,066	0,148	0,296	0,455	0,608	0,761
Concentrations (mg / l)	0,025	0,050	0,10	0,15	0,20	0,2

(**6.2.1.2/ Résultats pour les teneurs supérieures à 0,5 mg/l**)

(L'expérience à donné les résultats suivantes :)

Numéro des béchers	1	2	3	4	5	6
Absorbances	0,064	0,159	0,349	0,527	0,689	0,852
Concentrations (mg/l)	0,5	1	2	3	4	5

(L'absorbance du blanc étant égale à zéro, on trace les courbes d'étalonnage.

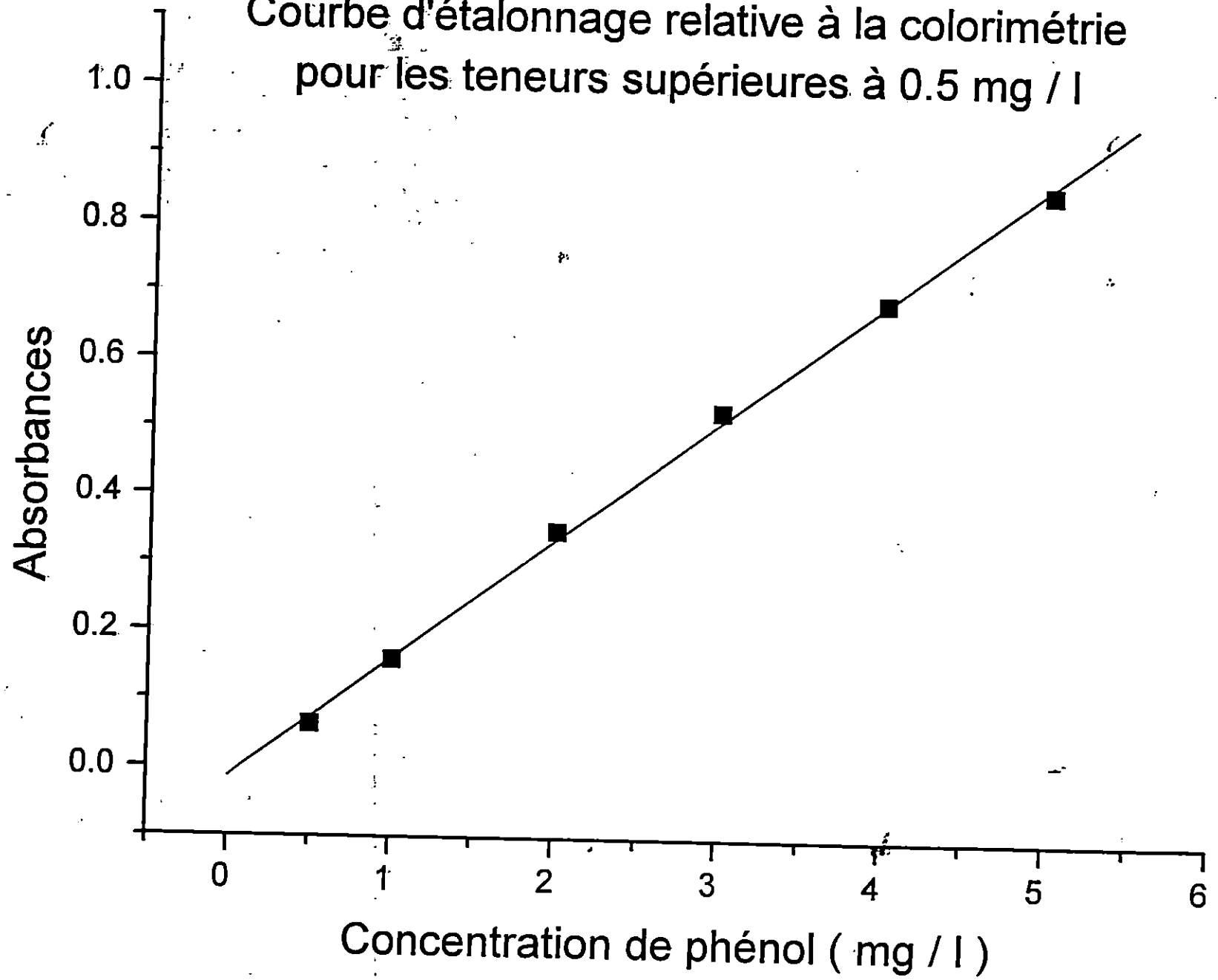
Les graphes obtenues sont des droites de la forme :

$$y = a x + b$$

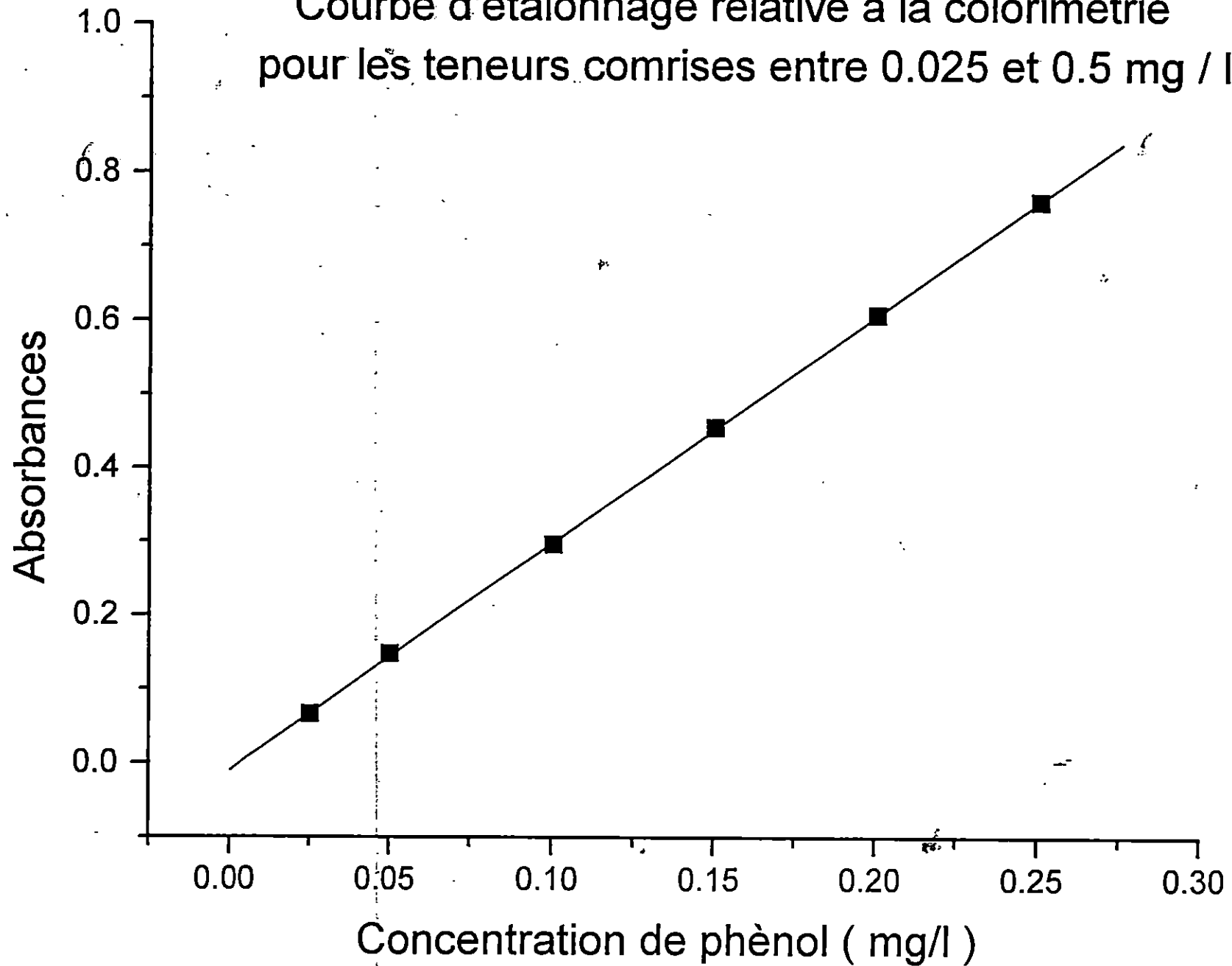
(**6.2.2/ Dosage :**)

(En rapportant les valeurs des absorbances trouvées lors du dosage sur les courbes d'étalonnage, on a obtenu les résultats suivants :)

Courbe d'étalonnage relative à la colorimétrie
pour les teneurs supérieures à 0.5 mg / l



Courbe d'étalonnage relative à la colorimétrie
pour les teneurs comprises entre 0.025 et 0.5 mg / l



Stations	Concentrations ($\mu\text{g}/\text{l}$)
E ₁ : E ₁ A E ₁ B E ₁ C E ₁ D	33 29 36 34
E ₂ : E ₂ A E ₂ B E ₂ C E ₂ D	32 31 33 34
R ₁ : 1 2 3	23 26 19
R ₂ : 4 5 6	14 18 10
R ₃ : 7 8 9	21 23 13
10	12
Reghaïa	25

NB : E₁ : égout 1

E₂ : égout 2

R₁ : Première radiale

R₂ : Deuxième radiale

R₃ : Troisième radiale

6.2.3/ Interprétation des résultats :

Nous avons constaté que les eaux usées des deux égouts E_1 et E_2 ont les mêmes concentrations en phénol qui se situent entre $[29 - 36] \mu\text{g} / \text{l}$, ceci est constaté sur la carte de distribution des phénols totaux des différentes stations.

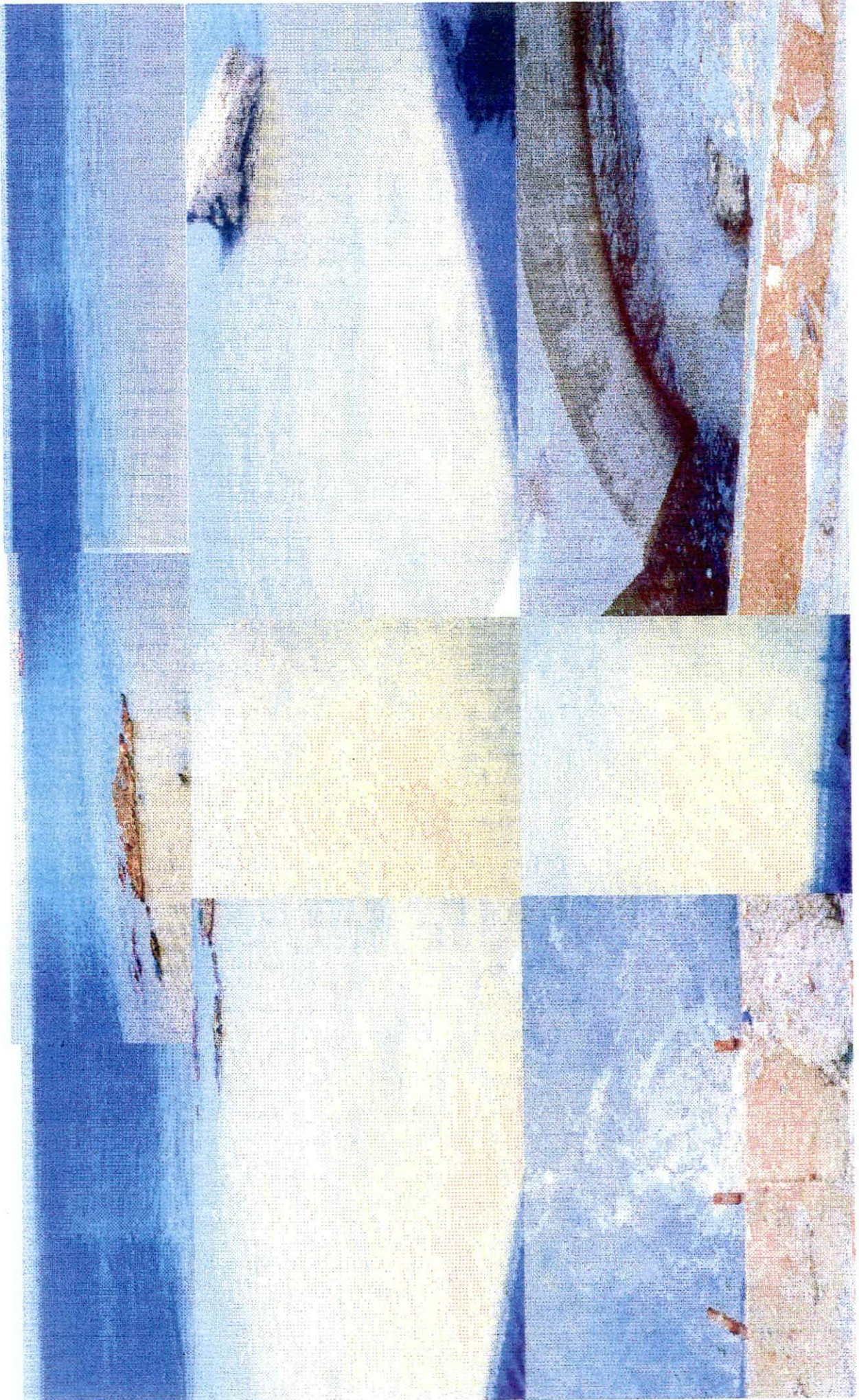
La carte de distribution des phénols totaux montre que plus on va vers le large et plus la concentration en phénol diminue. (carte n°3)

L'histogramme d'évaluation des phénols totaux montre que pour la première radiale R_1 qui suit le déversement des eaux usées dans la mer du premier égout E_1 , la concentration chute dès la station n° 1 : ($23 \mu\text{g} / \text{l}$). A la station n° 3 la concentration a nettement diminué ($19 \mu\text{g} / \text{l}$). Dilution et biodégradation ont sont probablement la cause.

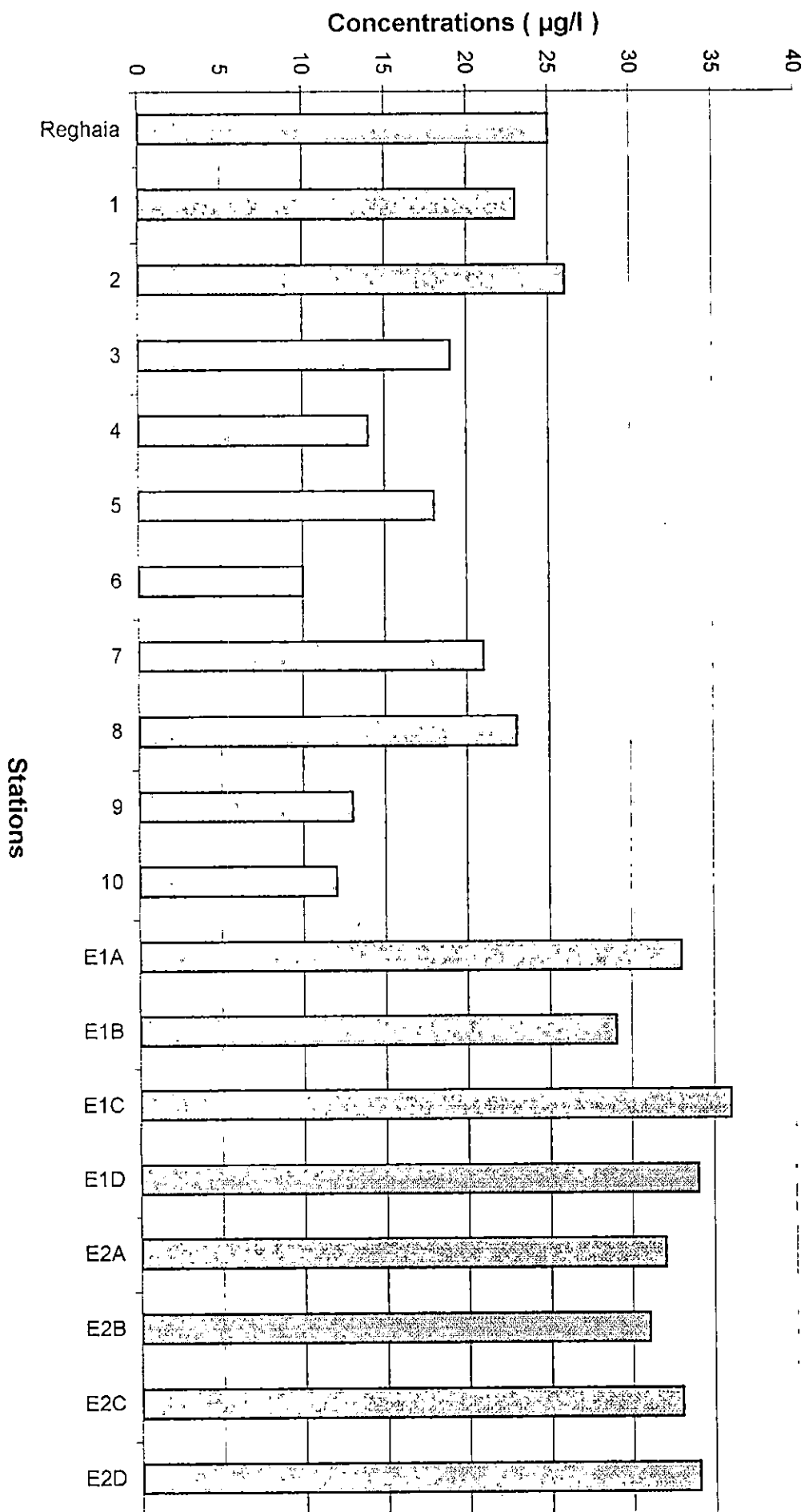
Au niveau de la deuxième radiale R_2 qui se situe entre les deux égouts E_1 et E_2 , l'intervalle de concentration en phénol pour les trois stations se situe entre 10 et $18 \mu\text{g} / \text{l}$. La troisième radiale R_3 qui se situe au niveau du deuxième égout E_2 à les mêmes concentrations que la première radiale R_1 [$21 - 23$] $\mu\text{g} / \text{l}$, et au niveau de la station 9 (station la plus au large de cette radiale), la concentration diminue substantiellement pour atteindre $13 \mu\text{g} / \text{l}$.

A la station n°10 qui se situe à 50 mètre des deux égouts E_1 et E_2 une nette diminution de la concentration en phénol ($12 \mu\text{g} / \text{l}$) est constatée.

Ainsi on a constaté que pour l'échantillon comparatif de Reghaïa qui est une zone Industrielle la concentration en phénol est de $25 \mu\text{g} / \text{l}$ nettement différente à celle des



Evaluation des phénols totaux par colorimétrie



rejets domestiques de notre zone d'étude.

Ceci s'explique par le fait que les effluents industriels peuvent aussi comporter une carence en éléments minéraux indispensables pour la nutrition des micro-organismes (azote, phosphore, potassium, etc.) ou bien ils peuvent présenter un pH incompatible avec la vie des micro-organismes. (Vaillant, 1973)

CONCLUSION

La détermination spectrophotométrique des phénols employant les dérivés amino-4 antipyrine (4- AAP) correspondants est bien établie, mais la méthode n'est applicable pour les phénols dans lesquels le substituant est un groupe alkyl, aryl, nitro, benzoyle, nitroso, carbonyle, donc elle est principalement employée pour la détermination de la concentration totale de phénol. Beaucoup de phénols substitués se produisent dans l'environnement dont certains sont fortement toxiques même à faibles concentrations.

La méthode colorimétrique à l'amino-4 antipyrine (4- AAP) dans l'analyse des composés est une manipulation facile, l'analyse est rapide et reproductible.

