

Université de Montréal

**ÉVALUATION DE LA BIOCONCENTRATION DE L'HUILE
VOLTESSO PAR LES PLANTES À LA SUITE D'UN
DÉVERSEMENT SIMULÉ**

Par

Mireille Gaudreault

Département de chimie

Faculté des arts et des sciences

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures

en vue de l'obtention du grade

Maître ès Sciences (M.Sc.)

en chimie

Août 2004

©Mireille Gaudreault. 2004



Direction des bibliothèques

AVIS

L'auteur a autorisé l'Université de Montréal à reproduire et diffuser, en totalité ou en partie, par quelque moyen que ce soit et sur quelque support que ce soit, et exclusivement à des fins non lucratives d'enseignement et de recherche, des copies de ce mémoire ou de cette thèse.

L'auteur et les coauteurs le cas échéant conservent la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent ce document. Ni la thèse ou le mémoire, ni des extraits substantiels de ce document, ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans l'autorisation de l'auteur.

Afin de se conformer à la Loi canadienne sur la protection des renseignements personnels, quelques formulaires secondaires, coordonnées ou signatures intégrées au texte ont pu être enlevés de ce document. Bien que cela ait pu affecter la pagination, il n'y a aucun contenu manquant.

NOTICE

The author of this thesis or dissertation has granted a nonexclusive license allowing Université de Montréal to reproduce and publish the document, in part or in whole, and in any format, solely for noncommercial educational and research purposes.

The author and co-authors if applicable retain copyright ownership and moral rights in this document. Neither the whole thesis or dissertation, nor substantial extracts from it, may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms, contact information or signatures may have been removed from the document. While this may affect the document page count, it does not represent any loss of content from the document.

Université de Montréal
Faculté des arts et des sciences

Département de chimie

Ce mémoire intitulé :

**ÉVALUATION DE LA BIOCONCENTRATION DE L'HUILE
VOLTESSO PAR LES PLANTES À LA SUITE D'UN
DÉVERSEMENT SIMULÉ**

Présenté par :

Mireille Gaudreault

A été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Membre du jury : Dr. Marius D'Amboise

Membre du jury : Dr. Dominic Rochefort

Directeur de recherche : Dr. Sébastien Sauvé

Co-directeur de recherche : Dr. Sylvain Loranger

Mémoire accepté le :

SOMMAIRE

L'huile Voltesso 35 est une huile diélectrique de haute qualité utilisée pour l'isolation et le refroidissement des transformateurs, des disjoncteurs et des commutateurs. Cette huile est largement employée par Hydro-Québec depuis plus de 20 ans et constitue environ 95% du volume d'huile isolante utilisée. Bien que plusieurs études traitent de la présence d'hydrocarbures pétroliers (HP) dans le sol et des méthodes utilisées pour la restauration de sites contaminés (ATSDR, 1995, 1999), il existe de fait peu d'information relative aux impacts environnementaux ou aux risques pour la santé reliés spécifiquement à un déversement accidentel d'huile Voltesso. Cette étude vise donc à évaluer la bioconcentration de l'huile Voltesso par les parties comestibles de plantes suite à un déversement accidentel en conditions contrôlées (serre). Pour ce faire, l'huile Voltesso a été déversée sur le sol de trois espèces de plantes (laitue, carotte et tomate) poussant en pot afin d'atteindre 3 niveaux d'exposition basés sur la concentration d'hydrocarbures pétroliers totaux (HPT ou C₁₀-C₅₀). La concentration de différentes fractions d'hydrocarbures pétroliers a été mesurée dans le sol et les tissus selon trois temps d'exposition variant selon l'espèce. Les facteurs de bioconcentration (FBC) ont été calculés pour les trois espèces à chacun des temps et niveaux d'exposition. Pour la laitue, la concentration des HPT retrouvée dans les tissus diminue avec la durée d'exposition avec des FBC moyen de 0,04, 0,02 et 0,01 pour 24 heures, 5 jours et 9 jours d'exposition respectivement. Dans les tissus de carotte, l'accumulation de HPT a été observée pour tous les niveaux d'exposition et semble varier plus en fonction du temps que de la concentration. Après 24 heures, 7 jours et 21 jours suivant le déversement d'huile, les quantités de HPT extraites des tissus de carotte étaient respectivement entre 400-2000, 400-900 et 30-300 mg HPT/kg de tissu poids sec, correspondant à des FBC moyens de 0,14, 0,08 et 0,03. Les fruits des plants de tomates ont bioconcentré l'huile mais seulement lorsqu'ils ont été exposés aux plus fortes concentrations avec un FBC moyen de 0,02 variant de 0,05 pour une exposition de 24 heures à 0,01 pour une exposition de 15 jours.

Mots clés : Bioconcentration, huile Voltesso, laitue, carotte, tomate, déversement simulé

SUMMARY

Voltesso 35 oil is largely used in Hydro-Quebec oil-cooled transformers and other types of electrical equipment. Few data are available for the environmental and health risks related to accidental spills from transformers. This research aims to assess the bioaccumulation of Voltesso oil by edible plants following a simulated accidental spill in controlled conditions (greenhouse).

Voltesso oil was poured on an organic soil and three plant species (lettuce, carrot, tomato) were grown in pots to obtain three exposure levels including one control based on Petroleum Hydrocarbons concentrations (PHC) measured as C_{10} - C_{50} . Concentrations of several PHC fractions were measured in the soil and plant tissues up to 21 days after the simulated spills. Bioconcentration factors (BCF) were also calculated for each plant species, exposure level and exposure duration. PHCs found in soil consist essentially in aliphatic chains of more than 16 carbons (equivalent carbon number) ranging from $> C_{16}$ to C_{35} . In the lettuce tissues, the concentration of PHC in tissues decreased with exposure time with BCFs of 0,04, 0,02 and 0,01 for 24 hours, 5 days and 9 days of exposure respectively. In the carrot tissues, the uptake of PHC was observed at each exposure levels and seemed to vary more as a function of time after spill rather than with the concentration of a applied oil. After 24 hours, 7 days and 21 days following the oil spill, the amounts of PHC extracted from the carrot tissues were, respectively, between 400-2000, 400-900 and 30-300 mg TPH/kg dry tissues with corresponding average BCF values of 0,14, 0,08 and 0,03. The tomatoes bioconcentrated the oil in the fruits only at the highest exposure level with an average BCF of 0,02 varying from 0,05 for 24 hours exposure to 0,01 for 15 days exposure.

Keywords : Bioconcentration, Voltesso oil, lettuce, carrot, tomato, simulated spill

Table des matières

SOMMAIRE.....	III
SUMMARY.....	IV
TABLE DES MATIÈRES.....	V
LISTE DES TABLEAUX.....	VIII
LISTE DES FIGURES.....	XI
GLOSSAIRE.....	XV
REMERCIEMENTS.....	XVII
1 INTRODUCTION	1
1.1 Mise en contexte	1
1.2 Objectifs de l'étude.....	3
1.3 Structure du rapport.....	4
2 THÉORIE.....	5
2.1 Modèle conceptuel	5
2.2 Potentiel d'absorption des HP par les plantes.....	6
2.3 Évaluation de la bioconcentration de l'huile Voltesso par les plantes.....	9
2.4 Facteur de bioconcentration de l'huile Voltesso par les plantes.....	10
2.5 Impacts des HP sur la santé humaine	12
3 MÉTHODOLOGIE	14
3.1 Caractérisation physico-chimique du sol.....	15
3.1.1 pH.....	15
3.1.2 Carbone organique total et matière organique totale.....	16

3.1.3	Capacité de rétention d'eau du sol (CRE).....	16
3.1.4	Capacité d'échange cationique (CEC).....	17
3.1.5	Métaux.....	17
3.2	Caractérisation chimique de l'huile Voltesso	17
3.2.1	Méthode générale d'analyse chimique des hydrocarbures pétroliers	17
3.2.2	Optimisation de la méthode d'analyse des hydrocarbures pétroliers dans l'huile Voltesso.....	19
3.2.3	Méthode utilisée pour le fractionnement des hydrocarbures pétroliers dans l'huile Voltesso en fonction des méthodes proposées par le CCME et le TPHCWG	21
3.2.4	Méthode d'analyse des métaux dans l'huile Voltesso.....	22
3.3	Méthode d'extraction des hydrocarbures pétroliers dans le sol.....	22
3.4	Méthode d'extraction des hydrocarbures pétroliers dans les plantes.....	25
3.5	Méthode utilisée pour la contamination des laitues	27
3.5.1	Phase pré-expérimentale	27
3.5.2	Phase expérimentale	29
3.6	Méthode utilisée pour la contamination des carottes	31
3.6.1	Phase pré expérimentale	31
3.6.2	Phase expérimentale	32
3.7	Méthode utilisée pour la contamination des tomates	34
3.7.1	Phase pré-expérimentale	34
3.7.2	Phase expérimentale	34
3.8	Analyses statistiques	36
3.8.1	Statistiques descriptives.....	36
3.8.2	Analyse de variance avec tests de comparaisons multiples	36
3.8.3	Régression linéaire	36
4	RÉSULTATS	38

4.1	Caractérisation du sol	38
4.2	Caractérisation des hydrocarbures pétroliers dans l'huile Voltesso	40
4.3	Caractérisation des hydrocarbures pétroliers dans la laitue	46
4.3.1	Pré-expérimentation.....	46
4.3.2	Expérimentation.....	51
4.4	Caractérisation des hydrocarbures pétroliers dans la carotte	70
4.4.1	Pré-expérimentation.....	70
4.4.2	Expérimentation.....	75
4.5	Caractérisation des hydrocarbures pétroliers dans la tomate	88
4.5.1	Expérimentation.....	88
5	DISCUSSION.....	99
5.1	Caractéristiques de la source de contamination : l'huile Voltesso	99
5.2	Caractéristiques du sol : terre à jardin	100
5.3	Potentiel d'absorption et bioconcentration des HP par les plantes.....	101
5.4	Potentiel de bioconcentration de la laitue.....	102
5.5	Potentiel de bioconcentration de la carotte	105
5.6	Potentiel de bioconcentration de la tomate	109
5.7	Comparaison interespèce	110
6	CONCLUSION.....	113
7	BIBLIOGRAPHIE	116

Liste des tableaux

Tableau I : Liste des substances chimiques analysées par catégorie pour les différents médias	12
Tableau II : Concentrations en hydrocarbures pétroliers C ₁₀ -C ₅₀ et pourcentage de recouvrement de différents échantillons de sols contaminés à l'huile Voltesso selon les méthodes d'extraction utilisées durant la phase pré-expérimentale.....	24
Tableau III : Concentrations en hydrocarbures pétroliers C ₁₀ -C ₅₀ et pourcentage de recouvrement de différents échantillons de feuilles de laitue contaminés à l'huile Voltesso selon la méthode d'extraction du TPHCWG utilisée durant la phase pré-expérimentale	26
Tableau IV : Concentrations en hydrocarbures pétroliers C ₁₀ -C ₅₀ et pourcentage de recouvrement de différents échantillons de carotte (racine) contaminés à l'huile Voltesso selon la méthode d'extraction du TPHCWG utilisée durant la phase pré-expérimentale	26
Tableau V : Concentrations en hydrocarbures pétroliers C ₁₀ -C ₅₀ et pourcentage de recouvrement de différents échantillons de tomates (fruit) contaminés à l'huile Voltesso selon la méthode d'extraction du TPHCWG utilisée durant la phase pré-expérimentale	27
Tableau VI : Caractéristiques physico-chimiques du sol utilisé durant la phase expérimentale.....	39
Tableau VII : Concentrations en métaux dans le sol utilisé durant la phase expérimentale.....	41
Tableau VIII : Concentrations en hydrocarbures pétroliers C ₁₀ -C ₅₀ mesurées dans l'huile Voltesso selon la méthode de fractionnement proposée par le TPHCWG et le CCME	41
Tableau IX : Comparaison des proportions de chaque fraction du CCME calculées à partir des résultats de l'expérimentation et des données fournies par le fournisseur (Restek inc.) sur la base de l'analyse chimique d'un standard au diesel n°2 et d'huile minérale (1:1) dans l'hexane.....	43

Tableau X : Concentrations d'hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) contenues dans l'huile Voltesso déterminée par GC/MS	45
Tableau XI : Concentrations en métaux dans l'huile Voltesso déterminée par ICP/AES	46
Tableau XII : Concentrations en hydrocarbures pétroliers C ₁₀ -C ₅₀ dans les sols contaminés par différents volumes d'huile Voltesso durant la pré-expérimentation avec la laitue	48
Tableau XIII : Concentrations en hydrocarbures pétroliers C ₁₀ -C ₅₀ dans les feuilles de laitue contaminées par différents volumes d'huile Voltesso déversés sur le sol et les feuilles durant la phase pré-expérimentale	50
Tableau XIV : Capacité photosynthétique des feuilles de laitue déterminée par fluorescence.....	53
Tableau XV : Concentrations en hydrocarbures pétroliers (C ₁₀ -C ₅₀ , fractions CCME et TPHCWG) dans le sol en fonction du niveau d'exposition (volume d'huile Voltesso déversé sur les feuilles ou sur le sol) et de la durée d'exposition (t ₁ , t ₂ , t ₃) à l'huile Voltesso durant la phase expérimentale avec la laitue	55
Tableau XVI : Concentrations en hydrocarbures pétroliers (C ₁₀ -C ₅₀ , fractions CCME et TPHCWG) dans les feuilles de laitue en fonction du niveau d'exposition (volume d'huile déversé sur les feuilles ou le sol) et de la durée d'exposition (t ₁ , t ₂ , t ₃) à l'huile Voltesso durant la phase expérimentale.....	60
Tableau XVII : Concentrations en hydrocarbures pétroliers C ₁₀ -C ₅₀ extraits des feuilles de laitue avant et après lavage avec un savon doux durant la phase expérimentale	64
Tableau XVIII : Concentrations en hydrocarbures pétroliers C ₁₀ -C ₅₀ dans les sols contaminés par différents volumes d'huile Voltesso durant la phase pré-expérimentale avec la carotte (racine).....	72
Tableau XIX : Concentrations en hydrocarbures pétroliers C ₁₀ -C ₅₀ dans les racines de carotte en fonction du niveau d'exposition (volume d'huile déversé sur le sol) 17 jours après le début de la pré-expérimentation	73

Tableau XX : Concentrations en hydrocarbures pétroliers (C ₁₀ -C ₅₀ , fractions CCME et TPHCWG) dans le sol en fonction du niveau d'exposition (volume d'huile déversé sur le sol) et de la durée d'exposition (t ₁ , t ₂ , t ₃) à l'huile Voltesso durant la phase expérimentale avec la carotte	77
Tableau XXI : Concentrations en hydrocarbures pétroliers (C ₁₀ -C ₅₀ , fractions CCME et TPHCWG) dans la carotte (racine) en fonction du niveau d'exposition (volume d'huile déversé sur le sol) et de la durée d'exposition (t ₁ , t ₂ , t ₃) à l'huile Voltesso durant la phase expérimentale	82
Tableau XXII : Concentrations en hydrocarbures pétroliers (C ₁₀ -C ₅₀ , fractions CCME et TPHCWG) dans le sol en fonction du niveau d'exposition (volume d'huile déversé sur le sol) et de la durée d'exposition (t ₁ , t ₂ , t ₃) à l'huile Voltesso durant la phase expérimentale avec la tomate	90
Tableau XXIII : Concentrations en hydrocarbures pétroliers (C ₁₀ -C ₅₀ , fractions CCME et TPHCWG) dans les tomates fonction du niveau d'exposition (volume d'huile déversé sur le sol) et de la durée d'exposition (t ₁ , t ₂ , t ₃) à l'huile Voltesso durant la phase expérimentale	95
Tableau XXIV : Proportions d'hydrocarbures pétroliers C ₁₀ -C ₅₀ extraites des tomates cerises avant et après lavage avec un savon doux durant la phase expérimentale	96

Liste des figures

- Figure 1 : Choix méthodologiques relatifs à l'analyse physico-chimique des substances d'intérêt dans l'huile Voltesso, le sol et les plantes 14
- Figure 2 : Chromatogramme de l'huile Voltesso selon différentes programmations de température retenues en phase pré-expérimentale 20
- Figure 3 : Design expérimental utilisé pour l'exposition de la laitue en serre durant la phase expérimentale 30
- Figure 4 : Design expérimental utilisé pour l'exposition de la carotte en serre durant la phase expérimentale 33
- Figure 5 : Design expérimental utilisé pour l'exposition de la tomate en serre durant la phase expérimentale 35
- Figure 6 : Chromatogramme de l'huile Voltesso avec injection de standards obtenu selon la méthode décrite à la section 3.2.2 avec les pics associés aux standards utilisés pour le fractionnement des hydrocarbures pétroliers selon la méthode du CCME..... 42
- Figure 7 : Chromatogramme du standard de diesel #2 et d'huile minérale 1:1 dans l'hexane obtenu lors de la présente étude (chromatogramme du haut) et celui fourni par la compagnie Restek (chromatogramme du bas)..... 43
- Figure 8 : Chromatogrammes des fractions aliphatique et aromatique retrouvées dans l'huile Voltesso selon la méthode de fractionnement du TPHCWG 44
- Figure 9 : Variation des concentrations en hydrocarbures pétroliers C₁₀-C₅₀ dans le sol en fonction du niveau d'exposition (volume d'huile déversé sur le sol ou les feuilles) et de la durée d'exposition (t₁, t₂, t₃) à l'huile Voltesso durant la phase expérimentale avec la laitue 56
- Figure 10 : Variation temporelle de la proportion moyenne de la fraction F2 du CCME retrouvée dans le sol en fonction du niveau d'exposition (volume d'huile déversé sur le sol ou les feuilles) et de la durée d'exposition (t₁, t₂, t₃) à l'huile Voltesso durant la phase expérimentale avec la laitue 57

- Figure 11 : Variation temporelle de la proportion de la fraction aliphatique totale (TPHCWG) retrouvée dans le sol en fonction du niveau d'exposition (volume d'huile déversé sur le sol) et de la durée d'exposition (t_1 , t_2 , t_3) à l'huile Voltesso durant la phase expérimentale avec la laitue 58
- Figure 12 : Variation des concentrations en hydrocarbures pétroliers C_{10} - C_{50} extraites des feuilles de laitue en fonction du niveau d'exposition (volume d'huile déversé sur le sol ou les feuilles) et de la durée d'exposition (t_1 , t_2 , t_3) à l'huile Voltesso durant la phase expérimentale 61
- Figure 13 : Variation temporelle de la proportion moyenne de la fraction F2 du CCME retrouvée dans les feuilles de laitue en fonction du niveau d'exposition (volume d'huile déversé au niveau du sol seulement) et de la durée d'exposition (t_1 , t_2 , t_3) à l'huile Voltesso durant la phase expérimentale..... 62
- Figure 14 : Variation temporelle de la proportion moyenne de la fraction F2 du CCME retrouvée dans les feuilles de laitue en fonction du niveau d'exposition (volume d'huile déversé au niveau des feuilles seulement) et de la durée d'exposition (t_1 , t_2 , t_3) à l'huile Voltesso durant la phase expérimentale..... 63
- Figure 15 : Relation entre la concentration en hydrocarbures pétroliers C_{10} - C_{50} extraite des feuilles de laitue et la concentration en hydrocarbures pétroliers C_{10} - C_{50} retrouvée dans le sol en fonction de la durée d'exposition à l'huile Voltesso déversée sur le sol durant la phase expérimentale..... 66
- Figure 16 : Relation entre la concentration en hydrocarbures pétroliers C_{10} - C_{50} extraite des feuilles de laitue et la concentration en hydrocarbures pétroliers C_{10} - C_{50} retrouvée dans le sol en fonction de la durée d'exposition à l'huile Voltesso déversée sur les feuilles durant la phase expérimentale..... 67
- Figure 17 : Facteurs de bioconcentration calculés pour la laitue en fonction du niveau d'exposition (volume d'huile déversé sur le sol seulement) et de la durée d'exposition (t_1 , t_2 , t_3) à l'huile Voltesso durant la phase expérimentale..... 69

- Figure 18 : Variation des concentrations en hydrocarbures pétroliers C_{10} - C_{50} extraites des carottes (racine) en fonction de la concentration en hydrocarbures pétroliers C_{10} - C_{50} retrouvée dans le sol et du niveau d'exposition (volume d'huile Voltesso déversé sur le sol) durant la phase pré-expérimentale..... 74
- Figure 19 : Variation des concentrations en hydrocarbures pétroliers C_{10} - C_{50} dans le sol en fonction du niveau d'exposition (volume d'huile déversé sur le sol) et de la durée d'exposition (t_1 , t_2 , t_3) à l'huile Voltesso durant la phase expérimentale avec la carotte 78
- Figure 20 : Variation temporelle de la proportion moyenne de la fraction F2 du CCME retrouvée dans le sol en fonction du niveau d'exposition (volume d'huile déversé sur le sol) et de la durée d'exposition (t_1 , t_2 , t_3) à l'huile Voltesso durant la phase expérimentale avec la carotte 79
- Figure 21 : Variation temporelle de la proportion de la fraction aromatique F6 (C_{16} - C_{21}) du TPHCWG retrouvée dans le sol en fonction du niveau d'exposition (volume d'huile déversé sur le sol seulement) et de la durée d'exposition (t_1 , t_2 , t_3) à l'huile Voltesso durant la phase expérimentale avec la carotte..... 80
- Figure 22 : Variation des concentrations en hydrocarbures pétroliers C_{10} - C_{50} extraites de la carotte en fonction du niveau d'exposition (volume d'huile déversé sur le sol seulement) et de la durée d'exposition (t_1 , t_2 , t_3) à l'huile Voltesso durant la phase expérimentale..... 83
- Figure 23 : Variation temporelle de la proportion moyenne de la fraction F2 du CCME retrouvée dans la carotte en fonction du niveau d'exposition (volume d'huile déversé au niveau du sol seulement) et de la durée d'exposition (t_1 , t_2 , t_3) à l'huile Voltesso durant la phase expérimentale 84
- Figure 24 : Relation entre la concentration en hydrocarbures pétroliers C_{10} - C_{50} extraite des carottes (racine) et la concentration en hydrocarbures pétroliers C_{10} - C_{50} retrouvée dans le sol en fonction de la durée d'exposition (t_1 , t_2 , t_3) durant la phase expérimentale..... 86
- Figure 25 : Facteurs de bioconcentration calculés pour la carotte en fonction du niveau d'exposition (volume d'huile déversé sur le sol seulement) et de

la durée d'exposition (t_1 , t_2 , t_3) à l'huile Voltesso durant la phase expérimentale..... 88

Figure 26 : Variation des concentrations en hydrocarbures pétroliers C_{10} - C_{50} dans le sol en fonction du niveau d'exposition (volume d'huile déversé sur le sol) et de la durée d'exposition (t_1 , t_2 , t_3) à l'huile Voltesso durant la phase expérimentale avec la tomate 91

Figure 27 : Variation temporelle de la proportion moyenne de la fraction F2 du CCME retrouvée dans le sol en fonction du niveau d'exposition (volume d'huile déversé sur le sol) et de la durée d'exposition (t_1 , t_2 , t_3) à l'huile Voltesso 92

Figure 28 : Variation temporelle de la proportion de la fraction F5 aliphatique du TPHCWG retrouvée dans le sol en fonction du niveau d'exposition (volume d'huile déversé sur le sol) et de la durée d'exposition (t_1 , t_2 , t_3) à l'huile Voltesso durant la phase expérimentale avec la tomate 93

Figure 29 : Variation des concentrations en hydrocarbures pétroliers C_{10} - C_{50} extraites de la tomate en fonction du niveau d'exposition (volume d'huile déversé sur le sol seulement) et de la durée d'exposition (t_1 , t_2 , t_3) à l'huile Voltesso durant la phase expérimentale..... 94

Figure 30 : Facteurs de bioconcentration calculés pour la tomate en fonction du niveau d'exposition (volume d'huile déversé sur le sol seulement) et de la durée d'exposition (t_1 , t_2 , t_3) à l'huile Voltesso durant la phase expérimentale..... 98

Glossaire

AES :	atomic emission spectrometry (spectrometry d'émission atomique)
ATSDR:	Agency for Toxic Substances and Disease Registry
BTEX :	benzène, toluène, ethylbenzène et xylènes
CCME :	Conseil Canadien des Ministres de l'Environnement / Canadian Council of Ministers of the Environment
CEC :	capacité d'échange cationique
CIRC :	Centre International de Recherche sur le Cancer
COT :	carbone organique total
CRE :	capacité de rétention d'eau
FBC :	facteur de bioconcentration
FID :	flamme ionisation detector (détecteur à ionisation de flamme)
GC :	gas chromatography (chromatographie en phase gazeuse)
HAM:	hydrocarbures aromatiques monocycliques
HAP :	hydrocarbures aromatiques polycycliques
HP :	hydrocarbures pétroliers
HPLC :	high performance liquid chromatography (chromatographie haute performance)
ICP :	inductively coupled plasma (source plasma à couplage inductif)
K _{ow} :	coefficient de partage octanol-eau
MADEP:	Massachusetts Department of Environmental Protection
MENV:	Ministère de l'environnement du Québec
MS :	mass spectrometry (spectrométrie de masse)
MOT :	matière organique totale
ppm:	parties par million (mg/kg)
SFE :	supercritical fluid extraction (extraction fluide supercritique)

- SIM : selected ion monitoring (détection en mode d'ions sélectionnés)
- SP : standards pancanadiens
- SPE : solid phase extraction (extraction phase solide)
- TPHCWG : Total Petroleum Hydrocarbon Criteria Working Group
- UV: ultraviolet

Remerciements

Tout d'abord, je tiens à remercier mon directeur de recherche, Sébastien Sauvé, pour ses explications, sa disponibilité, son soutien et ses conseils.