Lors du prétraitement des échantillons, les risques de pertes des phénols sont forts probables. Pour les minimiser, les plus hautes précautions doivent être prises, en particulier lors de l'étape de concentration des échantillons et même lors de la reproductibilité pour le tracé de la courbe d'étalonnage pour cela il nous a fallu un mois pour obtenir une bonne reproductibilité.

Sur le plan de la concentration en phénol, nous remarquons que les taux en phénol varient de 29 à 36 $\mu\text{g/l}$ au niveau de l'égout E_1 et de 31 à 34 $\mu\text{g/l}$ au niveau de l'égout E_2 .

Les valeurs trouvées au niveau de la station n°1 qui se situe à côté de l'égout E_1 (23 $\mu\text{g/l}$) et au niveau de la station n°7 qui se situe côté de l'égout E_2 (21 $\mu\text{g/l}$), nous remarquons une diminution de la concentration en phénol, liée probablement à une dilution dans l'eau de mer.

Les autres stations signalent des teneurs comprises entre 12 et 26 $\mu\text{g/l}$, et plus on va vers le large, plus la concentration en phénol diminue.

Dans notre zone d'étude qui reçoit d'importants déversements d'effluents urbains et domestiques, il y a un apport considérable de résidus minéraux et organiques. Ceux-ci provoquent une importante demande en oxygène, certains sont toxiques ; de plus, des dépôts se forment dans les côtes ou au fond de la mer. Il en résulte des perturbations écologiques ; les processus naturels de l'autoépurationne suffisent plus, le développement normal de la flore et de la faune aquatiques est contrarié et dans certains cas toute vie peut même disparaître.

Le nombre d'échantillon traités ne permet pas une analyse affinée de la pollution phénolique dans le site étudié.

Les doses de composés phénolés pouvant se trouver ordinairement dans la mer ne Présentant pas de danger pour l'homme. Pour les poissons, les doses létales seraient de l'ordre de 5 à 15 mg/l pour les Cyprinidés et 5 mg/l pour les Salmonidés (Vaillant, 1973).

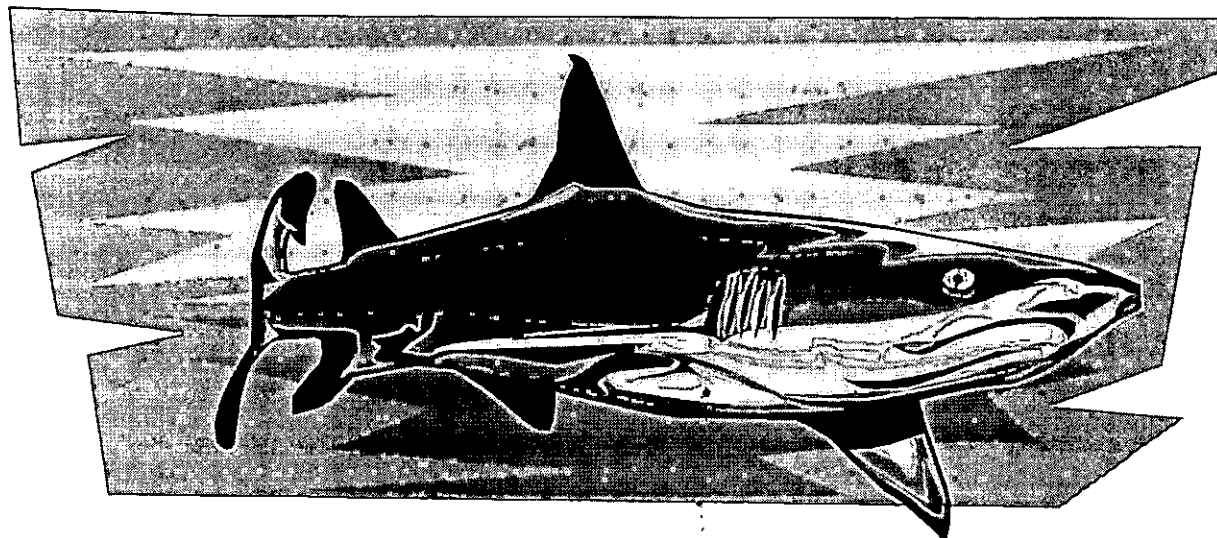
Cependant, des teneurs beaucoup plus faibles, de l'ordre 100 $\mu\text{g/l}$, rendent les poissons impropres à la consommation humaine à cause du mauvais goût de leur chair. (Vaillant, 1973).

Notre site d'étude, constitue malgré tout une zone où les risques de pollution sont importants. Effectivement les valeurs trouvées par les phénols reflètent une contamination certaine par les eaux usées.

C'est ainsi que nous avons mis en œuvre une technique plus fine, qui permet

d'estimer la totalité des composés phénoliques, en effet, la fraction aromatique ne peut être caractérisée et qualifiée que par la chromatographie liquide à haute performance (H.P.L.C).

Chapitre 3



EVALUATION DES DIFFERENTES FORMES
DES PHENOLS PAR CHROMATOGRAPHIE
LIQUIDE A HAUTE PERFORMANCE
(H.P.L.C)

1 / INTRODUCTION

Après un démarrage assez lent dans les années 60 la chromatographie liquide haute performance (C.L.H.P) connaît actuellement un grand développement. Son vaste champ d'application recouvre la plus grande partie du domaine de la chromatographie en phase gazeuse et permet aussi l'analyse des molécules thermosensibles, de masse moléculaires élevées et très polaires.

Son succès est dû également au grand choix de phases stationnaires disponibles, à l'excellente reproductibilité des analyses et à la diminution du coût des appareils.

En bref, c'est une méthode instrumentale des plus importantes et des plus larges d'emploi.

Ses nombreuses possibilités lui assurent une place prépondérante dans ce domaine, bien que certaines phases stationnaires actuelles conduisent à l'apparition de formes hybrides de chromatographie entre la C.L.H.P traditionnelle, la chromatographie ionique et la chromatographie d'exclusion.

2 / PRINCIPE

Comme toute chromatographie, le phénomène de séparation en C.P.L résulte de la différence de distribution des solutés entre deux phases : l'une fixe appelée phase stationnaire et l'autre liquide appelée phase mobile. Les deux phases ne sont pas miscibles.

Les composants retenus par la phase stationnaire migrent plus lentement que ceux distribués dans la phase mobile. Ainsi, les solutés ayant une affinité préférentielle pour la phase mobile sortent les premiers.

Ce phénomène de distribution est régi par le coefficient de distribution :

$$K = \frac{C_s}{C_m}$$

C_s : concentration du soluté dans la phase stationnaire.

C_m : concentration du soluté dans la phase mobile.

Les méthodes chromatographiques sont classées de 3 façons différentes :

- Selon la nature des phases.

❖ C.L.S : La phase stationnaire est un solide et la phase mobile liquide.

❖ C.L.L : La phase stationnaire est un liquide imprégné ou greffé chimiquement sur un solide, la phase mobile est un liquide.

- Selon la technologie de la mise en œuvre de la méthode,

on distingue :

- ❖ Chromatographie sur colonne.
- ❖ Chromatographie sur couches minces.

- Selon la nature des phases mises en jeu dans la séparation.

Il s'agit de :

❖ Chromatographie d'adsorption (L - S) :

La phase stationnaire est un solide et la séparation est basée sur

❖ Chromatographie de partage (L - L) :

La phase stationnaire est un liquide, chimiquement lié (greffé) sur la silice microporeuse, il s'agit de la C.L.L.

Elle fait intervenir la différence de solubilité de composants d'un échantillon entre les deux phases toutes deux liquides.

❖ Chromatographie par échange d'ions :

La phase stationnaire est un solide ayant des propriétés particulières. C'est un échangeur d'ions réversible.

❖ Chromatographie d'exclusion stérique (ou perméation sur gel)

La phase est un solide poreux. Les composants d'un échantillon sont séparés suivant leur taille.

Nous avons utilisé pour notre part, la chromatographie de partage à polarité de phases inversées.

3 / METHODE CHROMATOGRAPHIQUE UTILISEE

3.1 / Introduction :

La chromatographie liquide haute performance, souvent appelée du nom de son abréviation C.L.H.P (H.P.L.C en langue anglaise), constitue une technique séparative très générale d'emploi où pratiquement la seule obligation pour l'échantillon est d'être soluble dans la phase mobile. Elle correspond à une évolution de la chromatographie classique sur colonne ouverte dont la résolution s'est trouvée améliorée par utilisation de phases stationnaires constituées de grains de petite taille (quelques micromètres). En contrepartie, la phase mobile doit être poussée sous forte pression pour vaincre la perte de charge dans la colonne et assurer un débit contrôlé.

Pour marquer cet aspect technique particulier, la lettre P du sigle H.P.L.C à pendant longtemps correspondu au mot pression.

Bien que la migration forcée d'une phase liquide au contact d'une phase stationnaire soit commune à tout un groupe de techniques, dont la chromatographie d'échange d'ions et la chromatographie d'exclusion. L'HPLC correspond à un mécanisme d'échange basé sur les coefficients d'adsorption et de partage.

3.2 / Système de chromatographie liquide :

La figure – 1 représente le schéma fonctionnel du système de

3 / METHODE CHROMATOGRAPHIQUE UTILISEE

3.1 / Introduction :

La chromatographie liquide haute performance, souvent appelée du nom de son abréviation C.L.H.P (H.P.L.C en langue anglaise), constitue une technique séparative très générale d'emploi où pratiquement la seule obligation pour l'échantillon est d'être soluble dans la phase mobile. Elle correspond à une évolution de la chromatographie classique sur colonne ouverte dont la résolution s'est trouvée améliorée par utilisation de phases stationnaires constituées de grains de petite taille (quelques micromètres). En contrepartie, la phase mobile doit être poussée sous forte pression pour vaincre la perte de charge dans la colonne et assurer un débit contrôlé.

Pour marquer cet aspect technique particulier, la lettre P du sigle H.P.L.C à pendant longtemps correspondu au mot pression.

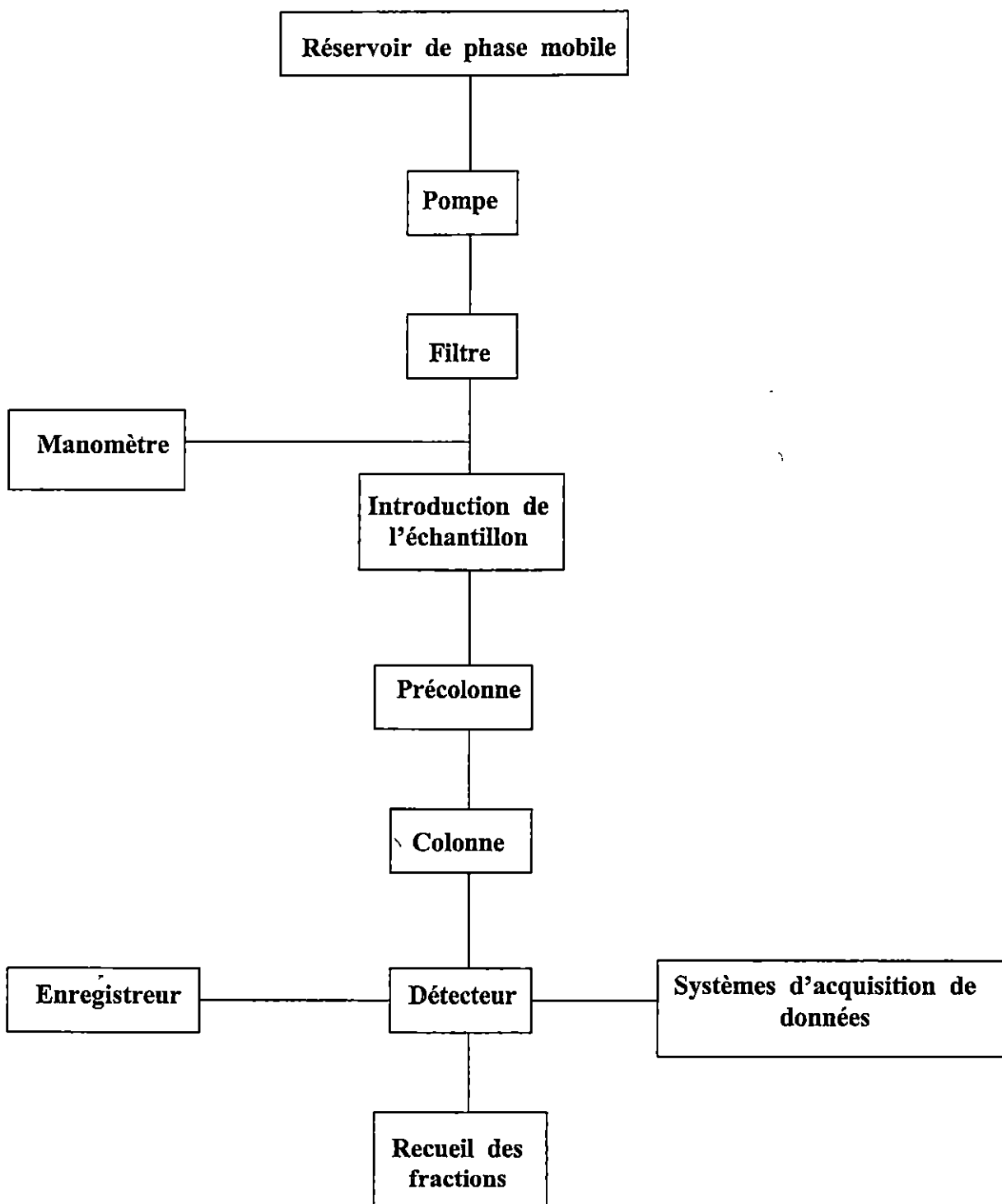
Bien que la migration forcée d'une phase liquide au contact d'une phase stationnaire soit commune à tout un groupe de techniques, dont la chromatographie d'échange d'ions et la chromatographie d'exclusion. L'HPLC correspond à un mécanisme d'échange basé sur les coefficients d'adsorption et de partage.

3.2 / Système de chromatographie liquide :

La figure - 1 représente le schéma fonctionnel du système de

chromatographie en phase liquide.

Il se compose essentiellement d'une pompe assurant la propulsion de la phase mobile, d'un dispositif d'introduction d'échantillon, d'une colonne renfermant la phase stationnaire, et d'un détecteur pour observer la séparation effectuée et fournir les données permettant l'évaluation qualitative et quantitative des résultats.



**Figure 1 – Schéma fonctionnel d'un système moderne
de chromatographie en phase liquide**

3.3 / Phase mobile :

Elle joue un rôle très important dans le mécanisme de séparation en chromatographie liquide. Cette activité représente une des différences les plus importantes entre la chromatographie en phase liquide (CPL) et la chromatographie en phase gazeuse (CPG) où, pour cette dernière, le rôle de la phase mobile est limitée à celui du gaz vecteur.

Les phases mobiles utilisées en CPL peuvent être constituées par une seule substance ou par un mélange de deux composés en plus, selon les caractéristiques recherchées. D'autre part, la composition de la phase mobile peut rester fixe ou être modifiée au cours de l'analyse.

Le gradient d'élution part généralement d'une phase liquide pure à laquelle vient s'ajouter un pourcentage croissant d'un autre solvant. En chromatographie liquide, le choix des solvants utilisés pour la phase mobile dépend d'un certain nombre de paramètres.

La polarité joue le rôle le plus important mais la viscosité intervient également ainsi que toutes les caractéristiques qui pourraient influencer sur le fonctionnement du détecteur. Ainsi, le choix d'une phase mobile convenable représente l'une des étapes les plus importantes dans la détermination des paramètres analytiques d'une séparation en CPL.

3.4 / Phase stationnaire :

Dans tous les processus chromatographiques en phase liquide, la séparation est le résultat d'interactions entre l'échantillon et la phase stationnaire. Son choix est donc un autre élément important pour le succès d'une analyse en CPL.

La phase stationnaire est constituée par des substances solides poreuses qui se différencient par leur composition chimique, leur structure et la dimension des particules. Etant donné les difficultés de diffusion de la phase mobile et de l'échantillon élué, plus la taille des particules de la phase stationnaire est faible, plus le système s'approche des conditions idéales (mise en contact de l'échantillon avec une surface maximale de matériau de remplissage). La taille des particules ne peut cependant pas être réduite indéfiniment : au dessous d'un diamètre de 3μ , le tassement des particules rend extrêmement difficile le pompage du liquide au travers de la colonne. La granulométrie de remplissage de la plupart des colonnes disponibles dans le commerce est comprise entre 5 et 15 microns.

En chromatographie liquide de partage, on distingue deux modes d'analyse selon les polarités relatives des deux phases stationnaires et mobiles :

- Phase normale : la phase stationnaire est apolaire et la phase mobile est polaire.
- Phase inversée : la phase stationnaire est polaire et la phase mobile est apolaire.

Actuellement, les produits de remplissage les plus couramment utilisés pour la chromatographie de partage en phase liquide comportent une phase stationnaire greffée sur les particules du support. Ces phases greffées sont extrêmement résistantes, n'exigent aucun conditionnement et ne nécessitent pas une saturation préalable de la phase mobile.

Les phases greffées sont préparées par la réaction chimique entre les groupements superficiels hydroxyles des particules de silice et une molécule organique linéaire ou un organosilane.

Il existe des phases polaires greffées comportant par exemple un groupement amine ou nitrile à l'extrémité d'une chaîne hydrocarbonée et utilisées en mode de phases normales.

Les phases utilisées en mode de polarité de phases inversées permettent la séparation d'une grande variété de composés. (Ouadjenak, 1986).

3.5 / Détecteurs :

Les détecteurs les plus fréquemment utilisés dans les systèmes de chromatographie en phase liquide sont des détecteurs optiques.

Deux types de détecteurs sont généralement rencontrés :

- Le détecteur à absorption UV et visible. Les échantillons analysés doivent absorber en UV, sinon on fait appel à la dérivation chimique pour rendre le produit détectable. La longueur d'onde peut être fixe ou variable entre 190 et 800 nm.

- Le détecteur à réfractométrie différentielle : sa principale qualité est son caractère universel, mais, il est moins sensible que le détecteur UV et il faut trouver une phase mobile dont l'indice de réfraction est suffisamment différent de ceux des composés analysés.

Les détecteurs fluométriques et électrochimiques sont encore d'une utilisation très limitée, car sélectifs.

De nouvelles voies pour augmenter la spécificité de la détection en chromatographie liquide ont été rapportées par Di Cesare et Ettre (Crompton, 1985).

4 / PARTIE EXPERIMENTALE

4.1 / Appareillage :

Le chromatographe utilisé est un **ALC/GPC 244 Waters**, comportant :

- ✓ Un injecteur Rheodyne 7125 équipé d'une boucle de 20 μ l, précédé d'une précolonne de 4 cm de longueur remplie de silice greffée C₁₈ remplie au laboratoire.
- ✓ Une pompe 600° A, fonctionnant à 1 ml / mn.
- ✓ Un détecteur UV variable, JASCO, modèle U.V 975 opérant à 280 nm.
- ✓ Un enregistreur potentiométrique Servotrace de Sefram à une vitesse de papier de 0,25 cm / mn.

- ✓ La colonne employée est une partisol ODS 25 X 0,4 cm, 10 μ de taille de particule. C'est une silice microporeuse greffée octadécyle
- ✓ Une phase mobile constituée par :
 - 1 cm^3 d'acide acétique
 - 25 cm^3 de méthanol
 - 25 cm^3 d'acétonitrile
 - 49 cm^3 d'eau distillée.