Merci également à tous mes collègues de travail du groupe Sauvé (Carmen, Adina, Sophie, Chadi, Julien, Rabih, Raphaël, Michel, Paul et Catherine) pour l'entraide et l'ambiance dans le laboratoire.

Un merci particulier à Pedro Segura pour son aide au laboratoire et au football durant l'été 2003.

Merci à Sylvain Loranger, Élyse Ménard et Dany Dumont de la compagnie Service d'analyse de risque QSAR inc. pour leur encadrement, leur aide à la rédaction et le support financier.

Merci à Louise Houde et André Bériault d'Hydro-Québec de m'avoir permis de réaliser ce projet.

Merci à Michel Labrecque, Gabriel Teodorescu et Stéphane Daigle de l'Institut de recherche en biologie végétale pour leur aide.

Merci au CRSNG pour le support financier.

Merci à mes parents Gaston et Pierrette pour leurs encouragements, la motivation et l'inspiration.

Merci à Julie et Guillaume, parce que le dicton l'oin des yeux l'oin du cœur ne s'applique pas tout le temps.

Merci à Rachel-Dominique pour le support moral et technique.

Merci à Charles-Philippe qui a su me faire garder le sourire.

1 INTRODUCTION

1.1 Mise en contexte

Les huiles minérales sont issues de la distillation fractionnée du pétrole brut et contiennent des milliers de composés hydrocarbonés, incluant une fraction de composés nitrés et sulfurés. Ces hydrocarbures pétroliers (HP) sont principalement constitués d'alcane aliphatiques linéaires et ramifiés, de cycloalcanes et d'hydrocarbures aromatiques monocycliques (HAM). On retrouve également une certaine proportion d'hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), de HAP alkylés et de métaux. Les HAP alkylés et les métaux sont présents de façon plus importante dans les huiles usées. Les HP contenus dans les huiles minérales ont des longueurs de chaîne variant entre C₁₅ et C₅₀ (ATSDR, 1999).

L'huile Voltesso 35 est une huile minérale de haute qualité utilisée pour l'isolation et le refroidissement des transformateurs, des disjoncteurs et des commutateurs. Cette huile est largement employée par Hydro-Québec depuis plus de 20 ans et constitue environ 95 % du volume d'huile isolante utilisée (QSAR, 2001). Bien que plusieurs études traitent de la présence de HP dans le sol et des méthodes utilisées pour la restauration de sites contaminés (ATSDR, 1995, 1999), il existe de fait peu d'information relative aux impacts environnementaux ou aux risques pour la santé reliés spécifiquement à un déversement accidentel d'huile Voltesso dans le sol, l'eau souterraine ou l'eau de surface. Cette lacune est d'autant plus préoccupante que le groupe Distribution d'Hydro-Québec évalue annuellement à plus de 200 le nombre de déversements accidentels d'huile Voltesso 35 (Hydro-Québec, 2001).

Depuis près d'une dizaine d'années, plusieurs groupes de recherche et organismes gouvernementaux ont développé différentes approches basées sur le risque afin de gérer les sols contaminés aux HP (MADEP, 1994 ; TPHCWG, 1997-1999 ;

Atlantic PIRI, 1999). Plus récemment, le Conseil Canadien des Ministres de l'Environnement (CCME) définissait une méthodologie et des standards pancanadiens (SP) relatifs à la contamination du sol par des HP s'appuyant notamment sur ces différentes approches (CCME, 2000 a, b). L'élaboration de ces SP a permis de définir des concentrations limites dans le sol pour quatre fractions d'hydrocarbures distinctes (F1 : C₆-C₁₀, F2 : C₁₀-C₁₆, F3 : C₁₆-C₃₄, F4 : C₃₄-C₅₀) sur la base de l'usage spécifique du site (ex. : résidentiel/parc, commercial, industriel, agricole), du type de sol (ex. : sol à grains fins ou grossiers) ainsi que de voies et de médias d'exposition prédéterminés (ex. : ingestion de sol, inhalation de vapeurs, etc.). Ces SP visent en fait à protéger les récepteurs humains (enfants, adultes) et écologiques (plantes, animaux) d'une exposition multimédia (sol, air, eau) et multivoie (ingestion, inhalation, contact cutané) aux HP.

En ce qui a trait plus spécifiquement aux végétaux, plusieurs études ont tenté d'évaluer les effets des sols contaminés en HP sur la croissance ou la reproduction des plantes terrestres (Saterbak *et al.*, 1999 ; Riis *et al.*, 1996). Ces recherches ont montré notamment que la phytotoxicité des HP varierait en fonction de la concentration en HP dans le sol, de la proportion d'hydrocarbures aromatiques de faible poids moléculaire et de l'espèce de plante exposée (Chaîneau *et al.*, 1997).

Par ailleurs, Simonich et Hites (1995) soulignent l'importance d'évaluer les mécanismes associés à la bioconcentration de polluants organiques d'origine industrielle par les plantes. Ainsi, selon une étude de Wild et Jones (1992), il appert que le potentiel de bioconcentration de composés organiques lipophiles, tels que les HP, augmente avec le contenu lipidique de la plante et diminue avec la teneur en matière organique du sol. À ce jour, peu de recherches ont été entreprises afin d'évaluer le transfert des HP contenus dans un sol aux parties aériennes d'une plante via le système racinaire.

1.2 Objectifs de l'étude

L'accumulation par le biote de polluant organique non ionique est un phénomène complexe. Cette étude a comme objectif principal d'estimer le potentiel de bioconcentration de l'huile Voltesso par les plantes à la suite d'un déversement accidentel et ainsi limiter les impacts environnementaux. Pour ce faire, la présente étude vise à mesurer, en conditions d'expositions contrôlées (serre), les concentrations de différentes fractions de HP (aromatiques, aliphatiques, HAP, C₁₀-C₅₀) dans l'huile Voltesso, dans le sol contaminé, ainsi que dans différentes structures biologiques de trois espèces de plantes potagères (carotte, tomate, laitue).

Afin d'atteindre cet objectif, l'étude a été divisée en deux phases principales, soit : la pré-expérimentation, visant à optimiser le dispositif expérimental et mettre au point les méthodes de caractérisation physico-chimique de l'huile ainsi que des sols et des plantes contaminés ; et la phase expérimentale qui vise à évaluer le potentiel de bioconcentration de l'huile Voltesso par les plantes en fonction de différents niveaux et durées d'exposition. Globalement, l'expérimentation devrait permettre d'évaluer le potentiel de bioconcentration de l'huile Voltesso par les plantes.

De façon plus spécifique, cette étude vise à :

- évaluer le dispositif expérimental et le mode de contamination du sol et des plantes pour l'expérimentation finale afin d'obtenir différentes concentrations cibles en HP C₁₀-C₅₀ dans le sol correspondant aux critères génériques B et C de la *Politique de protection des sols et de réhabilitation des terrains contaminés* du ministère de l'Environnement du Québec ou des annexes I et II du *Règlement sur la protection et la réhabilitation des terrains* lorsque applicable ;

- valider les durées d'exposition retenues dans le protocole initial en fonction de la viabilité des plantes et du niveau de contamination ou d'exposition dans le sol (C^0 , C^- , C^+) ;
- déterminer les caractéristiques physico-chimiques du sol utilisé pour l'expérimentation ;
- optimiser les méthodes d'extraction et d'analyse de l'huile Voltesso dans le sol et dans les structures biologiques (feuilles, racines, fruits) ;
- évaluer les teneurs en HP C_{10} - C_{50} , en HAP et en métaux retrouvées dans l'huile Voltesso et caractériser les différentes fractions d'HP selon l'approche du CCME et du *Total Petroleum Hydrocarbon Criteria Working Group* (TPHCWG) ;
- valider le niveau de contamination du sol (C^0 , C^- , C^+) ou d'exposition des plantes après le déversement simulé d'huile Voltesso ;
- évaluer les teneurs en HP C_{10} - C_{50} , en HAP et en métaux retrouvées dans les structures biologiques (feuilles, racines, fruits) et caractériser les différentes fractions d'HP selon l'approche du CCME et du TPHCWG ;
- évaluer l'effet du lavage au savon doux sur la concentration en HP dans des tomates (fruit) et des laitues (feuilles) exposées à l'huile Voltesso ;
- évaluer l'effet d'une précipitation simulée sur la concentration en HP sur les tomates après un déversement d'huile simulé (vaporisation).

1.3 Structure du rapport

Outre l'introduction, la section 2 présente la théorie relative au projet. La section 3 porte sur la méthodologie de caractérisation des sols, de l'huile Voltesso et des sols et plantes potagères contaminés. Les principaux résultats sont présentés à la section 4. La section 5 présente la discussion ainsi qu'une brève conclusion.

2 THÉORIE

2.1 Modèle conceptuel

Afin de bien cerner un problème environnemental et ses impacts sur un écosystème, l'établissement d'un modèle conceptuel permet de schématiser le cheminement d'une substance entre la source de contamination et les récepteurs écotoxicologiques ou humains cibles. Ce modèle décrit les différents processus ou mécanismes de transport ou de transformation de la substance (devenir environnemental), les voies et médias d'exposition possibles et finalement, les effets ou la réponse toxicologique ou écotoxicologique attendue (QSAR, 2001). Ainsi, ce schéma permet d'évaluer toutes les relations entre les différents facteurs et d'établir des liens de causalité entre eux.

Le déversement accidentel d'huile Voltesso dans l'environnement provient généralement d'un transformateur. Ce type d'appareil électrique contient environ 200 L d'huile pouvant se déverser en totalité ou en partie à la suite d'une fuite ou d'un bris majeur du transformateur.

Ce type d'accident peut entraîner une déposition directe de l'huile sur la végétation et sur le sol. L'accumulation des polluants organiques par les plantes peut donc être acheminée dans l'atmosphère via la déposition gazeuse ou particulaire sur les stomates suivie de la translocation par le phloème (Simonich and Hites, 1995). À plus long terme, l'huile déposée sur le sol peut migrer verticalement sur une faible profondeur au niveau de la rhizosphère pour être possiblement absorbée par les racines des plantes. La bioconcentration peut donc également s'effectuer directement du sol contaminé à la racine pour ensuite migrer dans la plante par l'intermédiaire du xylème (QSAR, 2001).

D'une manière générale, il existe de nombreux facteurs qui influencent l'absorption et la bioconcentration des HP par les plantes. Selon Sung *et al* (2001), c'est la biodisponibilité des HP dans un sol contaminé qui serait le facteur le plus important. Cette biodisponibilité dépend des propriétés physico-chimiques des composés formant les HP (source de contamination), mais également des caractéristiques du sol et de l'affinité de la plante pour ces composés.

2.2 Potentiel d'absorption des HP par les plantes

Les propriétés physico-chimiques majeures qui affectent l'absorption des HP par les plantes sont la taille et le poids moléculaire des chaînes carbonées les constituant. En effet, ces caractéristiques ne leur permettent généralement pas de traverser la barrière lipidique de la surface des racines, limitant ainsi leur absorption par les racines des plantes (Siciliano et Germida, 1998 ; Sung *et al*. 2001). De plus, les composés organiques hydrophobiques, tels que les composés aliphatiques et aromatiques avec une chaîne carbonée de 10 carbones et plus (> C₁₀) seraient peu transportés dans la plante via la phase aqueuse. En effet, à cause de leur caractère lipidique, ces composés sont fortement adsorbés aux racines.

D'autres caractéristiques physico-chimiques telles que la pression de vapeur, le coefficient de partage octanol-eau (K_{ow}) et la solubilité du contaminant sont également déterminantes pour évaluer son devenir environnemental et son potentiel de contamination des plantes. De fait, les polluants dans le sol peuvent être adsorbés à la matière organique, en solution ou en phase gazeuse dans l'air du sol ce qui peut influencer par exemple leur vitesse d'absorption par les plantes (Trapp *et al*, 1990).

La pression de vapeur d'un composé peut influencer la distribution d'un contaminant dans la solution de sol. Les polluants possédant une pression de vapeur suffisamment élevée pour se volatiliser (constante de Henry supérieure à

10^{-4}) tels que les HP de l'huile Voltesso se retrouvent en équilibre entre les phases liquide et gazeuse du sol, pouvant ainsi se déplacer jusqu'à la surface. Ces polluants peuvent donc être accumulés à travers la racine ou par les parties supérieures de la plante. Cependant, l'association des composés avec la matière organique du sol a pour effet de diminuer la volatilisation, particulièrement pour les sols avec un contenu en matière organique élevé (Ryan *et al.*, 1988).

Des études précédentes ont prouvé que la bioconcentration et la translocation subséquente des composés organiques non ioniques par les plantes est reliée à leur coefficient de partage octanol-eau (K_{ow}). Ainsi, on rapporte que les composés avec un $\log K_{ow}$ inférieur à 0,5 ne sont pas absorbés en quantité importante par les racines des plantes (Schoor *et al.*, 1995). Par contre, les composés modérément hydrophobiques ($\log K_{ow}$ entre 0,5 et 3) tels que les composés aliphatiques à chaîne courte, sont moins retenus par la matière organique du sol et sont absorbés par les plantes (Schnoor *et al.*, 1995 ; Siciliano et Germida, 1998 ; Chaîneau *et al.*, 1997). Ils peuvent également atteindre le feuillage par translocation selon le niveau de transpiration de la plante (Trapp *et al.*, 1990). Cependant, le transport jusqu'aux parties supérieures diminue lorsque le métabolisme racinaire est important. Les composés avec un $\log K_{ow}$ supérieur à 5 tels la majorité des HP associés à l'huile Voltesso sont fortement adsorbés aux particules du sol et n'ont pas tendance à être accumulés (Ryan *et al.*, 1988).

D'autres auteurs affirment que les polluants organiques à caractère lipophile avec un $\log K_{ow}$ supérieur à 4 tels que les HP composants l'huile Voltesso n'auraient pas tendance à être accumulés au niveau de la racine. En général, aucune translocation des composés lipophiles n'a été observée et par le fait même, leur métabolisme dans les végétaux n'est pas significatif (Simonich et Hites, 1995).

Tel que mentionné précédemment, les propriétés du sol influencent la biodisponibilité des HP et le potentiel de contamination des plantes. Plus spécifiquement, le pH, le contenu en carbone organique total (COT) et en matière organique totale (MOT), la capacité de rétention d'eau (CRE) et la capacité d'échange cationique (CEC) du sol sont des facteurs déterminants de l'absorption

des contaminants par la plante. Quoique pour les métaux, le pH et la CEC soient des facteurs qui influencent grandement le devenir dans le sol et leur biodisponibilité (Brady 1996), dans le cas d'une contamination aux HP, le contenu en MOT et la CRE sont les facteurs qui influencent le plus le comportement du contaminant dans le sol (Ryan *et al.*, 1988 ; Sung *et al.*, 2001).

La concentration en MOT joue un rôle important sur la biodisponibilité des HP. De fait, la matière organique se lie aux composés lipophiliques (Cunningham *et al.*, 1996). Ainsi un contenu élevé de matière organique (COT > 5 %) dans le sol implique généralement une adsorption importante et par conséquent, une faible biodisponibilité des HP pour les plantes (Otten *et al.*, 1997).

De plus, le degré de la CRE peut être utilisé afin d'estimer le comportement de l'huile Voltesso dans le sol. En effet, la distribution de l'huile est en partie affectée par les caractéristiques de l'huile et du sol. De manière générale, la texture du sol ainsi que son potentiel de saturation a un impact direct sur la migration de l'huile dans le sol et détermine sa vitesse de pénétration. En effet, ce type d'huile pénètre dans le sol en imprégnant les particules (phase solide) et en remplissant tout l'espace interstitiel formé d'air et d'eau. De plus, Hydrotech inc. (1982) a démontré que l'humidité du sol peut ralentir la vitesse de pénétration de l'huile en raison de la diminution du volume d'espace vide dans le sol (QSAR inc, 2001).

La nature et la taille des particules composant le sol peuvent également influencer la biodisponibilité des HP pour les plantes. Ainsi, les molécules se lient plus facilement à l'argile qu'au sable ou au limon (Brady, 1996). De la même façon, ont observé une plus forte minéralisation des HP dans des sols à particules plus grossières (ex : sable) comparativement à des sols avec des particules plus petites (ex : argile et limon). Cependant, un seul type de sol a été utilisé lors de cette expérimentation, l'effet de la granulométrie des particules du sol sur la biodisponibilité des HP n'a donc pas été évalué.

L'effet de la température de l'air et du sol sur la biodisponibilité des HP n'a pas été évalué lors de ce projet. En effet, l'expérimentation s'est déroulée en serre et la température a été jugée constante.

Finalement, différentes caractéristiques des végétaux peuvent jouer un rôle sur le degré de bioconcentration des composés organiques. On note, en autres, que le contenu en eau, le taux de transpiration et le contenu lipidique des plantes peut modifier le niveau de bioconcentration (Paterson *et al.*, 1994). On peut donc s'attendre à des réactions biochimiques et physiologiques différentes suite à une exposition à l'huile Voltesso et ce, en fonction des espèces et des structures morphologiques analysées (fruit, racine, feuille).

2.3 Évaluation de la bioconcentration de l'huile Voltesso par les plantes

Tel que mentionné précédemment, l'huile Voltesso contenue dans les dispositifs électriques d'Hydro-Québec peut intégrer différents médias environnementaux tels que l'air, l'eau et le sol suite à l'explosion ou au bris d'un transformateur ou d'un disjoncteur. Ce type d'huile est constitué de composés de nature lipophile qui peuvent être bioconcentrés par les végétaux. Ainsi, lors d'un déversement accidentel d'huile Voltesso sur un jardin potager par exemple, les plantes contaminées peuvent potentiellement absorber une certaine quantité d'HP entraînant une exposition éventuelle des consommateurs à ces substances par l'ingestion de légumes ou de fruits contaminés.

Dans ce contexte, l'objectif du présent projet repose sur l'évaluation du potentiel de bioconcentration de l'huile Voltesso par différentes parties comestibles (feuille, racine et fruit) de trois espèces de plantes potagères (laitue, carotte et tomate), et ce, en fonction de niveaux et de durées d'exposition spécifiques. Trois niveaux d'exposition étaient visés : C⁰ correspondant à un plant témoin, C⁻ correspondant à une concentration en HP C₁₀-C₅₀ dans le sol équivalente aux critères génériques B-C de la *Politique de protection des sols et de réhabilitation des*

terrains contaminés du ministère de l'Environnement du Québec (entre 700 et 3500 mg/kg) et C* correspondant à une concentration en HP C₁₀-C₅₀ dans le sol au-delà du critères génériques C de la *Politique de protection des sols et de réhabilitation des terrains contaminés* du ministère de l'Environnement du Québec (> 3500 mg/kg). Les trois temps d'exposition considérés sont variables selon la viabilité de l'espèce et ont été déterminés lors de la phase pré-expérimentale. Finalement, deux mécanismes d'accumulation du contaminant ont été étudiés, soit l'absorption par les racines via le déversement de l'huile sur le sol pour les trois espèces, et l'absorption via le dépôt atmosphérique du contaminant sur les feuilles de laitue.

Dans un contexte d'évaluation des risques toxicologiques et écotoxicologiques résultant d'une contamination aux HP dans le sol, différentes approches ont été proposées pour définir les intervalles de carbones de fractions d'HP (MADEP, 1994 ; Gustafson *et al.* 1997 ; CCME, 2000 a, b). Les approches du TPHCWG et du CCME classent ces composés en différentes fractions, notamment selon des intervalles de point d'ébullition. Cependant, le TPHCWG fait une distinction entre les composés aromatiques et aliphatiques pour classifier les HP (TPHCWG, 1998). Pour cette étude, la quantification des fractions d'HP selon la méthode du CCME et du TPHCWG a été effectuée.

2.4 Facteur de bioconcentration de l'huile Voltesso par les plantes

Il importe tout d'abord de définir les termes suivants : bioconcentration, bioaccumulation et bioamplification. La bioconcentration représente la tendance d'un contaminant chimique à être accumulé dans les tissus d'un organisme jusqu'à des niveaux excédant la concentration ambiante dans le milieu. La bioaccumulation est le processus par lequel le niveau de contamination chimique dans les organismes augmente avec les niveaux trophiques de la chaîne alimentaire. Finalement, la bioamplification est le processus par lequel un contaminant chimique est concentré à la suite de l'ingestion de nourriture contaminée à des niveaux excédant l'équilibre chimique (Gobas *et al.*, 1999).

Ainsi, le facteur de bioconcentration (FBC) représente la tendance d'une plante à accumuler les constituants présents dans le sol. En général, le FBC est calculé en effectuant le ratio des concentrations du contaminant dans la plante et sa concentration totale dans un média en particulier (sol, eau ou air). Ainsi, ce ratio permet d'estimer le transfert d'un contaminant présent dans l'environnement au biote. Le FBC du sol de la plante a été déterminé à tous les niveaux de contamination (C^0 , C^- , C^+) et les durées d'exposition (t_1 , t_2 , t_3) pour chacune des espèces. Les deux concentrations sont exprimées en mg/kg sur une base sèche, le FBC est donc sans unité.

Afin de quantifier le FBC de chacune des espèces à l'étude pour des niveaux et durées d'exposition spécifiques, les concentrations de différentes fractions d'HP (C_{10} - C_{50} , CCME et TPHCWG) ont été quantifiées dans les sols et les tissus contaminés. Dans le but de mieux comprendre les mécanismes d'absorption, les propriétés physico-chimiques du sol et de l'huile utilisés ont également été évaluées. Le détail des substances analysées dans les différents média est présenté au tableau I.

Tableau I : Liste des substances chimiques analysées par catégorie pour les différents médias

Média analysé	Substances chimiques				
Huile Voltesso, sol	Métaux				
	Argent (Ag)	Chrome (Cr)*	Magnésium (Mn)	Silice (Si)	
	Aluminium (Al)	Cuivre (Cu)*	Molybdène (Mo)	Titane (Ti)	
	Cadmium (Cd)*	Fer (Fe)	Nickel (Ni)*	Vanadium (V)	
	Cobalt (Co)	Manganèse (Mg)	Plomb (Pb)*	Zinc (Zn)*	
Huile Voltesso	Hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP)				
	Naphtalène	Benzo(c)phénanthrène			
	2-Méthylnaphtalène	Benzo(a)anthracène			
	1-Méthylnaphtalène	Chrysène			
	1,3-Diméthylnaphtalène	1,2-Benzanthracène-7,12-diméthyl			
	Acénaphylène	Benzo(b+k+j)fluoranthène			
	Acénaphène	Benzo(a)pyrène			
	2,3,5-Triméthylnaphtalène	3-Méthylcholanthrène			
	Fluorène	Indeno(1,2,3-cd)pyrène			
	Phénanthrène	Dibenzo(a,h)anthracène			
	Anthracène	Benzo(g,h,i)pérylène			
	Fluoranthène	Dibenzo(a,i)pyrène			
	Pyrène	Dibenzo(a,i)pyrène			
	Huile Voltesso, sol, plantes	Hydrocarbures pétroliers (HP)			
		Fractions CCME (Aromatique et aliphatique)			
F1 = C ₆ -C ₁₀					
F2 = C ₁₀ -C ₁₆					
F3 = C ₁₆ -C ₃₄					
F4 = C ₃₄ -C ₅₀					
Fractions TPHCWG					
Aromatique		Aliphatique			
F1 = C ₅ -C ₇		F1 = C ₅ -C ₆			
F2 = C _{>7} -C ₈		F2 = C _{>6} -C ₈			
F3 = C _{>8} -C ₁₀		F3 = C _{>8} -C ₁₀			
F4 = C _{>10} -C ₁₂		F4 = C _{>10} -C ₁₂			
F5 = C _{>12} -C ₁₆		F5 = C _{>12} -C ₁₆			
F6 = C _{>16} -C ₂₁		F6 = C _{>16} -C ₂₁			
		F7 = C _{>21} -C ₃₅			

* : Pour le sol, seulement les métaux avec un astérisque ont été analysés.