4.2 / Réactifs :

- ✓ Eau distillée
- ✓ Hcl concentré pour ajuster le pH
- ✓ Na_2SO_4 anhydre
- ✓ Solvant d'extraction CH_2Cl_2
- ✓ Phénols qui proviennent de chez Janssen Belgique.

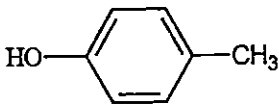
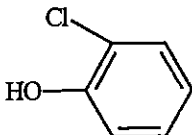
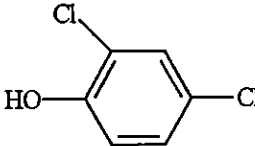
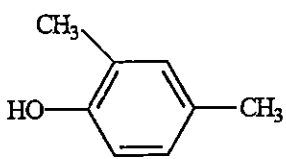
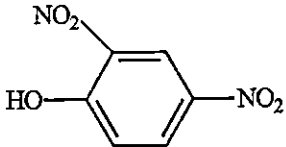
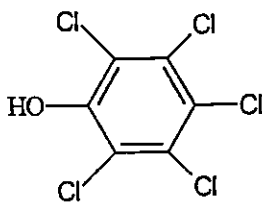
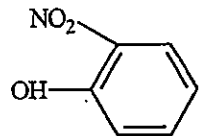

L'agence du protection de l'environnement à établi une liste de 11 phénols à rechercher en priorité comme polluants de l'eau.

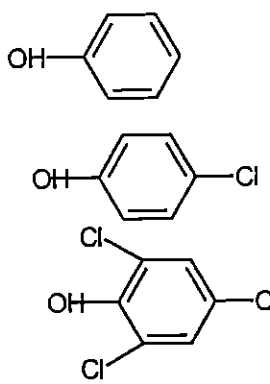
Il s'agit de :

- 4- chloro – 3 méthylphénol
- 2 méthyl – 4,6 dinitrophénol
- Pentachlorophénol
- Phénol
- 2 Nitrophénol
- 4 Nitrophénol
- 2,4 dinitrophénol

- 4 Méthylphénol
- 2,4 – diméthylphénol
- 2 – Chlorophénol
- 4 – Chlorophénol
- 2,4 dichlorophénol
- 2,4,6 – trichlorophénol
- Pentaphénol

Nous avons disposé des 11 phénols pour la réalisation de nos Analyses.

Phénols	Formules développées
4-méthylphénol	
2-chlorophénol	
2,4-dichlorophénol	
2,4-diméthylphénol	
2,4-dinitrophénol	
Pentachlorophénol	
2-nitrophénol	
4-nitrophénol	

<p>Phénol</p> <p>4-chlorophénol</p> <p>2,4,6-trichlorophénol</p>	 <p>The image shows three chemical structures stacked vertically. The top structure is Phenol, consisting of a benzene ring with a hydroxyl group (-OH) attached. The middle structure is 4-chlorophenol, consisting of a benzene ring with a hydroxyl group (-OH) at the top and a chlorine atom (-Cl) at the bottom (para position). The bottom structure is 2,4,6-trichlorophenol, consisting of a benzene ring with a hydroxyl group (-OH) at the top and chlorine atoms (-Cl) at the 2, 4, and 6 positions.</p>
--	--

Formules développées des phénols utilisés

4.3 / Méthodes utilisées :

4.3.1 / Extraction :

Elle consiste à prendre 1 litre d'eau auquel on ajoute du HCl concentré jusqu'à pH = 2. Après trois (03) extractions successives par 20 ml de dichlorométhane CH_2Cl_2 , on procède au séchage Na_2SO_4 anhydre, puis filtration de la solution obtenue dans un ballon, et évaporation, jusqu'à un volume de 2 à 3 ml.

La solution est transférée dans un petit tube, on évapore à sec sous courant d'azote, on reprend par 100 μl de phase mobile et on injecte 20 μl dans le chromatographe.

Voir figure 2

4.3.2 / Etude qualitative :

On procède de la même manière que pour le protocole chromatographique d'extraction, en attribuant une concentration de phénol de 0,02 mg/l. Après extraction, on injecte 20 μl de la solution dans le chromatographe, on obtient une hauteur du pic h_1 .

On procède aussi de la même manière sans passer par l'extraction, en attribuant la même concentration de phénol de 0,02 mg /l, et on injecte 20 µl de la solution dans le chromatographe et on obtient une hauteur du pic h_2 . La sensibilité de l'appareil est de 0,04.

D'après ces deux injections on va tirer le pourcentage d'extraction de la manière suivante :

$$\% = \frac{h_1}{h_2} \times 100$$

4.3.3 / Etude quantitative :

Nous avons extrait les dix-neufs (19) échantillons selon le protocole d'extraction décrit en figure n° 2.

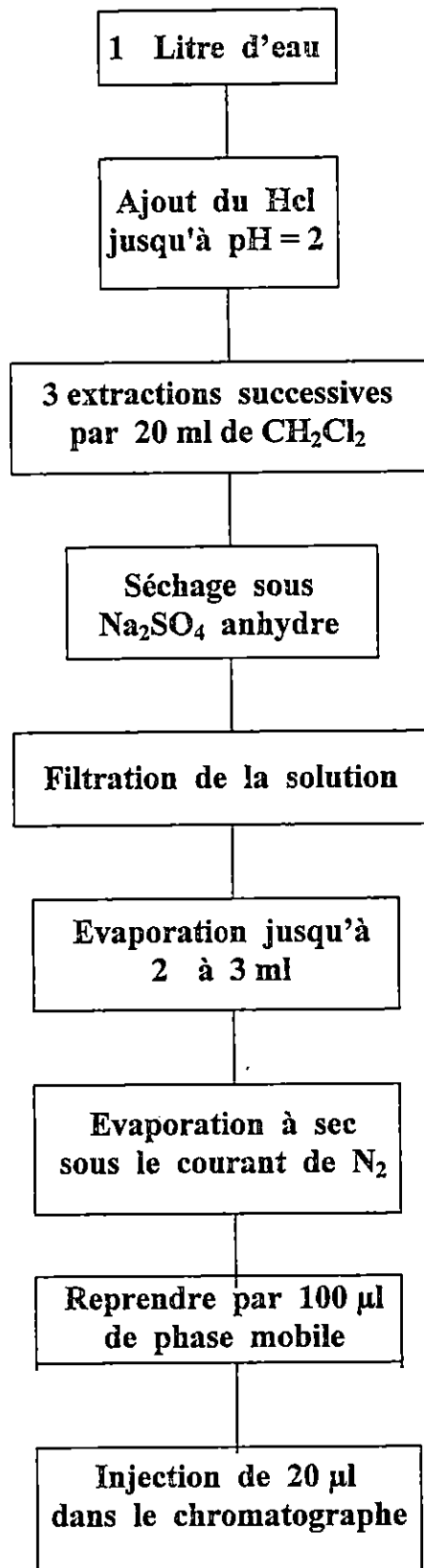


Figure n° 2 : Protocole chromatographique d'extraction

5 / Résultats et discussions :

5.1 / Temps de rétention et hauteur du pic :

5.1.1 / Etalons du phénol extrait et du phénol non extrait :

Les temps de rétention relevés au cours du processus chromatographiques et leur hauteur du pic sont :

Etalons	Hauteur du pic (mm)	Temps de rétention (mn)
Phénol extrait	$h_1 = 82$	6
Phénol non extrait	$h_2 = 89$	6

Le pourcentage d'extraction est :

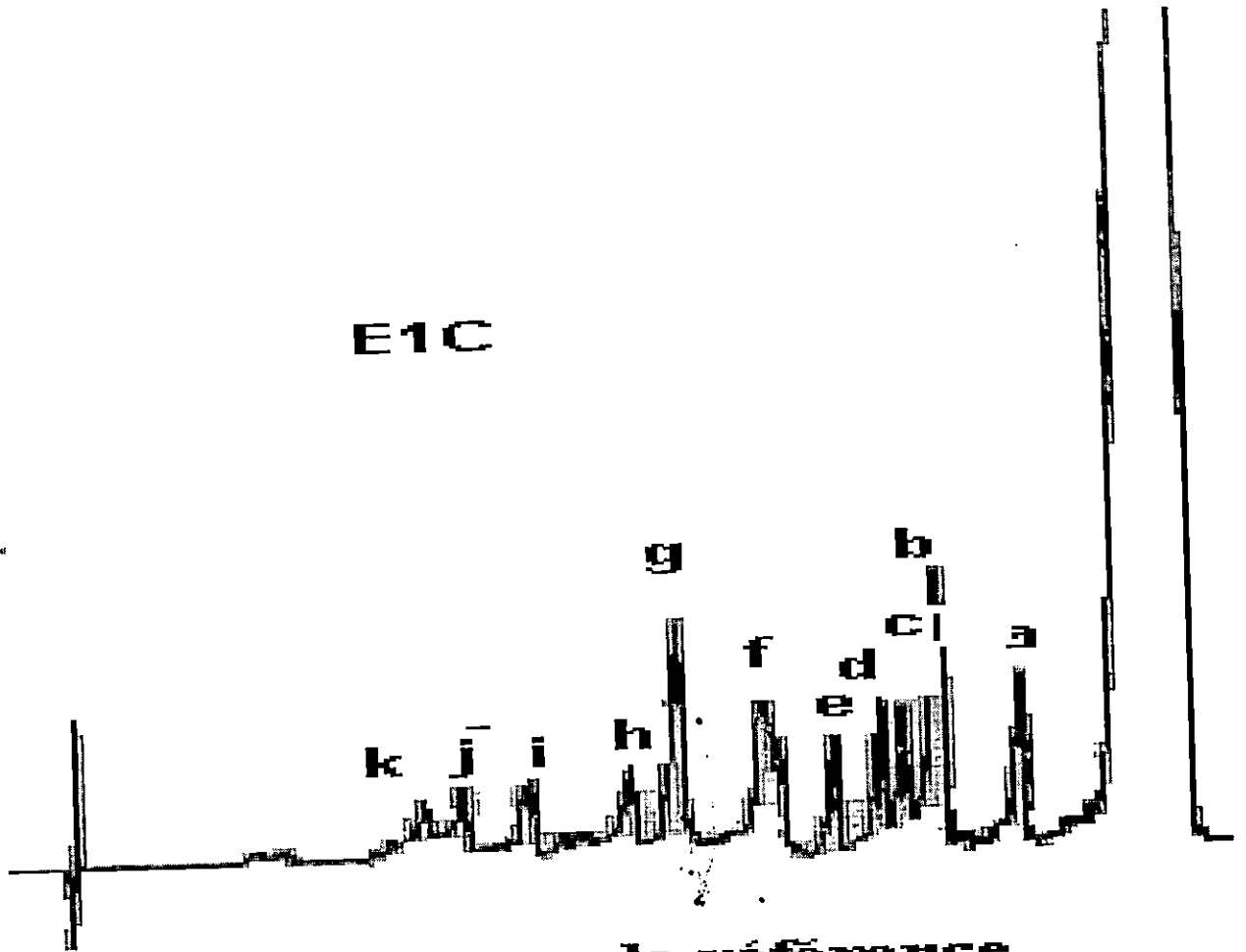
$$\% = \frac{h_1}{h_2} = \frac{82}{89} = 92 \%$$

5.1.2 / Etude qualitative:

Pour l'identification des pics, on a pris un chromatogramme de référence qui nous donne l'ordre d'élution des onze (11) phénols utilisés (Alonzo et al, 1999).

Le tableau n°1 donne le temps de rétention des phénols étudiés.

E1C



chromatogramme de référence

Tableau n°2 : Les différents pics des chromatogrammes des échantillons.

Stations Phénols	Reghaia	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	E _{1A}	E _{1B}	E _{2A}	E _{1C}
Phénol	a	a	a	a	a	a	b	a	a	a	a	b	a	a	a
2-NO ₂ φ	b	c	c	b	c	c	c	c	b	b	c	c	b	b	b
4-NO ₂ φ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	c
2,4 (NO ₂) ₂ φ	c	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	c'	-	-	c'
4-Meφ	d	d	d	d	d	d	d	d	c	c	d	c	c	c	d
2,4-Me ₂ φ	-	-	e	d	-	e	e	e	d	d	e	d	d	d	e
2-Clφ	-	-	g	e	-	f	-	e	f	f	e	e	e	e	f
4-Clφ	e	e	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	f	e	f
2,4-Cl ₂ φ	-	f	h	f	-	h	-	g	-	-	-	-	h	-	g
2,4,6-Cl ₃ φ	-	h	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	h
Cl ₅ φ	f	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	f

NB : les tirés (-) indique à l'état de trace.

Tableau n°1 :Le temps de rétention des phénols étudiés.

Phénols	Temps de rétention (mn)
Phénol	6
2- Nitrophénol	8
4- Nitrophénol	8,8
2,4 – Nitrophénol	9,2
4- Méthylphénol	10,4
2,4 – diméthylphénol	12
2 – chlorophénol	14
4 – chlorophénol	15,2
2,4 – dichlorophénol	17,6
2,4,6 – trichlorophénol	19,2
Pentachlorophénol	20

5.1.3 / Etude quantitative :

Les différents pics des chromatogrammes des échantillons sont tabulées dans le tableau n° 2.

En considérant les conditions expérimentales retenues pour l'analyse des phénols, les échantillons ont été chromatographiés.

Tableau n°3 – Le rapport de sensibilité des différents phénols

(d'après Alonzo et al, 1999)

Phénols	Rapport de sensibilité
Phénol	1
2-Nitrophénol	0,5
4-Nitrophénol	0,2
2,4 dinitrophénol	0,6
4-Méthylphénol	0,4
2,4-diméthylphénol	0,2
2-Chlorophénol	0,5
4-Chlorophénol	0,3
2,4-dichlorophénol	0,4
2,4,6-trichlorophénol	0,5
Pentachlorophénol	0,8

Les hauteurs des pics des différents phénols avec leur concentration, sont établies et résumées dans les tableaux n° 4 et 5 (voir annexe).

- Interprétation des résultats :

La chromatographie en phase liquide par sa fiabilité et sa précision et sa haute résolution, reste la méthode la plus performante à ce type d'analyse et c'est l'une des techniques de choix dans le contrôle et le suivi de la pollution dans les eaux.

Le 4-nitrophénol, 2-nitrophénol, 2,4-dinitrophénol sont listés comme polluants prioritaires par l'agence de la protection de l'environnement U.S (U.S EPA) (Keith and Teilliard, 1994).

Le 2,4,6 - trichlorophénol ; 4-méthylphénol sont utilisés dans les insecticides, 2,4-dinitrophénol préserve aussi le bois et dans la fabrication de large variété de l'industrie chimique ; le 4-nitrophénol en outre est formé par l'hydrolyse de la parathion insecticide (Dondi, 1983).

La pollution de l'environnement est concernée par les chlorophénols à cause de leurs toxicités et leur vaste distribution. L'eau usée contenant les chlorinates des phénols gaiacoles et catechols et certains de ces phénols s'accumulent dans les poissons. (Journal of chromatography, 279 ; 1983).

Le pentachlorophénol et son dérivé sodique sont employés comme herbicides et dans la protection des bois.

Les phénols et dérivés phénolés sont des produits chimiques largement utilisés dans la fabrication des matières plastiques, des produits pharmaceutiques, des colorants et des pesticides. Ce sont des sous produits de combustion de certains procédés industriels, et ils peuvent être formés lors de processus biologiques. Ils sont donc largement utilisés et sont considérés comme des polluants importants des rejets industriels et

agricoles (Noyes, 1980 ; S.C.B.P.E. et al., 1980). Beaucoup de composés phénolés sont toxiques pour les organismes aquatiques, et peuvent provoquer des désagréments organoleptiques dans l'alimentation, même à très faible concentration (Armentrout et al., 1979 ; Realini, 1981). Les communautés Européennes, dans leur directive relative à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine, ont fixé à $0,5 \mu\text{g}/\text{l}$ la concentration maximale admissible en phénols (CEE, 1980).

Les valeurs obtenues par la méthode chromatographique pour les différentes stations couvertes par ce travail, sont consignées dans les tableaux n° 1, 2, 3 et 4.

Ils varient entre $20,8$ et $31,9 \mu\text{g}/\text{l}$ au niveau des deux égouts (E_1 et E_2).

Au niveau de la radiale R_1 on trouve des valeurs comprises $12,6 - 21,1 \mu\text{g}/\text{l}$; la deuxième radiale R_2 présente des concentrations variants de $7,6 - 15,5 \mu\text{g}/\text{l}$.

Au niveau de la troisième radiale R_3 les valeurs se situent entre $10,3$ et $15,5 \mu\text{g}/\text{l}$, tandis qu'à la station n° 10 la concentration a nettement diminué ($10 \mu\text{g}/\text{l}$).

Les histogrammes de l'évaluation de la concentration des différents phénols montrent des répartitions plus ou moins homogènes pour tous les échantillons analysés.

La concentration du composé phénol enregistrée dans les différentes stations présente des fluctuations plus ou moins importantes. Ainsi, les valeurs obtenues varient dans l'intervalle $[0,5 - 3,2] \mu\text{g}/\text{l}$; la valeur la plus élevée se situe au niveau de la station n°2 et la valeur la plus basse se situe au niveau de l'égout E_1 (échantillon B).

Pour le 2-nitrophénol, on observe sur presque la totalité des stations que la concentration est homogène, sauf au niveau de la station de Reghaia et la station E_2 (échantillon A) qui ont des concentrations élevées ($8,6$ et $12,1 \mu\text{g}/\text{l}$) respectivement.

La plus faible valeur ($2,1 \mu\text{g} / \text{l}$) à été relevé au niveau de la station n°6; la plus élevée se situe au niveau du deuxième égout E_2 (échantillon A) avec un taux de $12,1 \mu\text{g} / \text{l}$. Le 4-nitrophénol, est absent dans presque la totalité des stations, sauf au niveau de l'égout E_1 échantillon C ($5,02 \mu\text{g} / \text{l}$); son absence dans l'eau de mer peut être dûe soit aux réactions chimiques avec d'autres composés organiques soit à son évaporation rapide.

Il en est de même pour le 2,4-dinitrophénol, qui est détecté uniquement au niveau de Reghaia et de l'égout E_1 , la valeur la plus faible se situe au niveau de la station de Reghaia ($0,55 \mu\text{g} / \text{l}$) et la valeur la plus élevée, au niveau de l'égout E_1 échantillon C ($1,9 \mu\text{g} / \text{l}$).

Le 2,4,6-trichlorophénol est présent seulement au niveau du premier égout E_1 échantillon C avec une valeur $1,27 \mu\text{g} / \text{l}$ et au niveau de la station n°1 de la première radiale R_1 qui suit le déversement des eaux usées du premier égout ($0,4 \mu\text{g} / \text{l}$).

La concentration la plus élevée en 2,4-dichlorophénol se trouve au niveau de la station n°2 de la première radiale R_1 ($2,8 \mu\text{g} / \text{l}$) et la plus faible, au niveau de l'égout E_1 échantillon B avec une valeur de $0,5 \mu\text{g} / \text{l}$; on remarque plus on va vers le large, plus sa concentration diminue jusqu'à sa disparition totale au niveau des stations : 8, 9 et 10.

Pour ce qui concerne le 2,4-diméthylphénol on trouve des fluctuations des concentrations dans les différentes stations et son absence au niveau de la station n°1 et de Reghaia. La valeur la plus élevée se situe au niveau de l'égout E_1 ($14,1 \mu\text{g} / \text{l}$) et la valeur la plus basse se trouve au niveau de la station n°6 ($1,3 \mu\text{g} / \text{l}$), ces différentes

concentrations sont peut être dûs à la nature même de ce composé ou bien encore à la biodégradation.

Les concentrations enregistrées dans les différentes stations pour le 4-méthylphénol présentent des fluctuations relativement importantes. Ainsi, les valeurs obtenues varient dans l'intervalle [1,17 – 4,02] $\mu\text{g} / \text{l}$.

On remarque pour le 4-chlorophénol, la concentration la plus élevée se situe au niveau de la station de Reghaia avec une valeur de 2,67 $\mu\text{g} / \text{l}$, comme on le retrouve au niveau des deux égouts E1 et E2 (1,12 – 2,12) $\mu\text{g} / \text{l}$ et aussi au niveau de la station n°1 de la première radiale qui suit le déversement des eaux usées dans la mer du premier égout avec une valeur de 2,02 $\mu\text{g} / \text{l}$.

Le 2-chlorophénol est présent au niveau de toutes les stations sauf au niveau de la Station n°1 et à Reghaia contrairement au 4-chlorophénol, les concentrations les plus élevées se trouvent au niveau des deux égouts (E₁ et E₂) avec une valeur de 3,25 $\mu\text{g} / \text{l}$ au niveau de l'égout E1 échantillon C et la concentration la plus faible se trouve au niveau de la station n°10 (0,4 $\mu\text{g} / \text{l}$), ces différentes concentrations sont peut être dûs à la nature même de déversement.

Enfin, le pentachlorophénol est détecté uniquement au niveau de l'égout E₁ échantillon C (0,75 $\mu\text{g} / \text{l}$) et au niveau de la station de Reghaia 0,25 $\mu\text{g} / \text{l}$.

L'histogramme de l'évaluation des phénols totaux par la méthode HPLC et par la méthode colorimétrique montre que la concentration des phénols totaux par la méthode HPLC au niveau des différentes stations et au niveau des deux égouts suivent les mêmes fluctuations que celle de la concentration des phénols totaux par la méthode

colorimétrique ; bien sûr ce sont deux méthodes totalement différentes, car la méthode HPLC permet de nous donner les différentes formes de phénols qui existent dans l'échantillon, ce qui va nous permettre de calculer la concentration de chaque phénol avec précision et en fin on fait la somme des concentrations de ces différents composés de cet échantillon. On remarque alors que les valeurs se situent entre $[20,8-31,9] \mu\text{g} / \text{l}$ au niveau de l'égout, et entre $[7,6 - 21,1] \mu\text{g} / \text{l}$ au niveau des différentes stations, la valeur la plus élevée se situe au niveau de l'égout E₁ échantillon C est de $31,9 \mu\text{g} / \text{l}$ et au niveau de la radiale R₁ la station n°2 ($21,1 \mu\text{g} / \text{l}$) et la valeur la plus faible se situe au niveau de la radiale R₂ station n°6 qui est de $7,6 \mu\text{g} / \text{l}$.

Le rapport de la Commission Internationale pour l'exploration Scientifique de la Mer Méditerranéenne (CIESM; 1977) note un coefficient de corrélation de la concentration des phénols dans l'eau et 77 échantillons biologiques $r = + 0,31$ ($P < 0,01$) ce qui indique une légère connexion entre les concentrations dans l'eau et l'accumulation dans les organismes.

La présence des phénols endogènes, résultant du métabolisme des plantes et animaux, devraient être pris en considération. A des endroits où les concentrations des phénols sont $< 1 \mu\text{g} / \text{l}$ de l'eau de mer, les concentrations des phénols dans les organismes marins sont $< 5 \text{ mg} / \text{kg}$.

Avec ces résultats on ne peut conclure que ces phénols s'accumulent moins chez certains organismes.

Conclusion

De par sa fiabilité, sa précision et sa haute résolution, la chromatographie en phase liquide avec détecteur UV variable Jasco adaptée à ce type d'analyse, reste l'une des techniques de choix dans le contrôle et le suivi de la pollution dans les eaux.

Nous avons pu ainsi obtenir une bonne séparation des 11 phénols par la chromatographie de partage en phase inversée.

Lors du prétraitement des échantillons, les risques de pertes des phénols sont importants. Pour les minimiser, les plus hautes précautions doivent être prises, en particulier lors de l'étape de concentration des échantillons.

Quant à l'analyse proprement dite, l'HPLC avec une colonne C18 et un détecteur UV variable se prête convenablement à la séparation des différentes formes de phénol dissous dans les eaux usées et dans l'eau de mer, la chromatographie en phase liquide (HPLC) est plus adaptée en particulier dans la détection.

Sur le plan de la pollution marine, nous remarquons que les taux en phénol varient de 20,8 à 31,9 µg/l au niveau des deux égouts et de 7,6 à 21,1 µg/l au niveau des autres stations.

Nos valeurs restent élevées devant celles trouvées dans les autres stations en E₁ échantillon C et la station n°2 de la première radiale [21,1 – 31,9] µg/l.

On peut remarquer aussi que les 11 phénols analysés sont présents au niveau de l'égout E₁ échantillon C, par contre, pour la station de Reghaia, on trouve surtout des phénols qui sont d'origine industrielle et agricole.

La nuisance la plus marquante des phénols est la présence du chlorophénol, les valeurs les plus élevées pour le 4-chlorophénol se situent au niveau de la station de Reghaia et au niveau de l'égout E₁ échantillon C [2 – 2,7] µg / l.

Ainsi, pour le 2-chlorophénol les valeurs les plus élevées se situent au niveau de l'égout E₁ échantillons A et C (2,7 – 3,4) µg / l.

La décomposition des produits végétaux, comme la lignine, ainsi que les eaux résiduaires industrielles de cellulose peuvent conduire à l'émission de produits phénoliques.

Ces produits phénoliques évoluent d'ailleurs assez rapidement sous l'influence de la biodégradabilité, variable selon les molécules. (Rodier, 1975)

Le nombre d'échantillon traités ne permet pas une analyse affinée de la pollution phénolique par les eaux usées dans le site étudié. Ces derniers, constituent malgré tous une zone où les risques de pollution sont importants. Effectivement les valeurs trouvées par ces différentes formes de phénols reflètent une contamination certaine par les eaux usées.

Enfin, la méthode chromatographique liquide à haute performance (HPLC) nous permet, lors de prochains travaux de pouvoir mettre en évidence la nature du composé phénolique présent et de mieux suivre son abattement le long de la filière de traitement.

CONCLUSION GENERALE

Dans ce travail, deux méthodes ont été employées pour l'évaluation des composés phénoliques : colorimétrie et chromatographie liquide à haute performance (HPLC).

La méthode colorimétrique basée sur la complexation des phénols par la formation d'un complexe extractible au chloroforme entre l'antipyrine et les phénols, est une technique facile à mettre en œuvre, précise, reproductible et sensible, cependant, elle ne permet d'évaluer que les phénols totaux, et ne distingue pas les phénols des chlorophénols beaucoup plus délétères et présents dans toutes les eaux javellisées contenant des phénols.

Dans le but d'une évaluation individuelle des phénols et des chlorophénols, nous avons eu recours à la chromatographie liquide à haute performance.

Cette technique permet de distinguer les 11 polluants phénoliques prioritaires répertoriés par l'agence de protection de l'environnement EPA. (Etats Unis).

Des coefficients de variations convenables ont été obtenus pour tous les phénols qui absorbent de façon intense à 280 nm.

La littérature suggère aussi le couplage des méthodes colorimétriques et Chromatographiques ; on pourrait alors doser individuellement et avec une grande sensibilité les phénols complexés à l'antipyrine. (Journal of chromatography, 257. GB10, .Dondi (1983)).

L'objectif principal de notre étude est de nous familiariser avec quelques techniques d'analyse de micropolluants organiques présents à l'état de traces dans l'eau de mer. L'HPLC nous a permis de réaliser une analyse quantitative et qualitative des phénols ; elle reste la méthode de choix, en particulier dans la détection de ces derniers.

Les valeurs trouvées restent à confirmer par une densification temporelle de l'échantillonnage.

Quelle sera la conséquence, sur la pollution des eaux, de l'expansion démographique, urbaine et industrielle prévue pour les années qui viennent ? Il est reconnu que cette évolution, si l'on ne prenait pas les mesures nécessaires, aggraverait le déséquilibre constaté dans beaucoup de cas entre les ressources et les besoins en eau et aggraverait aussi la pollution. Quelles sont donc les mesures essentielles nécessaires pour que la lutte contre la pollution soit efficace ?

L'expérience montre que, plus on concentre de foules humaines, plus on développe et concentre les industries, plus il faut de disciplines et au besoin, de contraintes pour assurer l'hygiène et la salubrité publique et permettre aux habitants de vivre autrement qu'au milieu des déchets.

Mais si l'on veut imposer à la population et aux industriels des disciplines et obtenir qu'ils les appliquent, il faut leur en expliquer le mieux possible la nécessité. Pour que les citoyens aient bien conscience de la dégradation du milieu dans lequel ils vivent, pour qu'ils se sentent, les uns et les autres, plus ou moins responsables dans certains cas, pour qu'ils réagissent contre cette dégradation et incitent les pouvoirs publics à

prendre les mesures entraînant des conséquences acceptées d'avance par les citoyens, il faut que l'information soit franche, approfondie et précise. De plus, cette éducation des citoyens doit se faire suivant une ligne directrice bien adaptée si l'on veut éviter de tomber dans la confusion.

Du fait de la croissance démographique et des concentrations urbaines, du développement industriel, de l'abondance de nouveaux produits synthèses, les problèmes se posent chaque jour avec davantage d'acuité et les solutions adoptées exigent des investissements de plus en plus considérables. Plus on cherche à mieux saisir ces problèmes, plus on découvre qu'ils comportent beaucoup d'inconnues scientifiques, techniques et économiques, et que les solutions classiques ne sont pas toujours techniquement et économiquement valables. La recherche présente donc dans ce domaine un intérêt considérable.



Bibliographie

Bibliographie

- 1 – ***K. Abrahamson and T.M. Xie ; 1983 – Journal of chromatography.***
pp. 200 – 207.
- 2 – ***P. Alarçon, A. Bustos. ; Chromatographie 24 ; 1987, 873, 816.***
- 3 – ***P. Alonzo et al ; 1999 – Journal of chromatography.***
- 4 – ***A. Aminot., Chaussepeid. M. ; 1980 – Manuel***
CNEXO, Brest, 395. pp. 321 – 336.
- 5 – ***S. Andrew, Jr. Clayton, H. Heathcook ; 1986 – Introduction à la chimie organique ;***
Ed. Ellipses (Paris) France. p.415.
- 6 – ***M. Assoul et N. Khennache ; 1995 – Détermination de la pollution phénolique dans***
les eaux. Mémoire Ingénieur, Génie de l'Environnement. U.S.T.H.B.
- 7 – ***N.G. Buckman, J.O. Hill and R.J. Magée ; 1994 – Journal of chromatography.***
pp. 441 – 446.
- 8 – ***W.D. Bowers, M.L. Parson ; 1981 – Journal of chromatography, 207, 203.***
- 9 – ***Bulletin de la Société Chimique de France. fascicule 1 ; 1971.***
Masson et Cie.
- 10 – ***G. Charlot ; 1992 – Dosages colorimétriques des éléments minéraux.***
Ed. Masson, Paris.
- 11 – ***R. Colas ; 1968 – La pollution des eaux.***
(Presses Universitaires de France, collection " Que sais – je" , 2^e Ed. Paris).

- 12 – R. Colas ; 1967 – *La pollution d'imprégnation : un danger pour l'avenir*
(*La tribune du Cedebeau*, vol. 20 N°187, Liège). pp. 426 – 430.
- 13 – R. Colas ; 1968 – *La pollution des eaux.*
P.U.F., *Collection que sais – je ?* N°983.
- 14 – R. Colas ; 1964 – *Les efforts et les réalisations des industries dans la lutte contre la pollution.*
Communication faite aux journées d'étude de la pollution industrielle des eaux, à Paris le 8 décembre 1964. (Centre de Perfectionnement Technique, Paris).
- 15 – T.R. Crompton ; 1985 – *Determination of organic substances in water. Vol.2*
- 16 – L. Divet., P. Schulhof. ; 1980 – *Le traitement des eaux.*
P.U.F
- 17 – F. Dondi., A. Betti and C. Bigli ; 1983 – *Journal of chromatography, 257, GB10.,*
pp. 69 – 79.
- 18 – F. Dratz et C. Gomella ; 1967 – *Micropollutions et turbidité.*
(*La Technique de l'eau* , N° 243, mars 1967).
- 19 – C. Gomella ; 1968 – *Pollutions et micropollutions des eaux de surfaces.*
Incidence technique et économique sur la production d'eau d'alimentation.
(*L'eau*, 55, N°2, Paris, février 1968). pp. 67 – 73.
- 20 – K. Grob. Jr and H.P. Neukon ; 1984 - *Journal of chromatography.*
pp. 49 – 54.
- 21 – G.S.R.P. Volume n°1 ; 1995 – *Les rejets urbains en mer Méditerranée.*
p. 13.

- 22 – G. Mahuzier et M. Hamon ; 1994 – *Abrégé de chimie analytique.*
Tome 2. Méthode de séparation, 2^e Edition.
- 23 – R. Maurice ; 1991 – *Les plastiques ; polymères, transformations et applications.*
2^e Edition, Ed. Hermes (Paris) France : p. 284.
- 24 – L.C. Maurice ; 1994 – *Chimie organique ; Réactions, Mécanismes, Fonctions.*
Ed. Flammarion et Cie (Paris) France : p. 358.
- 25 – *The Merck Index. An anyclopedia of chemicals and drugs.*
Ninth Edition 1976.
- 26 – I.P.C.S (*International programme on Chemical Safety*).
Environnemental Health Critéria 161. Genève 1994. pp. 136 – 143.
- 27 – O.M.S (*Organisation Mondiale de la Santé*) ; 1994 – *Principes et directives applicables au déversement de déchets dans le milieu marin.*
- 28 – C. Ouahes ; 1988 – *Chimie organique ; sciences biomédicales et sciences de la nature, réimpression OPU. (Alger) Algérie. p.420.*
- 29 – J.M. Peres, M. Gautier, F. Soudan, Bellou – Santini ; 1976 – *La pollution des eaux marines. Ed. Gautiers – Villars. p.231.*
- 30 – F. Ramade ; 1982 – *Elément d'écologie : écologie appliquée.*
Ed. MC. Graw – Hill. p. 452.
- 31 – *Revue environnement, chromatography catalog 23 ; 1985.*
- 32 – *Revue Française des sciences de l'eau , vol.3 N°1 ; 1994.*
Lavoisier Abonnements. Paris.
- 33 – *Revue Internationale d'Océanographie Médicale ; 1972 – Pollutions chimiques de la mer. Tome 28.*

34 – M..J. Rodier ; 1984 – *Analyse de l'eau.*

Ed. Dunod.

35 – R. Rosset, M. Caud, A. Jardy ; 1982 – *Manuel pratique de chromatographie en phase liquide. Ed. Masson ; Paris. p. 374*

36 – N. Tellia ; 1994 – *Thèse de Magister.*

Dérivation chimique dans l'analyse des hydrocarbures polluants la nappe phréatique.

37 – B. Ouadjenak ; 1986 – *Thèse de Magister.*

Dérivation chimique de l'analyse de la fonction phénol.

38 – M. Touabet ; 1991 – *Thèse de doctorat en chimie.*

Quelques aspects de la chromatographie en chimie inorganique et organométallique.

39 – J.R. Vaillant ; 1973 – *Protection de la qualité des eaux et maîtrise de pollution.*

Coll. du BCEOM, Ed. Eyrolles.

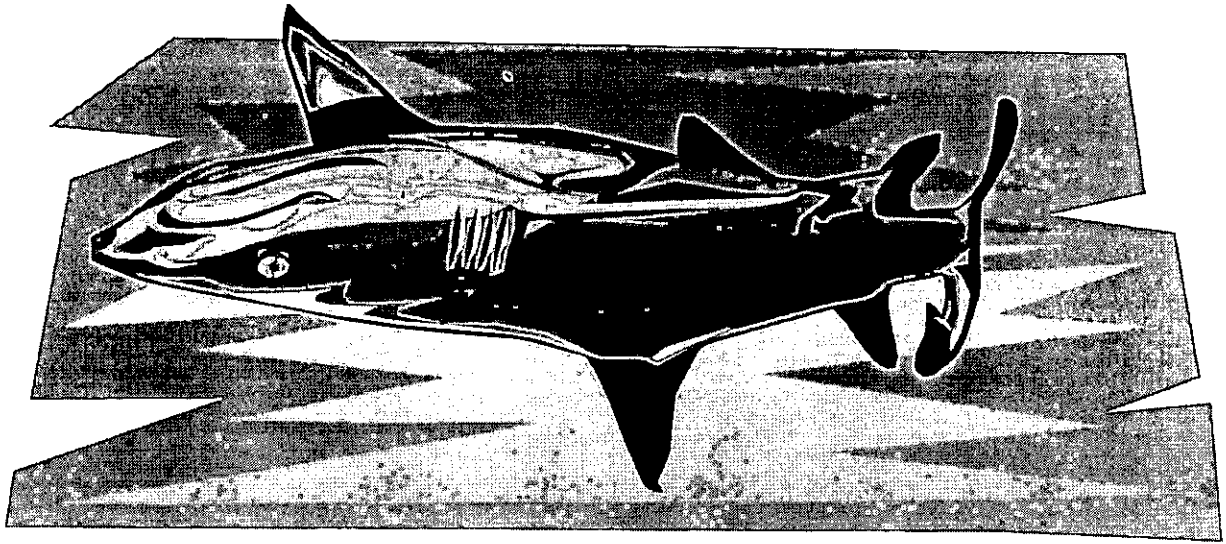
40 – *2020 Vision / 2, a look at waste water disposal 50 years hence (water and wastes engineering, NewYork, vol n°4, avril 1970).*

41 – P. Vivier ; 1961 – *Evolution biologique des eaux.*

L'eau, Paris, mai 1961. pp. 128 – 131.

42 – B. Schultz ; 1983 – *Journal of chromatography.*

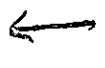
pp. 208 – 212.



Annexe

Tableau n°4: Hauteur des pics et temps du rétention pour les différentes stations.