2.5 Impacts des HP sur la santé humaine

Les effets sur la santé humaine d'une exposition aux HP dépendent de plusieurs facteurs, tels que le type de substances composant le mélange, la durée de l'exposition et la quantité d'HP absorbée. Il n'existe pas de données concernant la toxicité de tous les HP individuellement. Ainsi, les effets sur la santé des

mélanges d'HP sont basés sur les informations de substances pétrolières existantes qui ont été étudiées.

De façon générale, les HP affectent le corps humain différemment selon la nature du composé. Certains HP, particulièrement ceux de faible poids moléculaire tels que le benzène, le toluène et les xylènes, peuvent affecter le système nerveux central. Respirer du toluène à une concentration au-delà de 100 ppm pour quelques heures peut causer de la fatigue, des maux de tête, des nausées et des étourdissements. L'ingestion de produits pétroliers tels que la gazoline ou le kérosène cause l'irritation de la gorge et de l'estomac, la dépression du système nerveux central et la difficulté respiratoire. Les composés de certaines fractions d'HP peuvent également affecter le sang, le système immunitaire, le foie, la rate, les reins et les poumons. Certains HP peuvent irriter la peau et les yeux (ATSDR, 1999).

Selon la classification du Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC), le benzène est considéré comme étant cancérigène pour l'humain (groupe 1). Certains autres HP ou produits pétroliers tels que le benzo(a)pyrène et la gazoline sont considérés comme étant probablement et possiblement cancérigènes pour l'humain (groupe 2A et 2B respectivement selon la classification du CIRC). La plupart des autres composés et produits pétroliers sont considérés non classifiables (groupe 3) par le CIRC.

3 MÉTHODOLOGIE

La figure 1 présente sous forme de schéma, les choix méthodologiques préconisés pour les différentes étapes décrites dans cette section et l'ordre séquentiel de celles-ci.

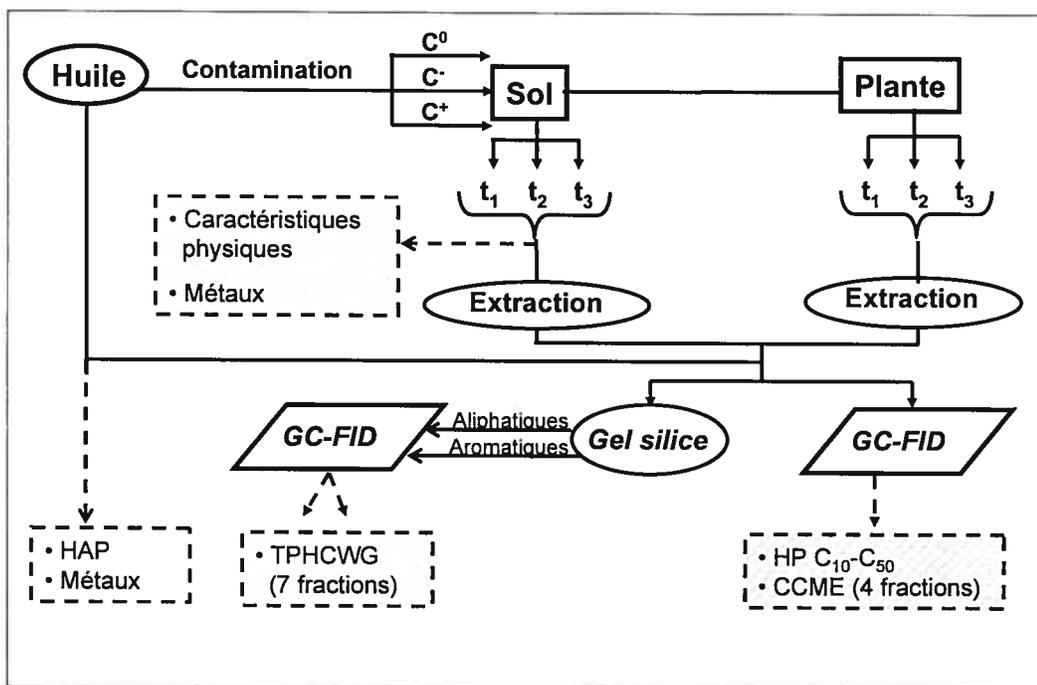


Figure 1 : Choix méthodologiques relatifs à l'analyse physico-chimique des substances d'intérêt dans l'huile Voltesso, le sol et les plantes

Tel que mentionné précédemment, l'étude se divise en deux phases principales, soit la pré-expérimentation et l'expérimentation. Les activités de contamination par déversement d'huile dans le sol et sur les plantes potagères associées à ces phases ont eu lieu dans les serres de l'Institut de recherche en biologie végétale (IRBV) du Jardin botanique de Montréal de janvier à juin 2003 ainsi qu'en janvier 2004. Les espaces ont été fournis par l'IRBV en vertu d'une entente avec le responsable de la division Recherche et Développement scientifique du Jardin botanique, M. Michel Labrecque. L'arrosage et le soin des plants ont été assurés par M. Gabriel Teodorescu, horticulteur à l'IRBV. M. Stéphane Daigle,

biostatisticien à l'IRBV, a été consulté afin d'optimiser sur une base statistique le design expérimental.

3.1 Caractérisation physico-chimique du sol

Dans le but de reproduire au maximum les conditions d'exposition des espèces potagères à la suite d'un déversement accidentel d'huile Voltesso provenant d'un transformateur, une terre à jardin a été utilisée pour le projet. Il s'agit d'un mélange tamisé composé de sol organique de haute qualité comprenant de l'humus et du compost.

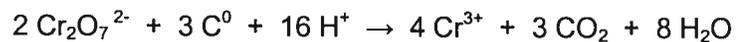
Plusieurs caractéristiques physico-chimiques du sol ont été évaluées, soit le pH, la concentration de COT et de MOT, la CRE et la CEC. Les échantillons de sol ont été préalablement homogénéisés puis recueillis dans un sac de plastique. Par ailleurs, la teneur en métaux dans le sol a été mesurée au laboratoire de l'Université McGill selon la méthode présentée à la section 3.1.5 .

3.1.1 pH

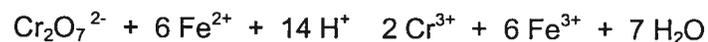
La détermination du pH est une mesure importante dans l'analyse d'un sol puisque la plupart des réactions chimiques et biologiques en solution sont contrôlées par le pH du sol en équilibre avec les particules de sol de la surface. La méthode d'Hendershot *et al.* (1993) suggère d'effectuer les mesures en utilisant 10 g de sol et 20 mL d'eau déionisée. Étant donné que la rétention d'eau du sol ne permet pas d'obtenir un surnageant suffisant pour plonger l'électrode, la méthode pour les sols organiques a été utilisée pour la caractérisation du pH du sol. Cette méthode consiste à mélanger durant une heure 2 g de sol dans 20 mL d'eau déionisée et de centrifuger 20 minutes avant de prendre la mesure.

3.1.2 Carbone organique total et matière organique totale

La méthode de Tiessen et Moir (1993) a été utilisée pour déterminer la concentration de COT contenue dans le sol. Cette procédure implique une oxydation des carbones organiques avec une solution de dichromate de potassium :



La quantité résiduelle de dichromate de potassium est ensuite déterminée par titrage avec une solution de Fe(II) selon la réaction :



La réaction a été effectuée sur exactement environ 0,1 g de sol avec 10 mL de dichromate de potassium 1,0 N. L'acidification de la solution avec 20 mL d'acide sulfurique concentré, par son dégagement intense de chaleur, permet de fournir l'énergie nécessaire à la réaction. Trente minutes suivant l'ajout de l'acide, on considère que toute la matière organique est oxydée et le volume de la solution est complété à 200 mL avec de l'eau distillée. On procède ensuite au titrage du dichromate résiduel par le sulfate ferreux 0,5 N à l'aide d'un titreur automatique TitraLab de type TIM865.

Le pourcentage de la MOT de l'échantillon a également été estimé en multipliant la valeur du COT obtenue par 1,724 (VanLoon et Duffy, 2000).

3.1.3 Capacité de rétention d'eau du sol (CRE)

Cette caractéristique a été évaluée selon une méthode standard (OECD, 2000). Il suffit de faire percoler l'eau dans un tube contenant la terre à analyser jusqu'à saturation. Les poids de la terre humide et sèche permettent de calculer la CRE. Cette information sera utile afin d'évaluer l'écoulement de l'huile à travers le sol.

3.1.4 Capacité d'échange cationique (CEC)

La capacité d'échange cationique permet de mesurer la quantité d'ions qui peut être adsorbée sur les sites du sol chargés négativement. Le principe de la méthode utilisée (Hendershot *et al.*, 1993) consiste à ajouter un ion ayant une affinité plus élevée pour la complexation des sites négatifs (baryum) et ainsi échanger les contre-ions déjà présents sur la surface du sol et les amener en solution. La réaction s'effectue sur 0,5 g de sol avec 30 mL de chlorure de baryum 0,1 M qui doivent être mélangés pendant 2 heures, centrifuger 15 minutes et filtrer à 45 μ m. La détermination de tous les cations (calcium (Ca), magnésium (Mg), potassium (K), sodium (Na), aluminium (Al), fer (Fe) et manganèse (Mn)) s'effectue simultanément à l'aide d'une analyse par spectrométrie d'émission atomique - source plasma à couplage inductif (ICP-AES).

3.1.5 Métaux

La concentration en métaux (Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn) pour le sol témoin a été évaluée selon une méthode de digestion des métaux à l'acide. La digestion à l'eau régale s'est effectuée par micro-ondes à 190 °C pendant 6 minutes pour exactement environ 0,3 g de sol dans 12 mL d'un mélange d'acides nitrique et chlorique (9 mL et 3 mL respectivement). La solution digérée est ensuite diluée à une concentration finale d'acide de 2,5 %. Les métaux sont analysés simultanément par spectrométrie de masse - source plasma à couplage inductif (ICP/MS). Deux mesures ont été effectuées pour la quantification des métaux dans le sol.

3.2 Caractérisation chimique de l'huile Voltesso

3.2.1 Méthode générale d'analyse chimique des hydrocarbures pétroliers

Les méthodes analytiques développées pour la caractérisation des HP et des fractions d'HP sont limitées. En effet, la similarité moléculaire et la quantité des

différents constituants présents dans l'huile rendent la détermination et la quantification des composés difficiles. Par exemple, la spectroscopie d'absorption par infrarouge peut être utilisée pour détecter la présence d'HP, mais ne permet pas de déterminer le nombre de carbones des chaînes. La chromatographie en phase gazeuse (GC) permet quant à elle une séparation préalable des différents hydrocarbures. Cette séparation s'effectue selon le point d'ébullition des composés qui est influencé par la longueur et la configuration des chaînes (ex. : aromatique, aliphatique). Cette technique implique ensuite une quantification des différentes fractions d'hydrocarbures obtenues par couplage à un spectromètre de masse (GC/MS) ou à un détecteur à ionisation de flamme (GC/FID).

La technique de GC/FID est la plus utilisée et la plus sensible pour la caractérisation des HP puisque la réponse du détecteur est directement proportionnelle à la quantité de liaison carbone-hydrogène du composé. La quantification s'effectue généralement par l'addition des signaux de la détection des composés, soit l'aire sous la courbe des pics contenus dans un intervalle de nombre de carbones (C_n - C_{n+x}) déterminé. De façon générale, le signal comportant tous les constituants est plus diffus lorsque la quantité de produits qui coélue est minimisée. De plus, l'étalement d'un pic peut être augmenté avec une diminution de la vitesse d'élution des produits, c'est-à-dire avec un gradient de température plus lent. La méthode doit être optimisée en trouvant le meilleur compromis entre le niveau de l'étalement du signal, et donc la définition des pics, et le temps d'analyse d'un échantillon.

Pour les HAP, en plus de la chromatographie liquide à haute performance couplée à un détecteur de spectroscopie ultraviolet (HPLC/UV), les mêmes méthodes analytiques utilisées pour les HP peuvent être utilisées. Cependant, la méthode la plus fréquemment utilisée est le GC/MS avec une détection en mode d'ions sélectionnés (SIM, selected ion monitoring), permettant une caractérisation de composés rapide et efficace. En effet, le détecteur en mode SIM analyse uniquement les ratios masse sur charge spécifiés. Cette technique de détection est applicable avec les HAP puisque leur diversité moléculaire est restreinte et

leur structure permet une délocalisation de charge limitant les fragmentations dans la molécule.

3.2.2 Optimisation de la méthode d'analyse des hydrocarbures pétroliers dans l'huile Voltesso

Dans le cadre du projet, la quantification des HP contenus dans l'huile à analyser s'est effectuée à l'aide d'un appareil de GC-FID Agilent 6890N équipé d'un injecteur automatique et d'un port d'injection à température programmable (PTV). Le gaz vecteur utilisé était composé d'hélium et a été utilisé à un débit constant de 25 psi. La colonne capillaire utilisée est de type HP-5 (30 m x 0,320 mm x 0,25 μ m). Spécifiquement, cette phase stationnaire est non polaire, réticulée et recouverte à 5% avec du phényl-méthylpolysiloxane. La HP-5 a été sélectionnée puisqu'elle possède une limite de température élevée sans dégradation (325 °C) et elle permet la séparation efficace d'un large éventail de composés, dont les produits pétroliers. Les températures de l'injecteur et du détecteur étaient fixées à 350 et 300 °C respectivement. La programmation de la température du four, et donc de la colonne, a été optimisée en injectant 1 μ L en mode splitless d'une solution d'huile dans l'hexane selon quatre différentes programmations de température du four (A, B, C et D).

D'après les chromatogrammes obtenus selon les paramètres utilisés en pré-expérimentation (figure 2), on constate que la diminution du gradient de température de la programmation A à la programmation C entraîne une élution plus lente des constituants et par le fait même, un pic plus diffus et un temps d'analyse plus long. En revanche, la programmation B possède un pic dont l'étalement est acceptable dans un intervalle de temps d'analyse raisonnable (45 min). Quant à la programmation D, celle-ci visait à évaluer l'étalement maximal du pic avec un gradient de température minimal (2 °C/min). Le chromatogramme obtenu démontre qu'aucune séparation distincte de pic n'est possible, même avec un temps d'analyse très long. Suite à ces essais, la programmation B a été retenue pour le présent projet.

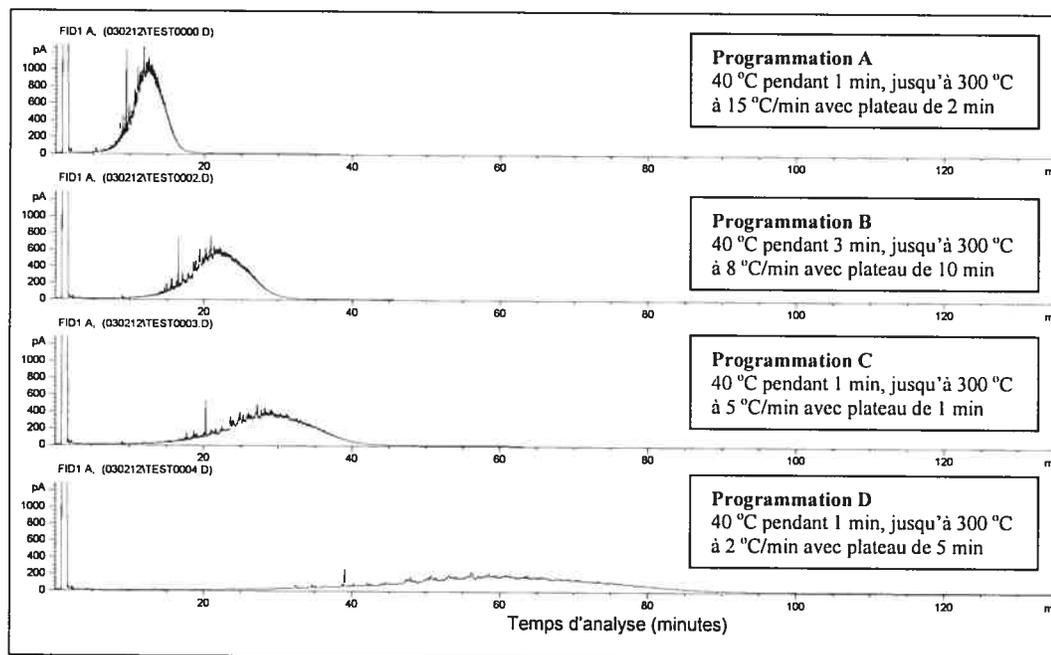


Figure 2 : Chromatogramme de l'huile Voltesso selon différentes programmations de température retenues en phase pré-expérimentale

Par ailleurs, la concentration d'un composé spécifique ne peut être déterminée directement. Tel que suggéré dans la littérature, on procède plutôt par intervalle de nombre de carbones ou fraction spécifique (TPHCWG, 1998). La concentration est déterminée à partir du facteur de calibration du détecteur. Ce dernier correspond au rapport de l'aire du pic obtenu avec la concentration de la solution standard utilisée. En effet, l'aire du signal est proportionnelle à la concentration dans les teneurs analysées. Le facteur de calibration a été évalué de façon journalière par l'injection d'au moins cinq solutions standards composés d'huile Voltesso diluée dans l'hexane couvrant l'intervalle des concentrations des solutions analysées. La moyenne des facteurs de calibration obtenus pour la journée d'analyse est utilisée pour le calcul de la concentration des échantillons.

3.2.3 Méthode utilisée pour le fractionnement des hydrocarbures pétroliers dans l'huile Voltesso en fonction des méthodes proposées par le CCME et le TPHCWG

Dans un contexte d'évaluation des risques toxicologiques et écotoxicologiques résultant d'une contamination aux HP dans le sol, différentes approches ont été proposées pour définir les intervalles de carbones de fractions d'HP (MADEP, 1994 ; Gustafson *et al.* 1997 ; CCME, 2000 a, b). Les approches du TPHCWG et du CCME classent ces composés en différentes fractions, notamment selon des intervalles de point d'ébullition. Cependant, le TPHCWG fait une distinction entre les composés aromatiques et aliphatiques pour classifier les HP (TPHCWG, 1998).

Pour cette étude, la quantification des fractions d'HP selon la méthode du CCME et du TPHCWG a été effectuée selon les conditions d'élution de la programmation B décrite à la section précédente.

L'injection de standards de produits hydrocarbonés a permis de déterminer le temps de rétention du décane (C_{10}), de l'hexadécane (C_{16}) et du tétratriacontane (C_{34}). C'est en comparant avec le profil chromatographique de l'huile Voltesso, qu'il a été possible d'évaluer la composition de l'huile et de cerner les intervalles qui représentent les fractions spécifiques du CCME (voir section 4.2).

La méthode de quantification des fractions d'HP selon l'approche du CCME a été validée par une comparaison entre les valeurs obtenues pour l'injection d'un standard et les concentrations théoriques du fournisseur. Le standard provient de la compagnie Restek inc de Bellefonte (Etats-Unis) et est composé de diesel #2 et d'huile minérale en proportion égale (1 :1) dans l'hexane.

En ce qui concerne la distribution des constituants de l'huile Voltesso selon la méthode du TPHCWG, la séparation des composés aliphatiques des composés aromatiques doit s'effectuer préalablement à la quantification. Cette séparation s'effectue par dépôt de l'échantillon sur une micro-colonne de gel de silice.

L'élution des produits aliphatiques est provoquée par le passage de 8 mL d'hexane suivie par l'élution des composés aromatiques avec 8 mL d'un mélange 1 : 1 acétone : dichlorométhane. La distribution de ces composés ainsi séparés est déterminée à partir de standards de molécules aliphatiques ou aromatiques, selon le cas, possédant le nombre de carbones correspondant. Pour les composés aliphatiques, le décane (C_{10}), le dodécane (C_{12}), l'hexadécane (C_{16}), l'heneicosane (C_{21}) et le tétratriacontane (C_{34}) ont été utilisés pour la détermination des intervalles de temps de rétention des fractions. Pour les composés aromatiques, le naphthalène (C_{10}), l'acénaphthène (C_{12}), le pyrène (C_{16}) et le méthylbenzo(a)pyrène (C_{21}) ont permis d'établir les limites de chaque fraction.

Trois mesures ont été effectuées pour la quantification des proportions des différentes fractions d'HP (CCME et TPHCWG) retrouvées dans l'huile Voltesso.

3.2.4 Méthode d'analyse des métaux dans l'huile Voltesso

Les tubulures de l'ICP-AES disponible dans les laboratoires de l'Université ne sont pas appropriées pour l'analyse directe de matrice telle que l'huile Voltesso. Ainsi, un échantillon d'huile a été envoyé à la compagnie Pratt & Whitney Canada pour l'analyse des métaux. La méthode utilisée consiste à diluer l'huile dans le kérosène qui ne contient pas de métaux et de procéder à l'analyse directe des échantillons par ICP-AES.

3.3 Méthode d'extraction des hydrocarbures pétroliers dans le sol

Il existe plusieurs techniques d'extraction pour les HP dans le sol. Cependant, certaines méthodes sont spécifiques selon la matrice et la nature des hydrocarbures composant l'échantillon (ATSDR, 1999). Dans le cas présent (huile minérale HP C_{10} à C_{35} dans un échantillon de sol), les techniques possibles sont l'extraction par solvant, l'extraction par fluides supercritiques (SFE), l'extraction par micro-ondes, l'extraction Soxhlet, l'extraction par sonication et l'extraction sur

phase solide (SPE) (ATSDR 1995). Précisons que, vu la composition de l'huile Voltesso, la méthode généralement utilisée pour les hydrocarbures pétroliers volatils, soit la fraction 1 selon l'approche du CCME (2000), ne s'applique pas. Ainsi, le recouvrement de trois des méthodes d'extraction applicables a été évalué : par solvant, par micro-ondes et par Soxhlet.

Ainsi, la méthode d'extraction par solvant proposée par le TPHCWG (1998) consiste à peser exactement environ 15 g de sol dans un tube à centrifuger, d'ajouter 15,00 mL d'hexanes et de 3 à 4 g de sulfate de sodium. On procède ensuite à l'extraction en agitant une heure suivie de la centrifugation pendant 20 minutes à 10 000 g et de l'injection directe du surnageant par GC/FID selon la méthode pré-déterminée.

La méthode aux micro-ondes (Hatsy et Revesz, 1995) consiste à extraire exactement environ 3 g de sol à l'aide de 25 mL d'un mélange acétone:hexanes 1:1 dans la bombe du micro-ondes (Milestone, Ethos Sel) à 155 °C pendant 15 minutes. Le contenu des bombes est ensuite transféré dans un tube et centrifugé pendant 20 minutes à 10 000 g. Puisqu'une fraction de l'acétone du solvant se solubilise dans la phase aqueuse de l'eau, le volume final de la phase organique doit être réévalué. La phase organique peut ensuite être injectée directement dans un GC/FID.

L'extraction des HP du sol par Soxhlet (CCME, 2000b) s'effectue à partir de 6 g de sol et de 120 mL d'un mélange 1:1 d'acétone:hexanes pendant 16 heures. On procède ensuite à l'évaporation du solvant, à la mise en solution du résidu et à l'injection par GC/FID.

Les résultats des concentrations en HP C₁₀-C₅₀ obtenues sur différents échantillons de sol en fonction des méthodes d'extraction utilisées ainsi que leur pourcentage de recouvrement sont présentés au tableau II. Les concentrations sont rapportées en mg/kg sur une base sèche en déterminant le pourcentage d'humidité de chaque échantillon. Afin d'évaluer le pourcentage de recouvrement, les sols ont préalablement été contaminés à l'huile Voltesso avec des

concentrations finales d'environ 3 000 mg/kg. Le recouvrement moyen obtenu pour chacune des méthodes est acceptable (au-delà de 90 %). Cependant, les méthodes d'extraction par Soxhlet et par micro-ondes sont beaucoup plus longues à effectuer. Ainsi, la méthode proposée par le TPHCWG (1998) a été retenue pour l'extraction des échantillons lors de la pré-expérimentation seulement. Lors de l'expérimentation, l'extraction des HP des échantillons de sol a été réalisée par micro-ondes. Un minimum de deux extractions a été effectué pour chacun des échantillons de sol.

Tableau II : Concentrations en hydrocarbures pétroliers C₁₀-C₅₀ et pourcentage de recouvrement de différents échantillons de sols contaminés à l'huile Voltesso selon les méthodes d'extraction utilisées durant la phase pré-expérimentale

Méthode	HP C ₁₀ -C ₅₀ (mg/kg sol poids sec)	Recouvrement (%)
Soxhlet (CCME, 2000)	3 112	91
	3 160	91
	8 214	102
	Moyenne (écart-type) 95 (6)	
Micro-ondes (Hasty and Revesz, 1995)	5 222	80
	5 337	91
	5 704	89
	6 009	87
	6 186	105
	6 560	97
	6 650	95
	7 044	83
Moyenne (écart-type) 91 (8)		
TPHCWG (TPHCWG, 1998)	1 839	97
	1 891	104
	1 968	94
	2 116	118
	2 313	104
	2 362	106
	2 475	119
	2 495	102
	2 700	105
	2 740	103
Moyenne (écart-type) 105 (8)		

3.4 Méthode d'extraction des hydrocarbures pétroliers dans les plantes

La méthode d'extraction des HP a été optimisée pour tous les types de plantes utilisés dans ce projet. Ainsi, la technique proposée par le TPHCWG (1998) a été adaptée pour l'extraction de chacun des types de plantes.