A /



Produits	1		2		3		4		5		6		7		8	
	tr (mn)	h (mm)	tr (mn)	H (mm)	tr (mn)	h (mm)	tr (mn)	h (mm)	tr (mn)	h (mm)	tr (mn)	h (mm)	tr (mn)	h (mm)	tr (mn)	h (mm)
a	5,8	22	6	48	5,8	25	5,8	11,5	6	38	5,6	31,5	5,8	12,5	6	21
b	6,6	26	6,8	9	7,8	32,5	6,6	20	6,8	27	5,6	25	6,2	8,5	7,6	16
c	7,2	39	7,6	36	10,8	13	7,6	34	7,6	24	7,6	16	7,6	32,5	9,6	10
d	11,2	10	10	24	11,8	19	10,2	21	9,6	22	10	14,5	10	8,5	12	27
e	14,8	9	11,4	16	13	4	11	20	12,4	13	10,8	4	12,4	19	13	
f	16,8	11	12,4	8	17,6	5			14,6	4			14,2	8		
g			13,6	6					16	2			16	7		
h			18	17					18	7						

NB : h (hauteur du pic)

tr (temps de rétention)

NB

B/

Produtis	9		10		E _{1A}		E _{1B}		E _{1C}		E _{1D}		E _{2A}		Regnaia	
	tr (mm)	h (mm)	tr (mm)	H (mm)	tr (mm)	h (mm)	tr (mm)	h (mm)	tr (mm)	h (mm)	tr (mm)	h (mm)	tr (mm)	h (mm)	tr (mm)	h (mm)
a	6	24	6	17	4	32	6	8	5,6	20,5	3,6	21,5	6	25,5	6	37,5
b	7,6	20	6,4	13,5	5,6	41,5	7,8	25	7,6	31	4,4	6,5	7,8	9,5	7,2	64
c	10	15	7,8	31	7,2	28	9,8	9,5	8,6	15	6	4	10	12	9,6	5
d	12	7	10	18	11,6	42	12	34	8,8	17	7,6	3,5	11,8	15	13	21
e	12,8	12	12	4	13,8	20	14	16	10	16	13,2	3,5	14	13,5	15,6	12
f	14,8	9					15,2	6	11,6	23	16	4	16	11	19,8	3
g							15,8	3	13,6	26						
h			18	17			16,8	3	14,8	9,5						

Tableau n°5 : Concentration des différentes formes des phénols dans les différentes stations.

Station	Produit	hi	[µg/l]	Station	Produit	hi	[µg/l]	Station	Produit	hi	[µg/l]	Station	Produit	hi	[µg/l]	Station	Produit	hi	[µg/l]	Σ
1	Phénol	22	1,475	2	Phénol	48	3,225	3	Phénol	25	1,675	4	Phénol	12,5	0,85	5	Phénol	41,5	2,775	
//	2NO ₂ φ	39	5,225	//	2NO ₂ φ	36	4,825	//	2NO ₂ φ	32,5	4,35	//	2NO ₂ φ	32,5	4,35	//	2NO ₂ φ	28	3,75	
//	4Meφ	10	1,675	//	4Meφ	24	4,025	//	4Meφ	13	2,175	//	4Meφ	8,5	1,425	//	2,4(NO ₂) ₂ φ	5	0,55	
//	2,4(NO ₂) ₂ φ	5	0,55	//	2,4Me ₂ φ	16	5,375	//	2,4Me ₂ φ	19	6,375	//	2,4Me ₂ φ	19	6,375	//	4Meφ	7	1,175	
//	4Meφ	21	3,525	//	2Clφ	6	0,8	//	2Clφ	4	0,525	//	2Clφ	8	1,075	//	2,4Me ₂ φ	42	14,1	
//	4Clφ	12	2,675	//	2,4Cl ₂ φ	17	2,85	//	2,4Cl ₂ φ	5	0,825	//	2Clφ	7	1,175	//	2,4Cl ₂ φ	20	2,675	
//	Cl ₅ φ	3	0,25	Σ				Σ				Σ				Σ				15,92
Σ			18,12	Σ			12,65	Σ			21,1	Σ				Σ				15,25

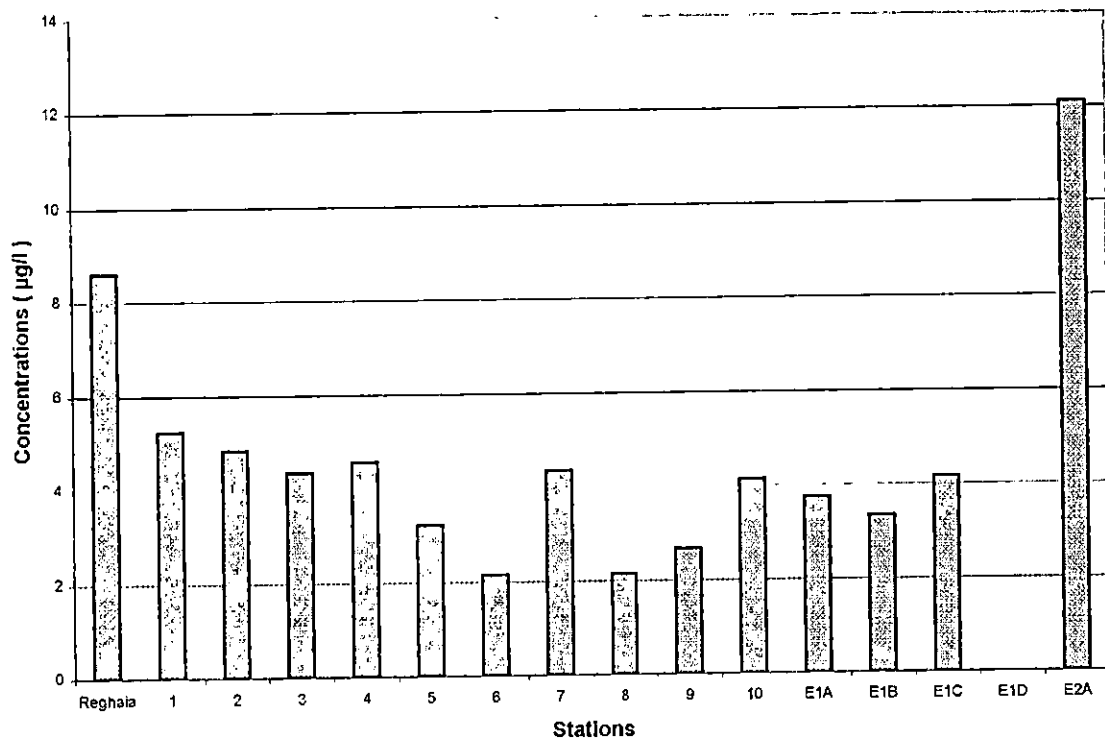
Station	Produit	hi	[µg/l]	Station	Produit	hi	[µg/l]	Station	Produit	hi	[µg/l]	Station	Produit	hi	[µg/l]	Station	Produit	hi	[µg/l]	Σ
5	Phénol	38	2,55	6	Phénol	25	1,675	7	Phénol	12,5	0,85	8	Phénol	41,5	2,775	9	Phénol	24	1,6	
//	2NO ₂ φ	24	3,225	//	2NO ₂ φ	16	2,15	//	2NO ₂ φ	31	4,15	//	2NO ₂ φ	28	3,75	//	2NO ₂ φ	20	2,675	
//	4Meφ	22	3,65	//	4Meφ	14,5	2,425	//	4Meφ	18	3,025	//	4Meφ	15	2,525	//	4Meφ	15	2,525	
//	2,4Me ₂ φ	13	4,35	//	2,4Me ₂ φ	4	1,35	//	2,4Me ₂ φ	4	1,35	//	2,4Me ₂ φ	7	2,35	//	2,4Me ₂ φ	7	2,35	
//	2Clφ	4	0,525					//	2Clφ	3	0,4					//	2Clφ	9	1,2	
//	2,4Cl ₂ φ	7	1,175	Σ				Σ				Σ				Σ				10,35
Σ			15,47	Σ			7,6	Σ			10,07	Σ				Σ				10,35

Station	Produit	hi	[µg/l]	Station	Produit	hi	[µg/l]	Station	Produit	hi	[µg/l]	Station	Produit	hi	[µg/l]	Station	Produit	hi	[µg/l]	Σ
9	Phénol	24	1,6	10	Phénol	17	1,15	E _{1A}	Phénol	41,5	2,775	11	Phénol	21	1,4	12	Phénol	16	2,15	
//	2NO ₂ φ	20	2,675	//	2NO ₂ φ	31	4,15	//	2NO ₂ φ	28	3,75	//	2NO ₂ φ	16	2,15	//	2NO ₂ φ	16	2,15	
//	4Meφ	15	2,525	//	4Meφ	18	3,025	//	4Meφ	15	2,525	//	4Meφ	10	1,675	//	4Meφ	10	1,675	
//	2,4Me ₂ φ	7	2,35	//	2,4Me ₂ φ	4	1,35	//	2,4Me ₂ φ	4	1,35	//	2,4Me ₂ φ	7	2,35	//	2,4Me ₂ φ	27	9,05	
//	2Clφ	9	1,2	//	2Clφ	3	0,4	//	2Clφ	3	0,4	//	2Clφ	9	1,2	//	2Clφ	9	1,2	
Σ			10,35	Σ			10,07	Σ			10,07	Σ				Σ				15,47

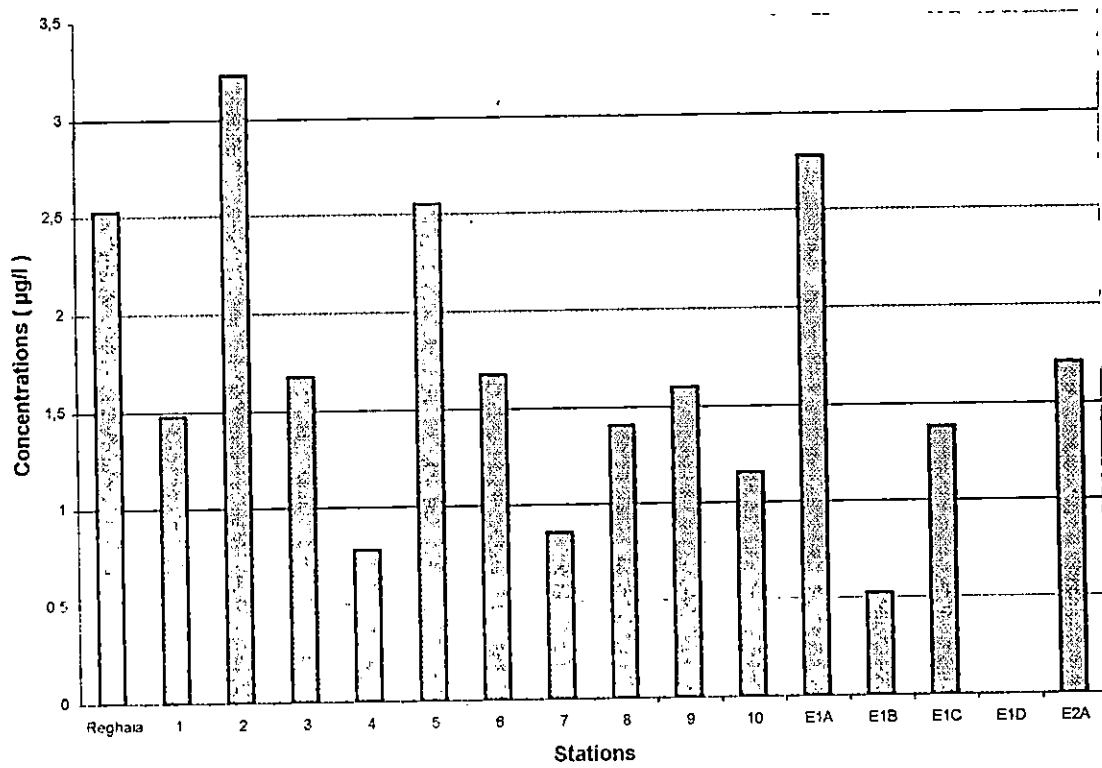
Station	Produit	hi	[µg/l]
E1c	Phénol	20,5	1,375
//	2NO ₂ φ	31	4,16
//	4NO ₂ φ	15	5,025
//	2,4(NO ₂) ₂ φ	17	1,9
//	4Meφ	16	2,675
//	2,4Me ₂ φ	23	7,725
//	2Clφ	26	3,25
//	4Clφ	9,5	2,125
//	2,4Cl ₂ φ	10	1,675
//	2,4,6Cl ₃ φ	9,5	1,275
//	Cl ₅ φ	9	0,75
Σ			31,93
Station	Produit	hi	[µg/l]
E2a	Phénol	25,5	1,71
//	2NO ₂ φ	9,5	12,1
//	4Meφ	12	2,025
//	2,4Me ₂ φ	15	5,025
//	2Clφ	13,5	1,8
//	4Clφ	5	1,125
Σ			23,77

Station	Produit	hi	[µg/l]
1B	Phénol	8	0,525
//	2NO ₂ φ	25	3,350
//	4Meφ	9,5	1,6
//	2,4Me ₂ φ	34	11,4
//	2Clφ	16	2,150
//	4Clφ	6	1,350
//	2,4Cl ₂ φ	3	0,5
Σ			20,87

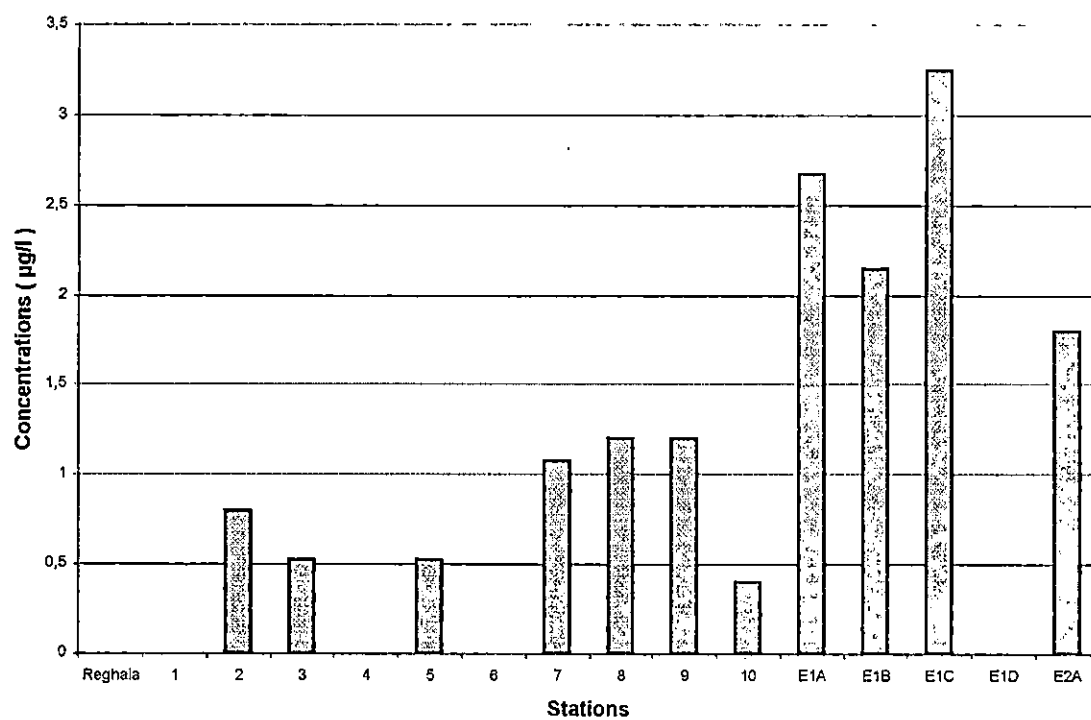
Evaluation de la concentration du 2-nitrophénol



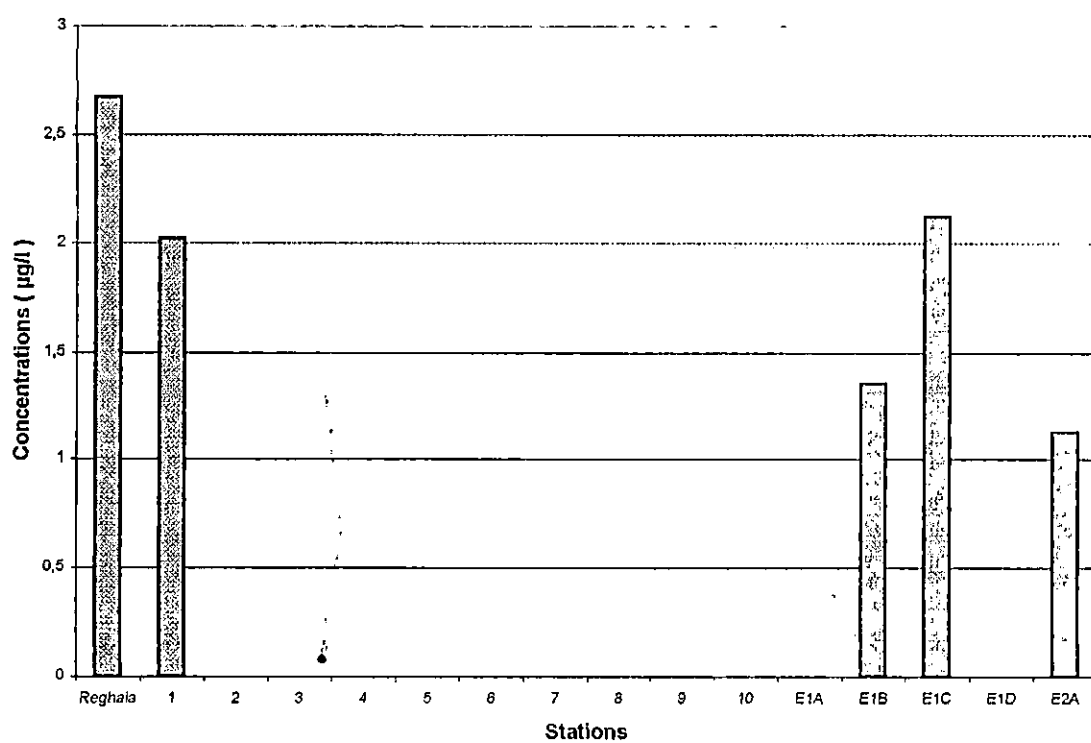
Evaluation de la concentration du phénol