En résumé, les carottes et les feuilles de laitue ont été rincées à l'eau afin d'enlever toute trace de terre. Elles ont ensuite été tranchées en morceaux très fins dans un hachoir à légume. Dans un tube à centrifuger, exactement environ 15 g de tissus broyés ont été mélangés avec 15 mL d'hexane en présence de sulfate de sodium pendant 1 heure. Le surnageant a été injecté dans un GC/FID à la suite de la centrifugation de l'échantillon. Cependant, pour l'extraction des HP contenus dans les tomates, uniquement 15 g de la tomate ont été broyés. En effet, le contenu élevé en eau de la tomate empêche une homogénéisation adéquate de l'échantillon entraînant une surestimation de la quantité d'HP dans le fruit. Les concentrations sont rapportées en mg/kg sur une base sèche en déterminant le pourcentage d'humidité de chaque échantillon.

Les concentrations en HP C₁₀-C₅₀ mesurées dans différents échantillons de laitue (feuilles), de carotte (racine) et de tomate (fruit) ainsi que leur pourcentage de recouvrement sont présentés aux tableaux III, IV et V. L'optimisation des méthodes d'extraction a été effectuée avec des tissus préalablement contaminés avec environ 3 000 mg d'huile par kg de tissus poids sec. Les pourcentages de recouvrement moyens obtenus sont inférieurs à ceux des extractions de sol, principalement pour la laitue et pour la tomate (82 % et 72 %). Ces deux espèces détiennent un contenu en eau élevé, donc une moins bonne absorption de l'huile par les tissus. Une partie de l'huile a donc pu être enlevée lors des manipulations. Cependant, le recouvrement par cette méthode est acceptable.

Tableau III : Concentrations en hydrocarbures pétroliers C₁₀-C₅₀ et pourcentage de recouvrement de différents échantillons de feuilles de laitue contaminés à l'huile Voltesso selon la méthode d'extraction du TPHCWG utilisée durant la phase pré-expérimentale

HP C ₁₀ -C ₅₀ (mg /kg tissus poids sec)	Recouvrement (%)
2 577	73
2 781	80
2 912	79
3 208	72
3 367	82
3 406	97
3 443	80
3 575	95
3 603	79
	Moyenne (écart-type) 80 (10)

Tableau IV : Concentrations en hydrocarbures pétroliers C₁₀-C₅₀ et pourcentage de recouvrement de différents échantillons de carotte (racine) contaminés à l'huile Voltesso selon la méthode d'extraction du TPHCWG utilisée durant la phase pré-expérimentale

HP C ₁₀ -C ₅₀ (mg /kg tissus poids sec)	Recouvrement (%)
993	97
1 158	108
1 312	93
1 813	88
	Moyenne (écart-type) 97 (9)

Tableau V : Concentrations en hydrocarbures pétroliers C₁₀-C₅₀ et pourcentage de recouvrement de différents échantillons de tomates (fruit) contaminés à l'huile Voltesso selon la méthode d'extraction du TPHCWG utilisée durant la phase pré-expérimentale

HP C ₁₀ -C ₅₀ (mg/kg tissus poids sec)	Recouvrement (%)
663	64
766	62
770	54
803	55
896	72
979	63
1 039	77
1 041	75
1 162	83
1 200	74
1 225	84
1 298	74
1 341	75
1 360	65
1 363	78
1 481	79
1 488	68
1 562	54
1 913	79
2 046	100
	Moyenne (écart-type) 70 (10)

3.5 Méthode utilisée pour la contamination des laitues

3.5.1 Phase pré-expérimentale

Rappelons que la première phase de l'étude visait à déterminer le mode de contamination et la quantité d'huile Voltesso à ajouter pour atteindre les concentrations cibles en HP C₁₀-C₅₀ dans le sol, soit les plages B-C (C⁻) et C (C⁺) des critères de la *Politique de protection des sols et de réhabilitation des terrains contaminés* du MENV qui correspondent aux critères des annexes I et II du *Règlement sur la protection et la réhabilitation des terrains*. Ce dernier règlement s'applique cependant pour certains terrains et type d'usage seulement. Il faut préciser que les critères de la Politique du MENV pour les C₁₀-C₅₀ sont de 300 à 700 mg/kg pour la plage A-B, de 700 à 3 500 mg/kg pour la plage B-C et de plus de 3 500 mg/kg pour la plage > C.

Aussi, lors de la pré-expérimentation, la viabilité et l'évolution temporelle des plantes à ces concentrations ainsi que l'effet du lavage des laitues sur le niveau de contamination ont été évalués. La méthode d'extraction de l'huile des plantes a été optimisée permettant de quantifier sommairement le niveau de contamination en HP C₁₀-C₅₀ atteint dans les plantes après le déversement simulé.

Les semis ont été mis en terre le 23 janvier 2003 dans des terrines puis replantés dans des pots d'environ 3 L (pot cylindrique avec une hauteur de 12 cm et un diamètre de 18 cm) un mois plus tard, soit le 19 février 2003. La contamination du sol s'est effectuée le 28 mars 2003 à la suite d'une augmentation significative de la température de la serre qui laissait présager une diminution du temps de viabilité des laitues.

Les pots de laitue disponibles ont été contaminés avec une quantité d'huile mesurée dans un cylindre gradué et appliquée à l'aide d'un vaporisateur suivant un ratio feuille : sol d'environ 1 : 1. En tout, sept pots ont été contaminés avec respectivement 10 mL, 25 mL, 50 mL (2), 100 mL, 200 mL et 400 mL d'huile Voltesso respectivement. Un dernier pot a été contaminé avec 400 mL d'huile, mais appliqué uniquement au niveau du sol. Un pot témoin a été préservé intact pour fins de comparaison.

Six jours après l'ajout de l'huile, le vieillissement des tissus a été jugé trop avancé et l'expérimentation s'est terminée (le 3 avril 2003). À ce moment, des échantillons de sol de chaque pot ont été prélevés à deux niveaux différents, soit à la surface (0-2 cm) et au milieu du pot (≈ 6 cm). La totalité du sol contenu dans le pot a ensuite été mélangée (homogénéisée) et un dernier échantillon a été prélevé.

Les HP de chaque échantillon de sol ont été extraits selon la méthode proposée par le TPHCWG (voir section 3.3). Dans le cas des laitues, toutes les feuilles ont été recueillies puis rincées à l'eau afin d'enlever les résidus de sol. L'effet du lavage des feuilles sur la concentration en HP C₁₀-C₅₀ a été évalué pour les

échantillons de 50 mL à l'aide d'un savon doux de marque Palmolive citron antibactérien en rinçant la moitié des feuilles d'un même échantillon à l'eau et en lavant l'autre moitié avec du savon. Elles ont ensuite été coupées en morceaux très fins à l'aide d'un hachoir à légume. L'extraction des HP des feuilles de laitue s'est effectuée selon la méthode du TPHCWG décrite à la section 3.4. Tous les échantillons de sol et de laitue ont ensuite été analysés par GC/FID afin de déterminer le contenu en HP C₁₀-C₅₀. La reproductibilité de la méthode d'analyse a été vérifiée en effectuant une deuxième extraction pour chaque échantillon.

3.5.2 Phase expérimentale

L'étape de pré-expérimentation avec les laitues a permis de déterminer les volumes d'huile à ajouter à chaque pot pour atteindre les concentrations cibles pour l'expérimentation, c'est-à-dire 15 mL (C⁻) et 40 mL (C⁺). De plus, pour standardiser la méthode de contamination et faciliter la comparaison des résultats, l'huile Voltesso a été déversée soit uniquement sur les feuilles, soit directement sur le sol. Les temps d'exposition ont également été établis, soit 24 heures, 5 jours et 9 jours après la contamination. Les plants pour l'expérimentation ont été contaminés et disposés sur les tables suivant un arrangement aléatoire (figure 3). La table comporte ainsi trois rangées de 12 plants où chaque rangée correspond à un temps d'exposition. Les plants sont disposés également par bloc de trois, où chaque bloc regroupe les concentrations cibles (témoin ou C⁰, C⁻ et C⁺). La deuxième moitié de la table est consacrée à la reprise des mêmes traitements.

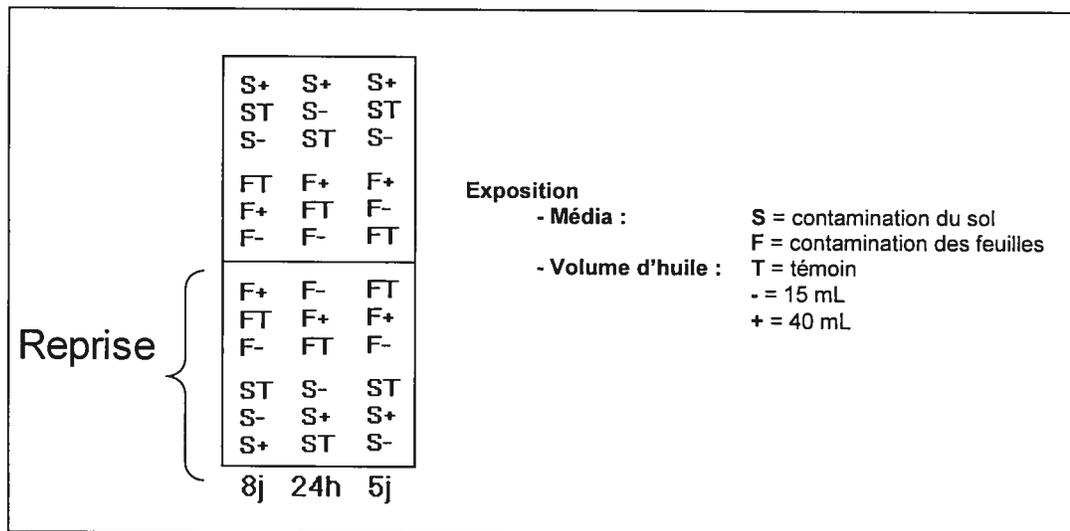


Figure 3 : Design expérimental utilisé pour l'exposition de la laitue en serre durant la phase expérimentale

Dans un premier temps, la mesure du taux de chlorophylle par fluorescence a permis de quantifier la tolérance de la plante à un stress. Elle a donc été effectuée sur les plants avant chacun des échantillonnages. Pour ce faire, un fluorimètre de marque Opti-Science-30 spécifique pour ce type de mesure a été utilisé. Il est équipé d'une sonde qu'il suffit de connecter sur une puce électronique placée sur la feuille. Cette puce permet d'effectuer la mesure dans l'obscurité. Tout d'abord, l'appareil effectue la mesure de la fluorescence initiale (F_0). Ensuite, les centres réactionnels de la plante sont excités par une impulsion lumineuse de haute intensité ($12\ 000\ \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$) pendant une seconde à l'aide de la lampe halogène du fluorimètre ($< 710\ \text{nm}$). La mesure de l'énergie alors émise représente la fluorescence maximale (F_m) de la plante. L'index le plus utilisé représentant la vitalité de la plante est le rapport des mesures de F_v/F_m où F_v correspond à la variation de la fluorescence ($F_v = F_m - F_0$). Ce rapport de fluorescence représente le rendement quantique maximal de la photosynthèse et est sans unité. Une augmentation de la valeur de F_0 indique que certains centres réactionnels sont endommagés. Ainsi, la diminution du rapport F_v/F_m par rapport à un plant témoin signifie un dysfonctionnement dans le processus de photosynthèse (Méthy *et al.*, 1997). Cette mesure a été effectuée uniquement lors

de la phase expérimentale puisque les volumes vaporisés sur les feuilles étaient alors mesurés précisément.