Evaluation de la concentration du 2-chlorophénol

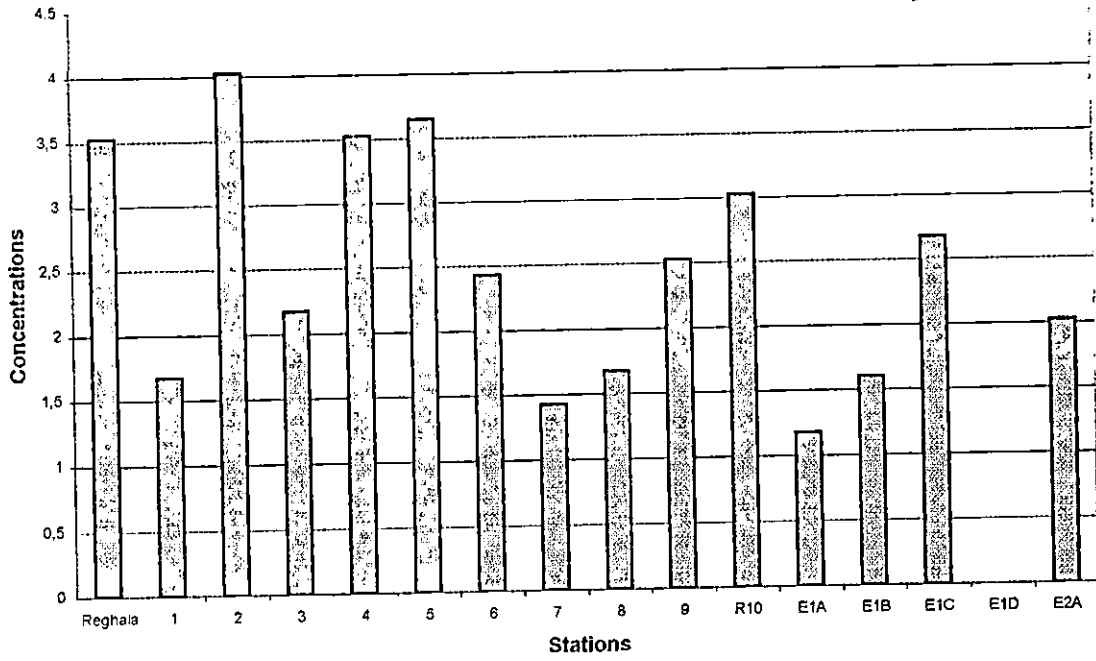


Evaluation de la concentration du 4-chlorophénol

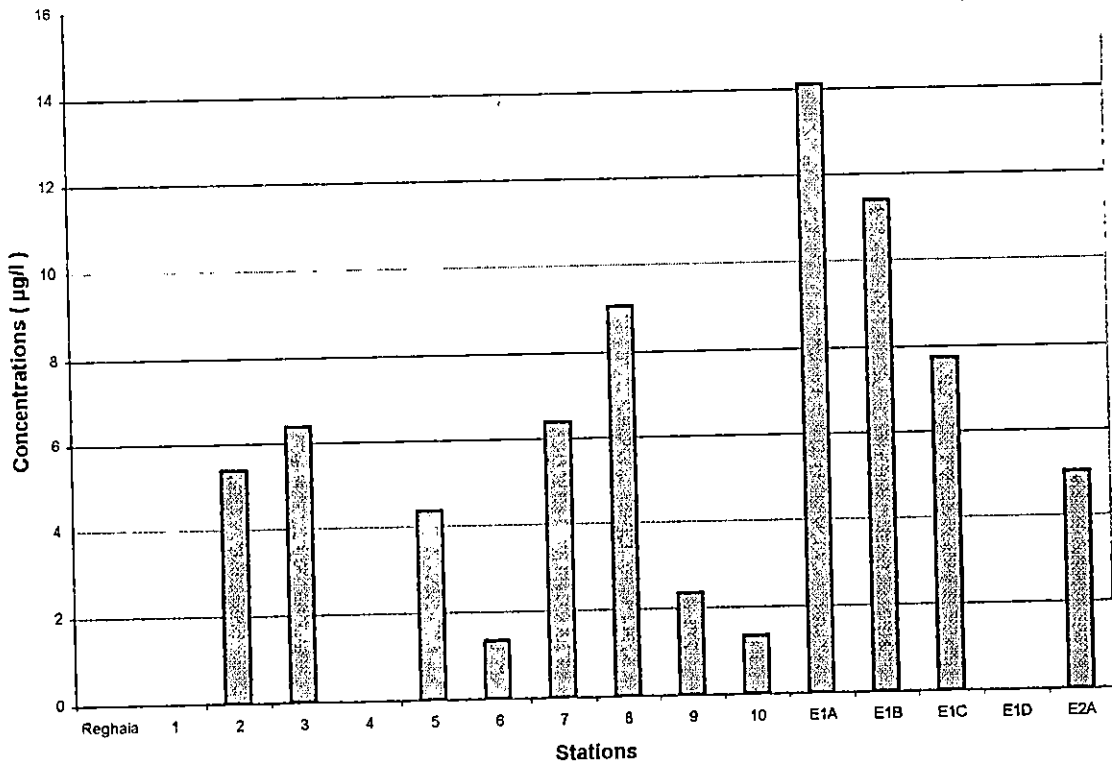


Stations

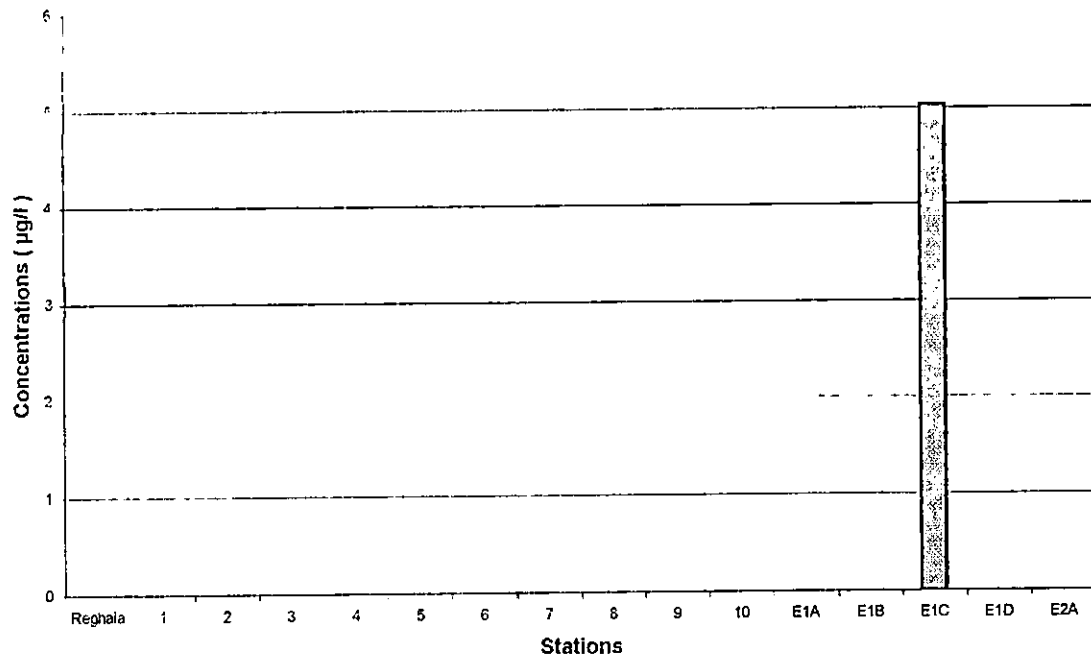
Evaluation de la concentration du 4-méthylphénol



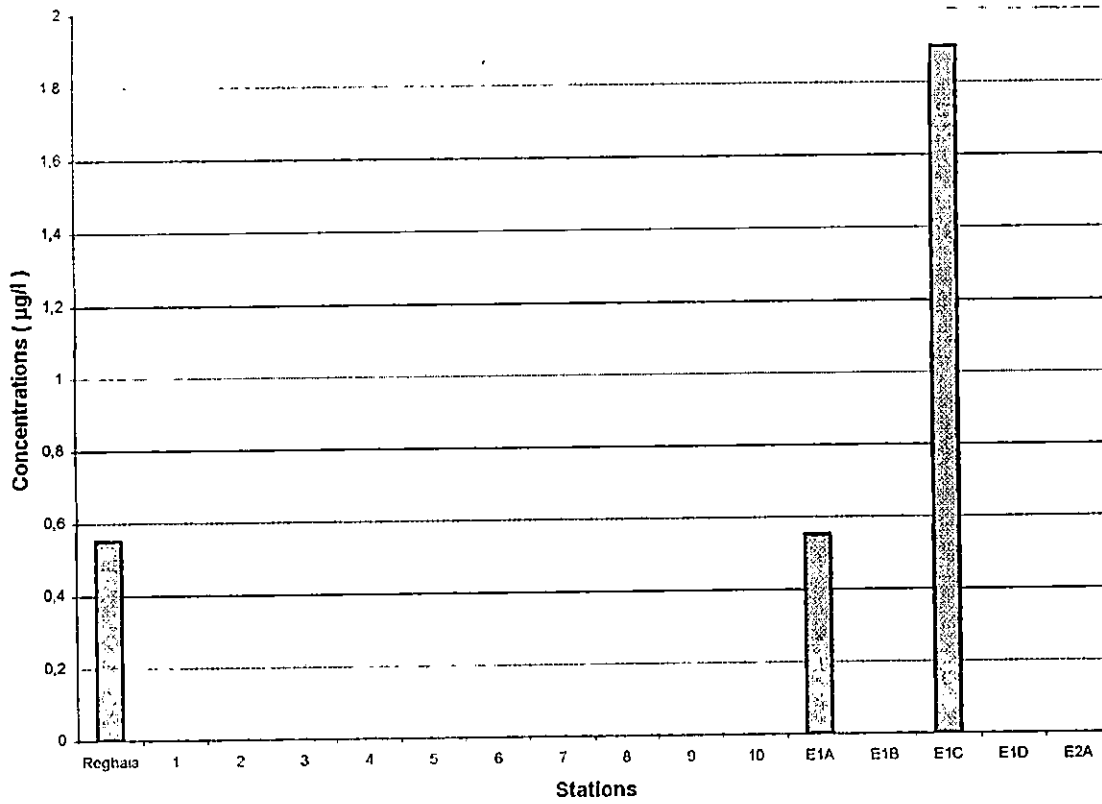
Evaluation de la concentration du 2,4-diméthylphénol



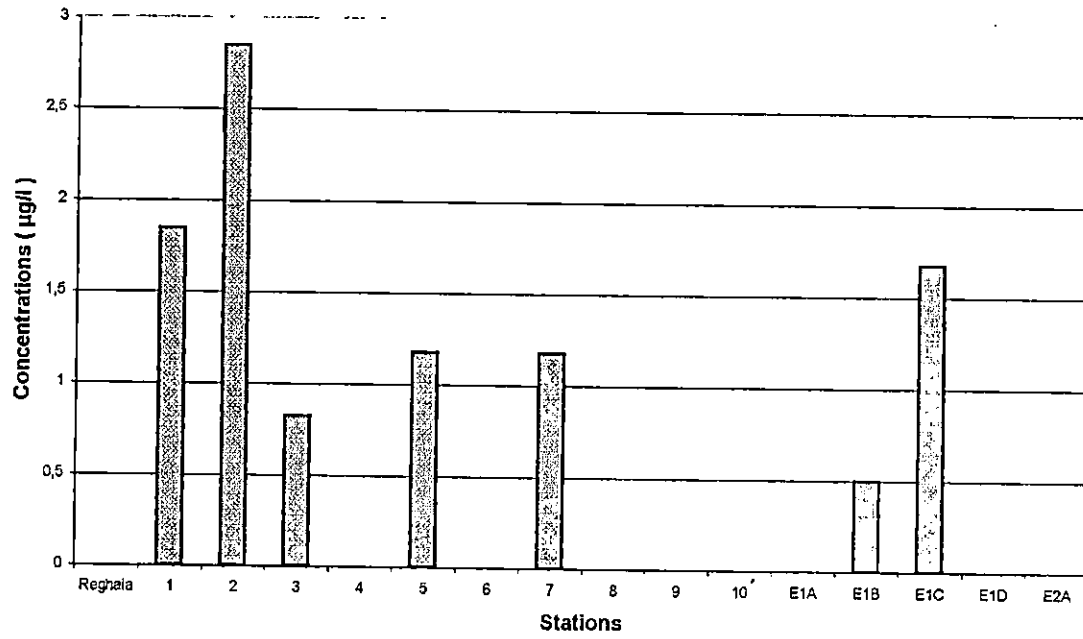
Evaluation de la concentration du 4-nitrophénol



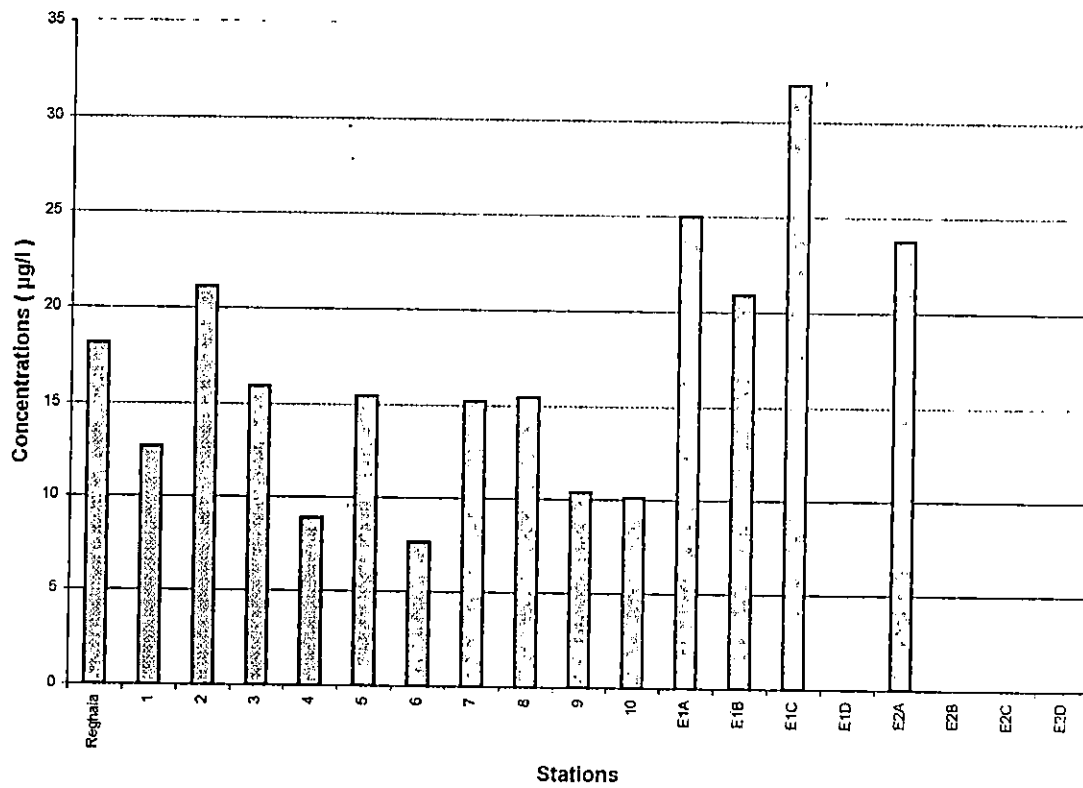
Evaluation de la concentration du 2,4-nitrophénol



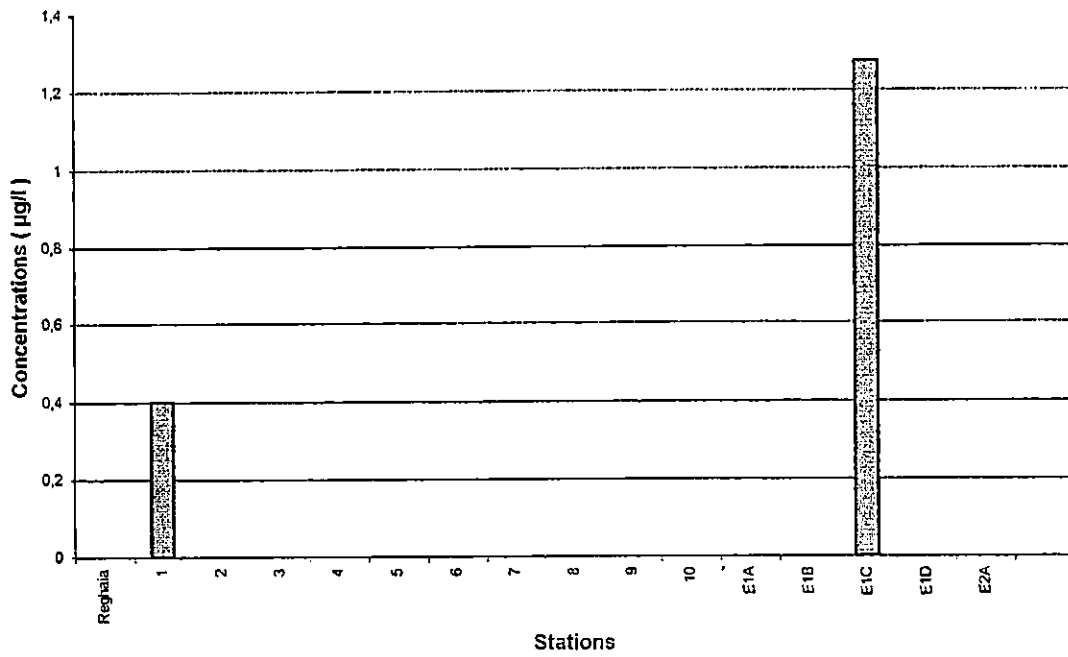
Evaluation de la concentration du 2,4-dichlorophéno



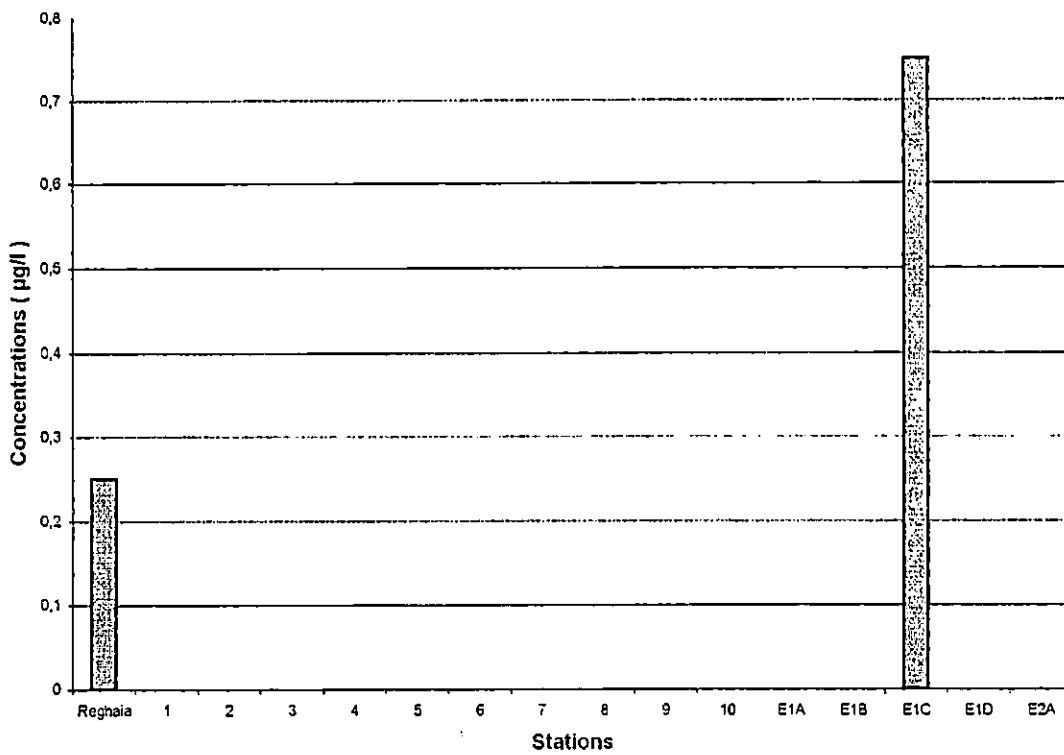
Evaluation des phénols totaux par HPLC



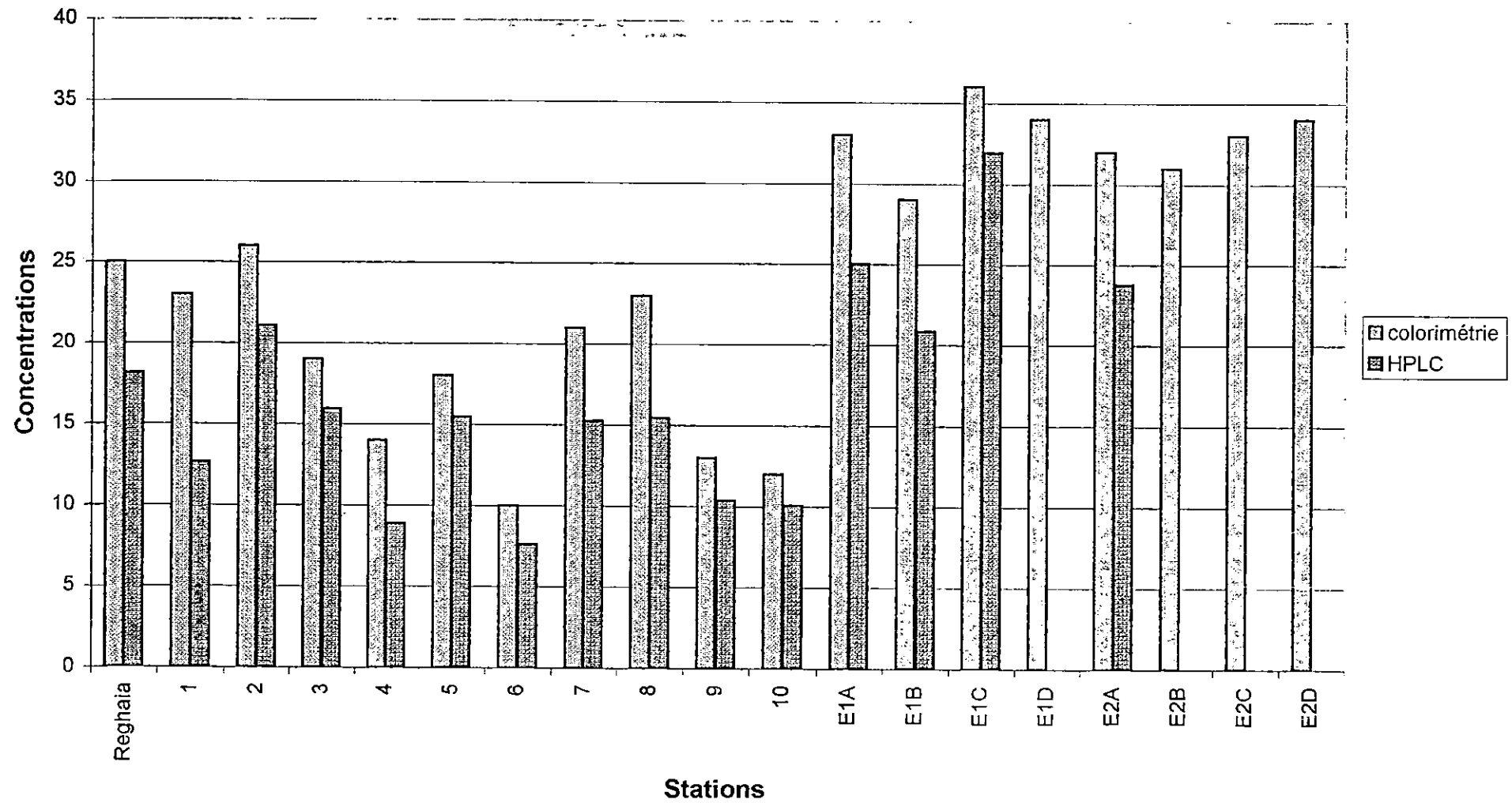
Evaluation de la concentration du 2,4,6-trichlorophénol



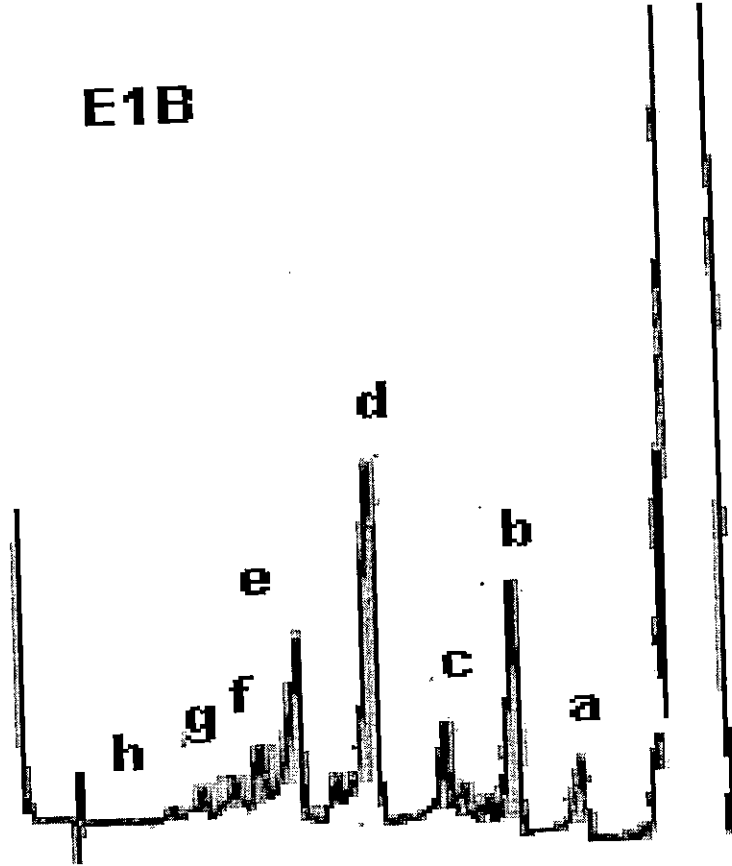
Evaluation de la concentration du pentachlorophénol



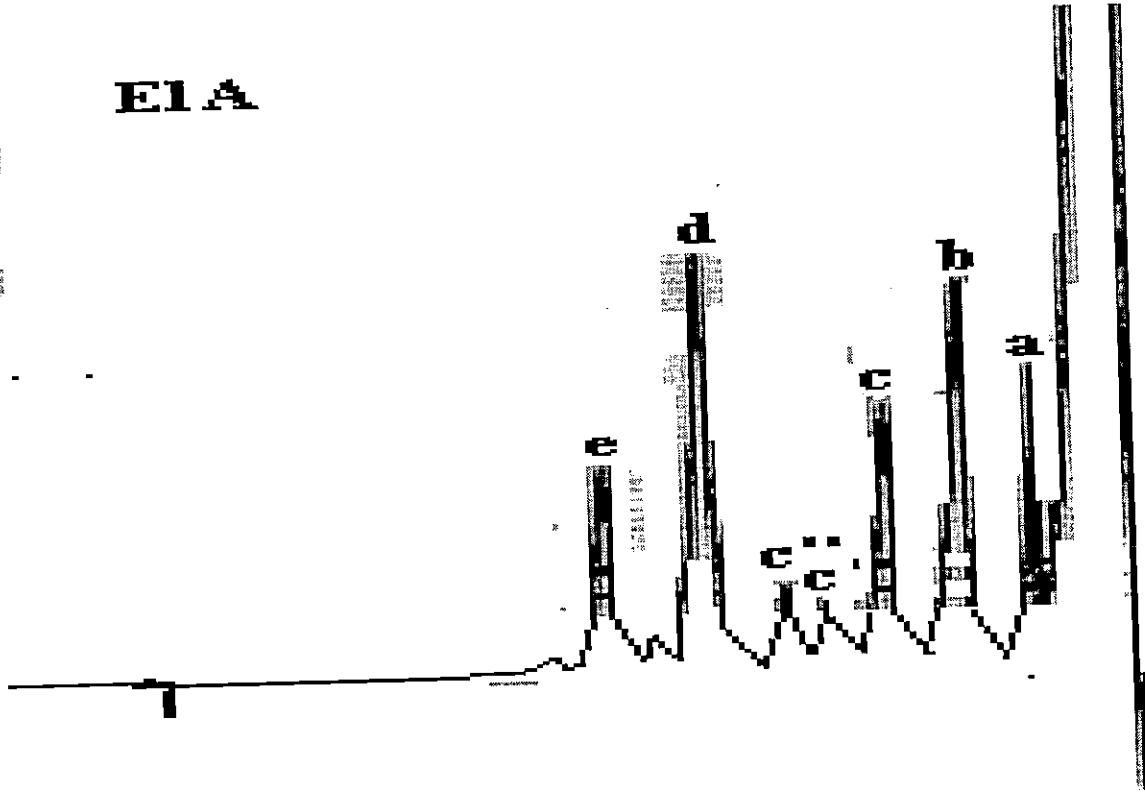
Evaluation des phénols totaux par colorimétrie et HPLC



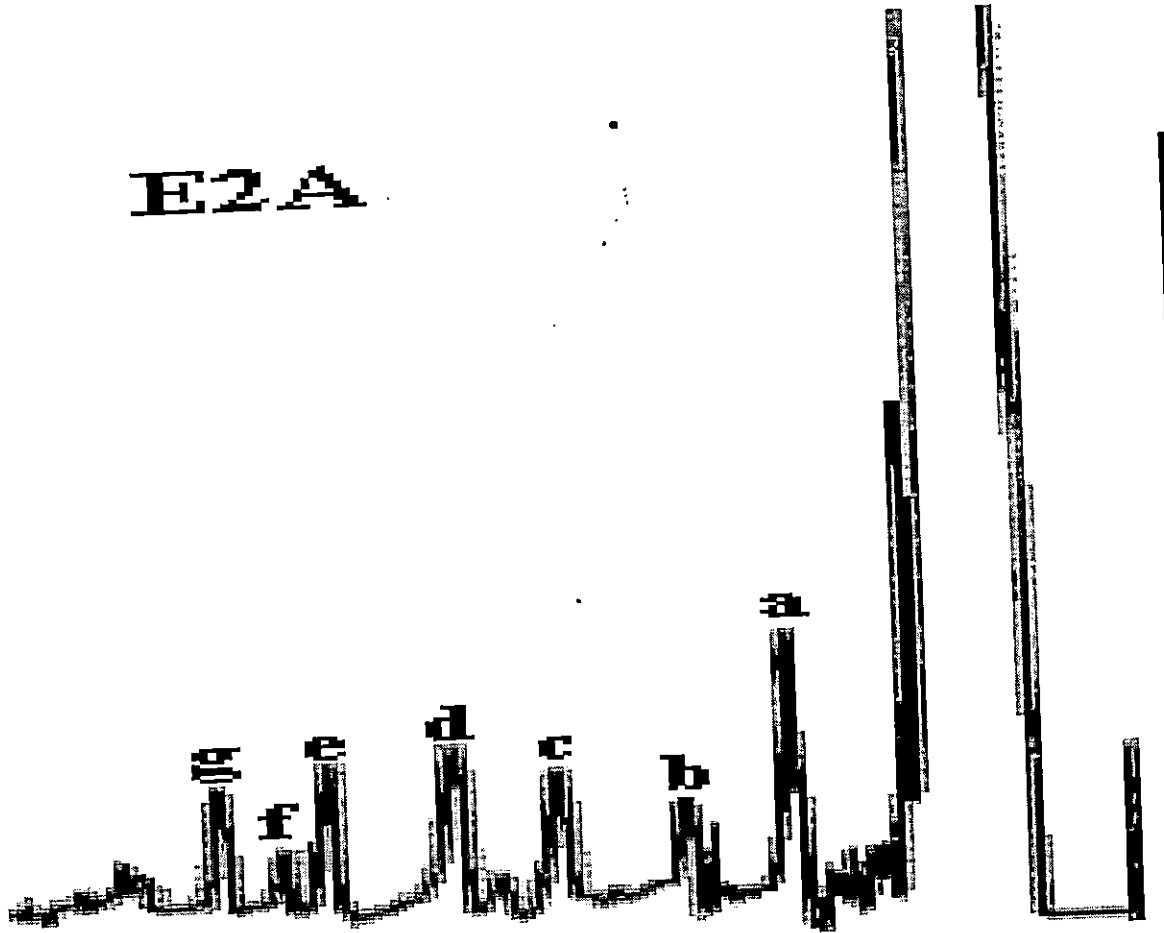
E1B



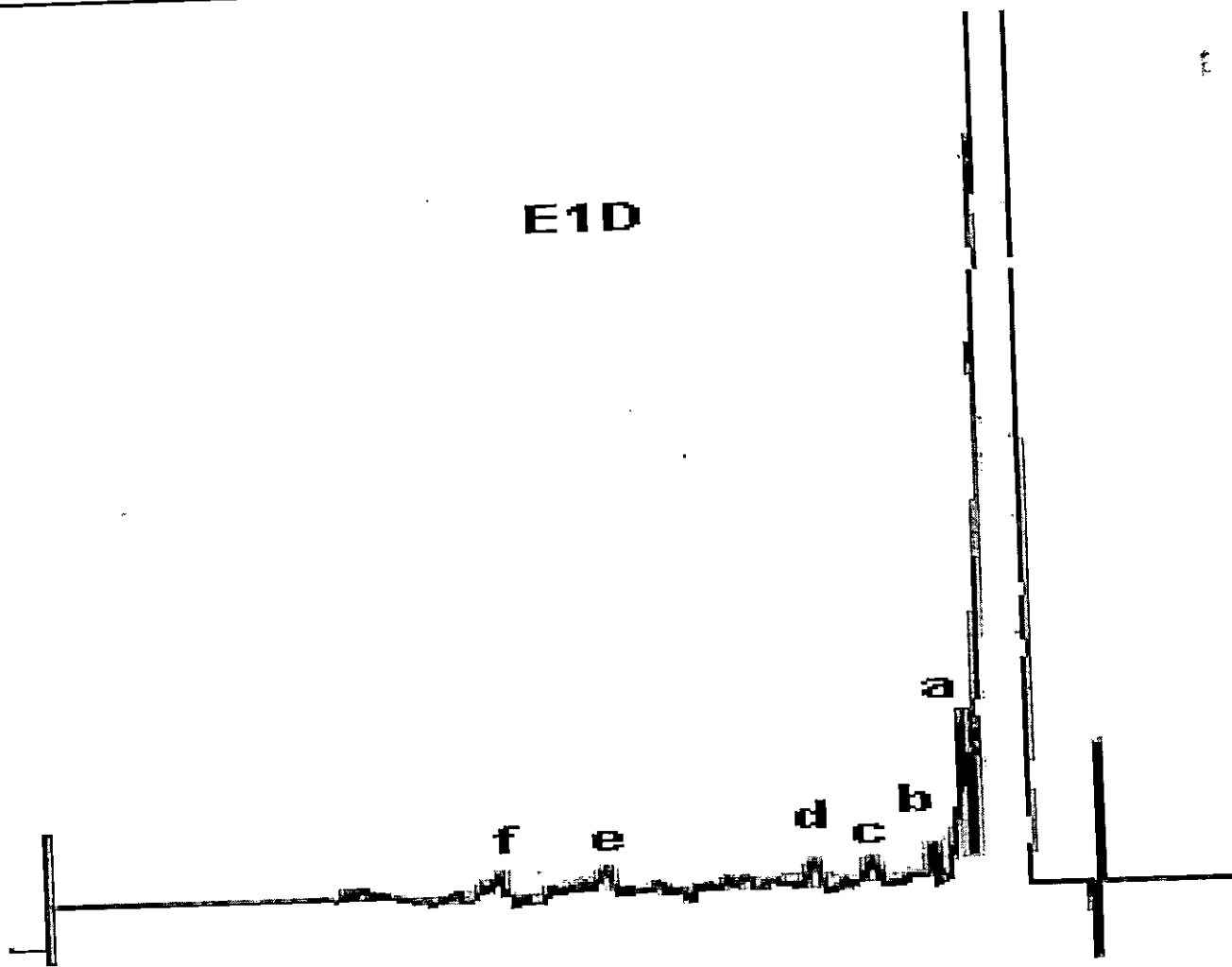
E1A



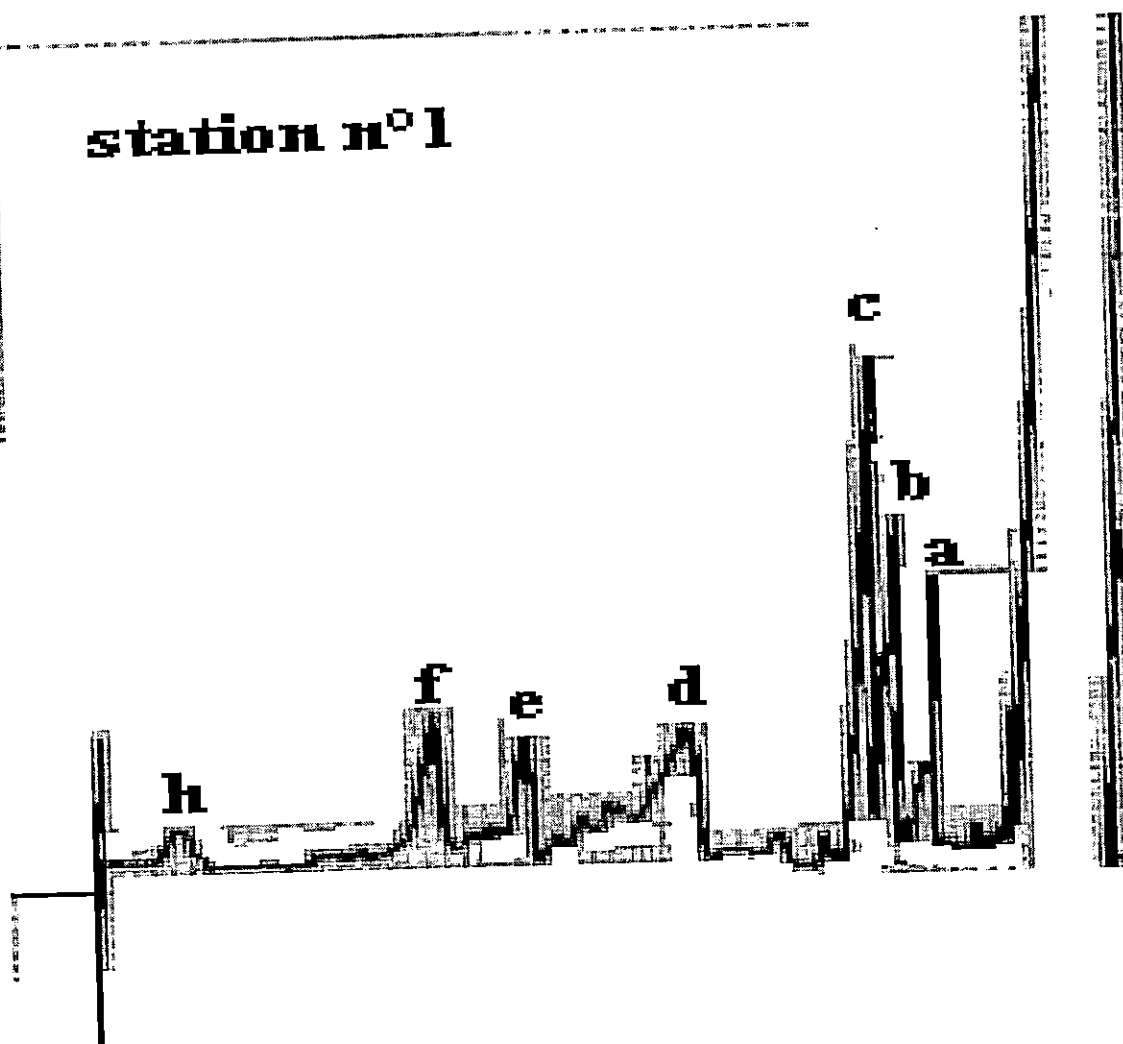
E2A



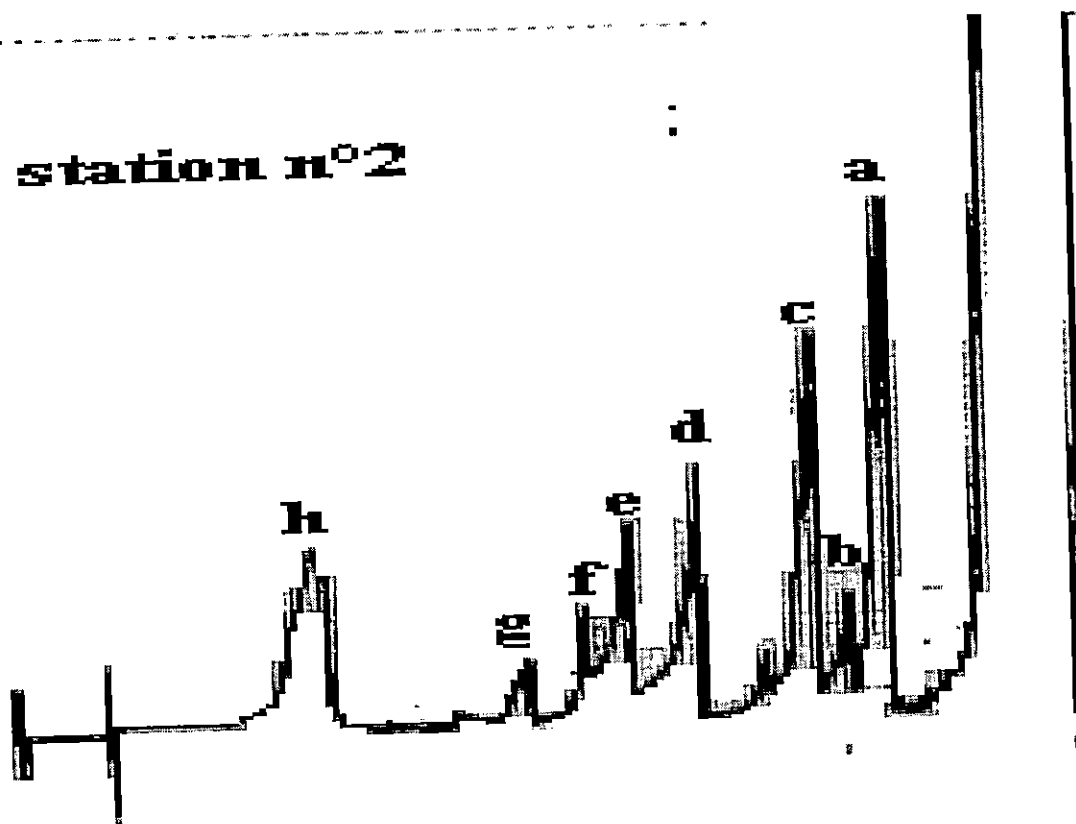
E1D



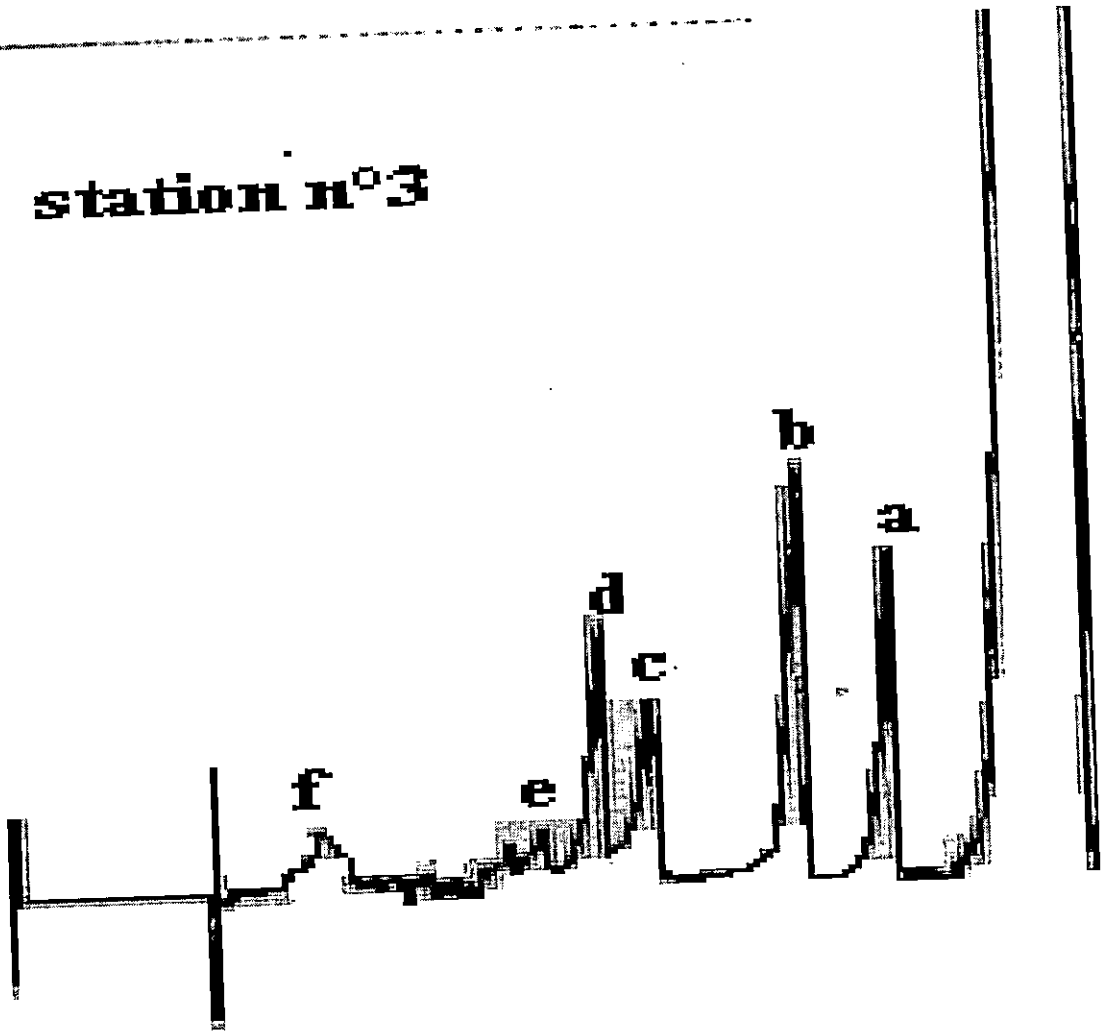
station n°1



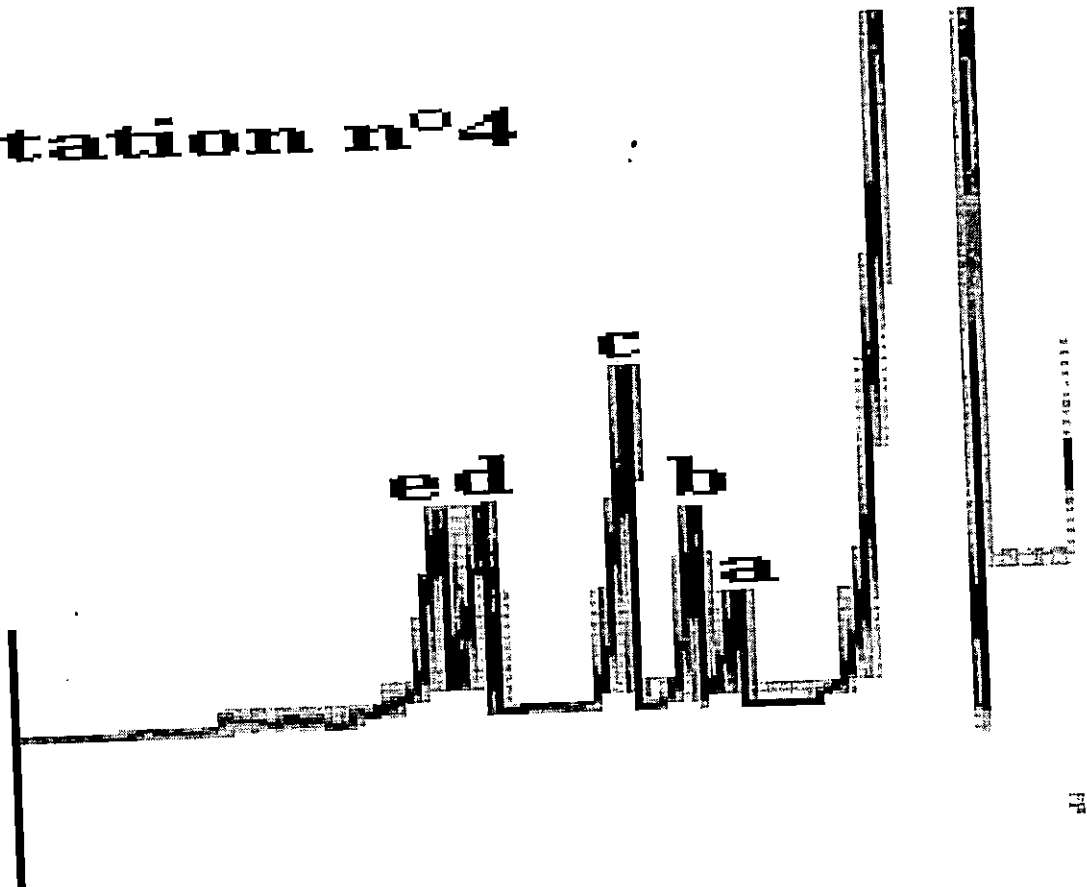
station n°2



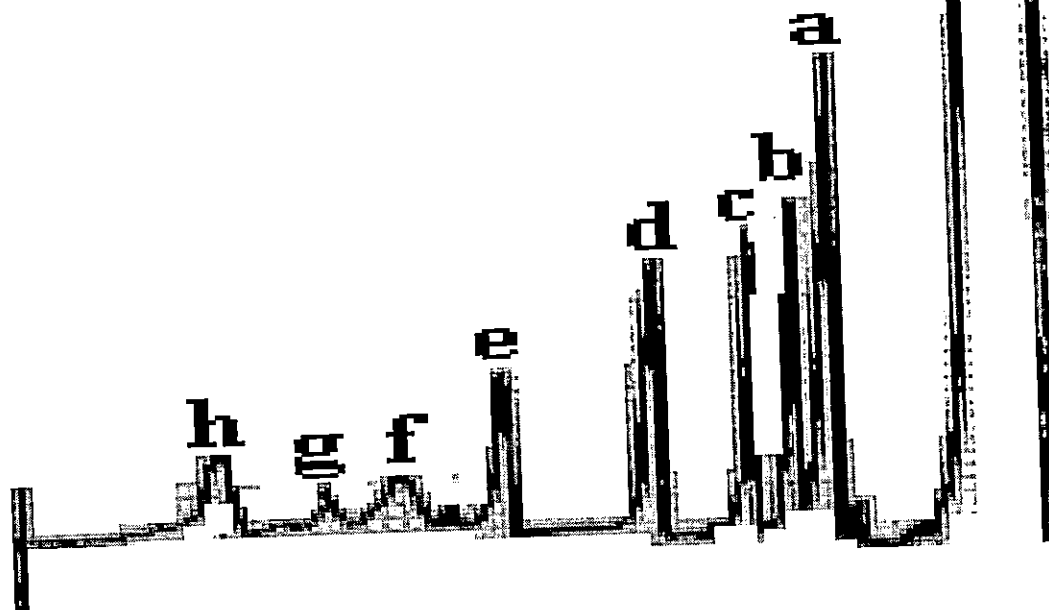
station n°3



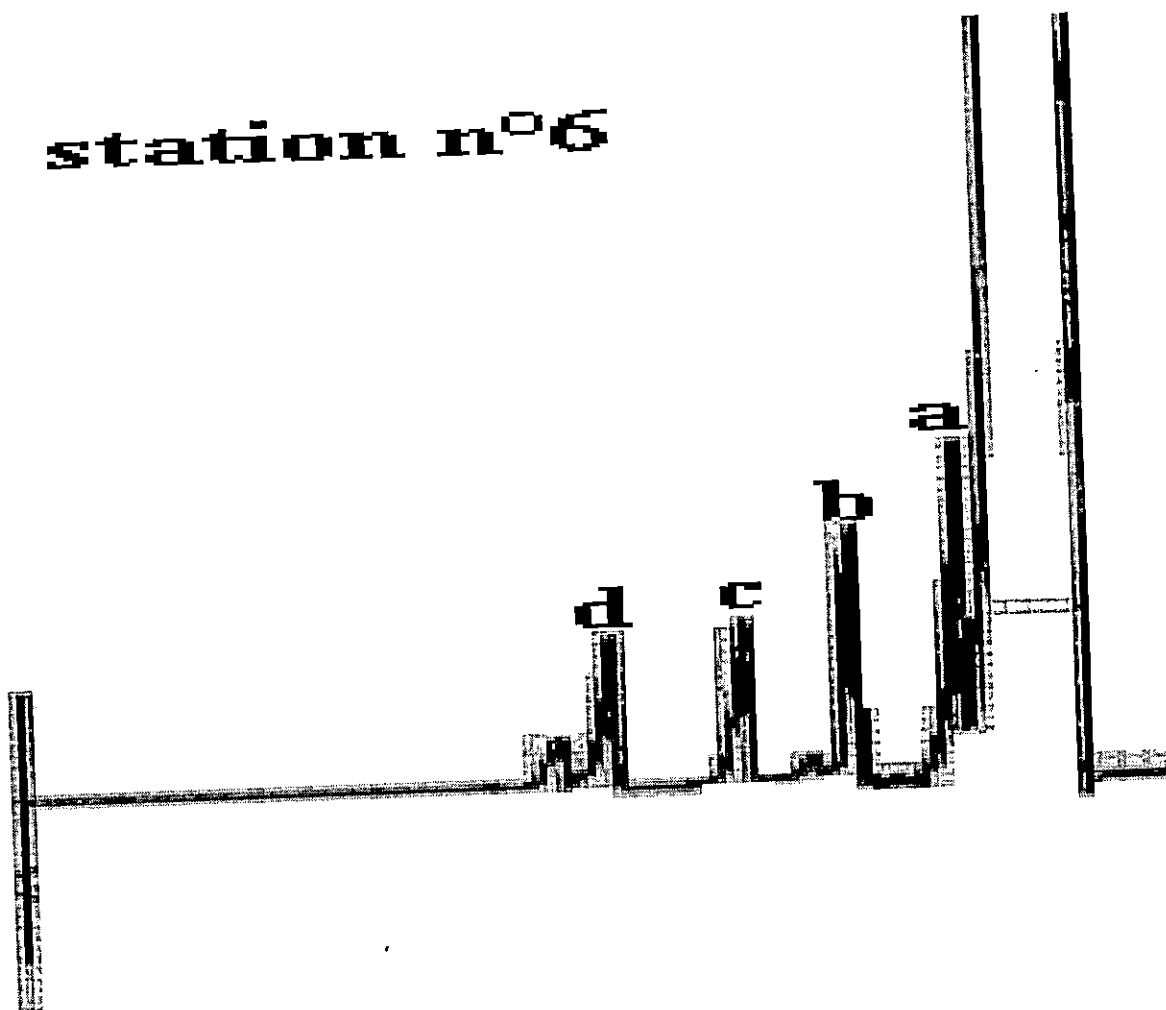
station n°4



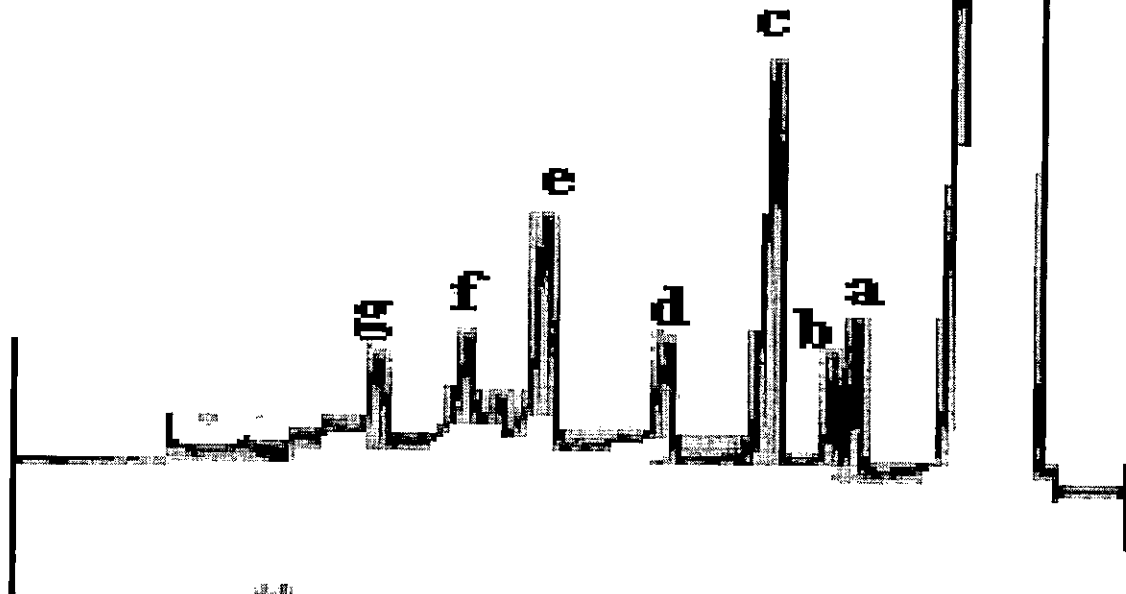
station n°5



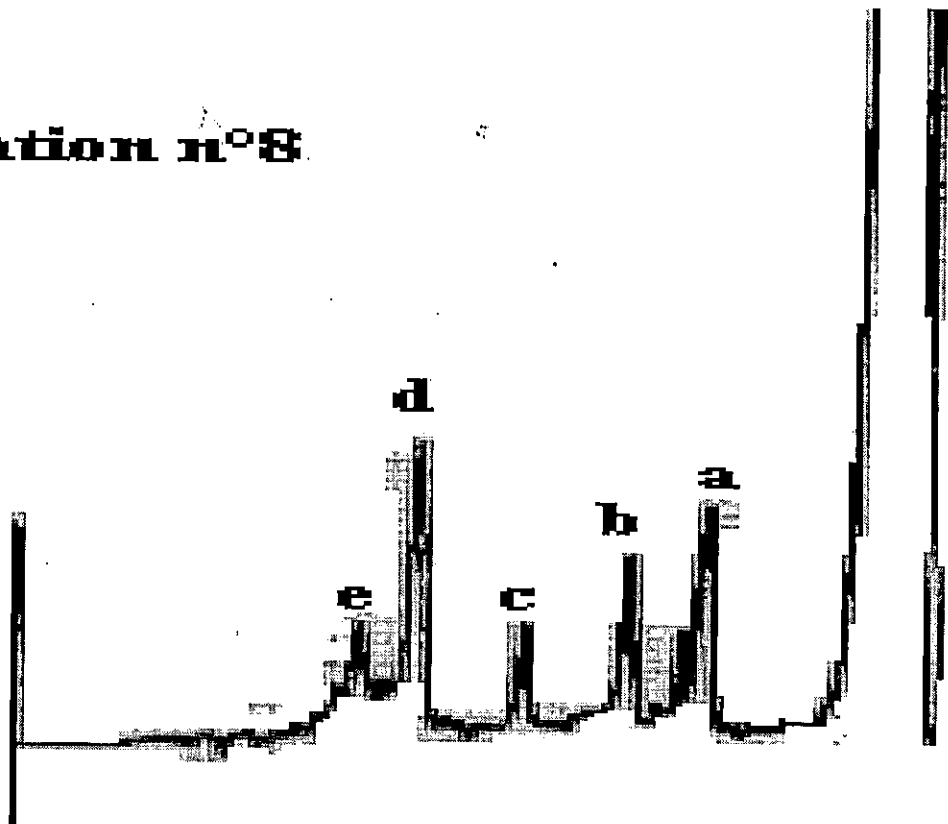
station n°6



station n°7



station n°8



station de Reghaia