Les échantillons de sol et de laitue ont ensuite été analysés par GC/FID afin de déterminer le contenu en HP C₁₀-C₅₀. La reproductibilité de la méthode d'analyse a été vérifiée en effectuant une deuxième extraction pour chaque échantillon. Ces mêmes échantillons injectés ont été fractionnés selon les intervalles de la méthode du CCME. De plus, au moins un des deux essais des échantillons de sol contaminés sur le sol a été séparé sur colonne de gel de silice afin d'en quantifier les fractions selon la méthode du TPHCWG. En ce qui concerne les tissus de laitue, la méthode de fractionnement selon le TPHCWG a été effectuée sur tous les échantillons contaminés sur les feuilles et uniquement sur les échantillons contaminés sur le sol les plus concentrés.

Finalement, la concentration des HP extraits des tissus de laitue à la suite du lavage des feuilles au savon doux a été évaluée après 24 heures (t₁) et 9 jours (t₃) pour les deux niveaux de contamination.

3.6 Méthode utilisée pour la contamination des carottes

3.6.1 Phase pré expérimentale

Tout comme pour la phase pré-expérimentale avec les laitues, cette étape a permis de préciser les quantités d'huile Voltesso nécessaires pour atteindre les concentrations cibles en HP C₁₀-C₅₀ dans le sol équivalent de la plage B-C et >C de la *Politique* du MENV ou les critères des annexes I et II du *Règlement sur la protection et la réhabilitation des terrains*.

Cette étape a servi également à évaluer la viabilité des plants de carottes à ces concentrations cibles ainsi que l'effet du pelage des carottes sur le niveau de contamination des tissus. Aussi, la méthode d'extraction des HP des carottes (racines) a été optimisée afin d'évaluer le niveau de contamination en HP C₁₀-C₅₀ atteint après le déversement (voir section 3.4).

Les carottes ont été plantées le 23 janvier 2003 dans des pots ayant une capacité d'environ 7 L (pot cylindrique d'une hauteur de 16 cm et d'un diamètre de 24 cm) à raison de 4 carottes par pot. La contamination s'est effectuée trois mois plus tard, soit le 22 avril 2003. Afin d'augmenter la reproductibilité des manipulations de déversement, la contamination s'est effectuée en déversant l'huile uniquement au niveau du sol. La quantité d'huile à ajouter a été déterminée à partir des concentrations obtenues dans la pré-expérimentation des laitues et en corrigeant pour les volumes de sol des pots. Les six pots disponibles ont été contaminés comme suit : témoin, 7 mL, 16 mL, 24 mL, 36 mL et 50 mL. Les carottes ont été échantillonnées 17 jours plus tard (le 9 mai 2003). La terre des pots a été homogénéisée préalablement au prélèvement d'échantillon du sol. Afin de vérifier l'homogénéité des sols, deux extractions par échantillon ont été effectuées. Les HP de chaque échantillon ont été extraits du sol selon la méthode proposée par le TPHCWG (voir section 3.3). Les carottes à analyser ont été lavées à l'eau dans le but d'éliminer toute trace de terre. Deux carottes par pot ont été coupées à l'aide d'un hachoir à légume. Une carotte de chacun des pots les plus contaminés (36 et 50 mL) a été pelée préalablement à la coupe pour fins de comparaison. La technique d'extraction des HP proposée par le TPHCWG décrite à la section 3.4 a été utilisée.

Tous les échantillons de sol et de carotte ont ensuite été analysés par GC/FID afin de déterminer le contenu en HP C₁₀-C₅₀. La reproductibilité de la méthode d'analyse a été vérifiée en effectuant une deuxième mesure pour chaque échantillon.

3.6.2 Phase expérimentale

À partir des résultats obtenus, les volumes d'huile à ajouter pour atteindre les concentrations cibles pour l'expérimentation ainsi que les temps d'exposition ont pu être établis. Les pots de carotte pour l'expérimentation ont donc été contaminés directement sur le sol avec deux volumes d'huile différents pour le

niveau C⁻, soit 10 mL et 18 mL. Pour le niveau C⁺, deux volumes d'huile différents ont également été déversés, soit 25 mL et 32 mL. Des échantillons ont été prélevés 24 heures, 7 jours et 21 jours suivant la contamination. Les plants pour l'expérimentation ont été contaminés et disposés sur les tables selon la figure 4. La table comporte trois rangées de 12 plants où chaque rangée correspond à un temps d'échantillonnage. Les plants sont disposés par bloc de trois qui regroupe chacune des concentrations cibles (témoin, C⁻ et C⁺) selon un ordre aléatoire. La deuxième moitié de la table est consacrée à la reprise des mêmes traitements.

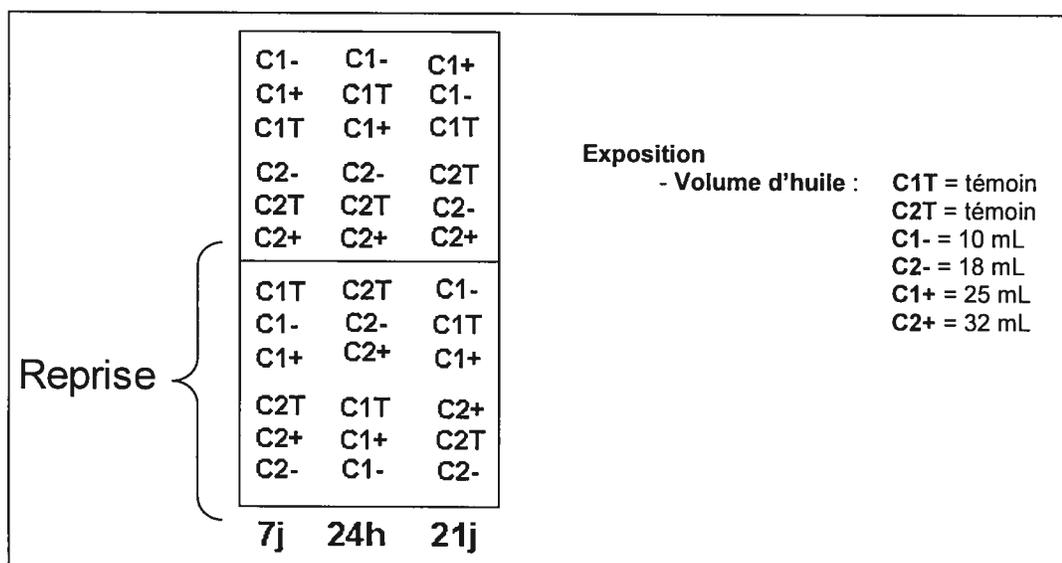


Figure 4 : Design expérimental utilisé pour l'exposition de la carotte en serre durant la phase expérimentale

Les échantillons de sol et de carotte ont ensuite été analysés par GC/FID afin de déterminer le contenu en HP C₁₀-C₅₀. La reproductibilité de la méthode d'analyse a été vérifiée en effectuant une deuxième mesure pour chaque échantillon. Ces mêmes échantillons injectés ont été fractionnés selon les intervalles proposés par la méthode du CCME. De plus, au moins un des deux essais des échantillons contaminés avec 18 mL d'huile et plus a été séparé sur colonne de gel de silice afin d'en quantifier les fractions selon la méthode du TPHCWG.

3.7 Méthode utilisée pour la contamination des tomates

À l'instar de la laitue et des carottes, trois niveaux de contamination en HP C₁₀-C₅₀ correspondant au témoin, à la plage B-C et > C de la *Politique* du MENV ont été considérés. De plus, trois temps d'exposition ont été retenus.

L'effet du lavage des fruits à l'eau savonneuse 24 heures et 7 jours après l'exposition a également été évalué.

3.7.1 Phase pré-expérimentale

Étant donné le temps nécessaire pour la maturation des tomates, aucun fruit n'était disponible pour la pré-expérimentation.

La phase pré-expérimentale a néanmoins permis d'optimiser la technique d'extraction (section 3.4) des HP des tomates à partir de fruits provenant d'un marché d'alimentation. De plus, l'effet du lavage des fruits à l'eau savonneuse 24 heures et 7 jours après l'exposition a également été évalué à partir de fruits achetés.

3.7.2 Phase expérimentale

Les tomates ont été semées le 13 février 2003 dans les serres de l'IRBV. Elles ont été repiquées le 5 mars pour finalement être plantées le 19 mars dans des pots pouvant contenir environ 14 L (pot cylindrique d'une hauteur de 21 cm et d'un diamètre de 29 cm). L'expérimentation a débuté le 4 juin 2003. Les plants mesuraient alors en moyenne 1,2 m et comportaient une quinzaine de tomates.

Afin d'uniformiser la méthode de contamination, l'huile a été déversée directement sur le sol avec des volumes déterminés à partir des résultats de la pré-expérimentation effectués sur les carottes en tenant compte des niveaux cibles de contamination à atteindre dans le sol (C⁻ : plage B-C; C⁺ : critère > C de la *Politique* du MENV) et de la quantité de sol dans les pots. Ainsi, les 36 plants disponibles ont été contaminés avec deux volumes d'huile différents pour le

niveau C⁻, soit 10 et 20 mL et avec deux volumes d'huile différents pour le niveau C⁺, soit 35 et 50 mL.

Tel que suggéré par le biostatisticien, les plants ont été disposés sur les tables suivant un arrangement aléatoire (figure 5).

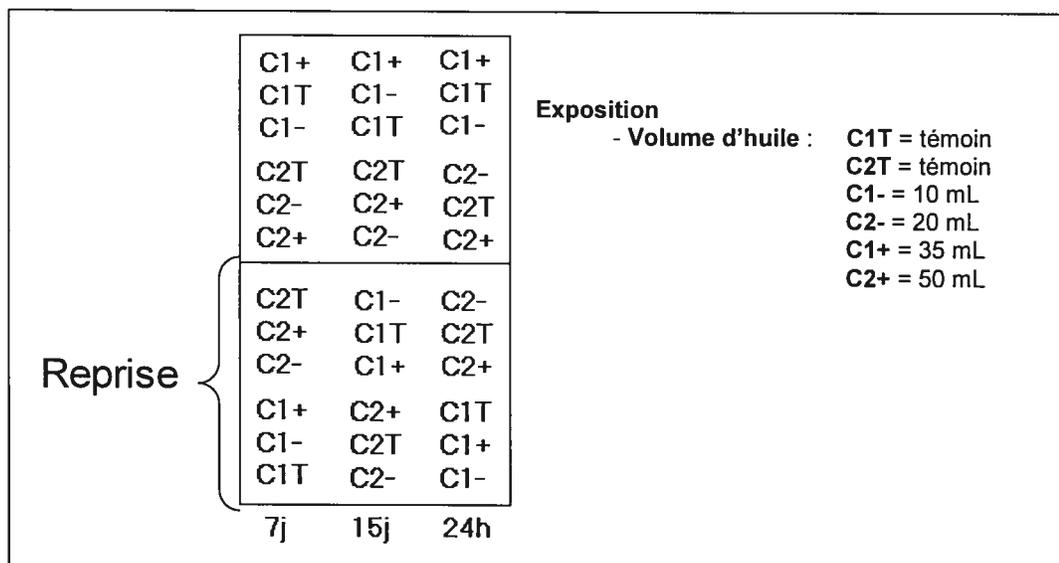


Figure 5 : Design expérimental utilisé pour l'exposition de la tomate en serre durant la phase expérimentale

Les tomates ont été cueillies 24 heures, 7 jours et 15 jours après le déversement d'huile (temps d'exposition).

Pour l'analyse des sols contaminés, la totalité de la terre de chaque pot a été homogénéisée préalablement à la prise de l'échantillon. Les extractions des HP du sol ont été effectuées selon les méthodes par micro-ondes et TPHCWG décrites à la section 3.3. Les HP contenus dans les tomates ont été extraits suivant la méthode décrite à la section 3.4.

Tous les échantillons de sol et de tomate ont ensuite ont été analysés par GC/FID afin de déterminer le contenu en HP C₁₀-C₅₀. La reproductibilité de la méthode d'analyse a été vérifiée en effectuant une deuxième mesure pour chaque échantillon de sol. Ces mêmes échantillons injectés ont été fractionnés selon les

intervalles proposés par la méthode du CCME. De plus, au moins un des deux essais des échantillons de sol contaminés avec 20 mL d'huile et plus a été séparé sur colonne de gel de silice afin d'en quantifier les fractions selon la méthode du TPHCWG.

3.8 Analyses statistiques

3.8.1 Statistiques descriptives

Les statistiques descriptives (moyenne, écart-type et coefficient de variation) ont été effectuées à l'aide du logiciel Microsoft Excel 5,1.

3.8.2 Analyse de variance avec tests de comparaisons multiples

Afin de comparer les variations des concentrations en HP avec le niveau et la durée d'exposition à l'huile Voltesso pour chacune des espèces, des tests statistiques ont été réalisés à l'aide du logiciel Jmpin 4,0,3 (SAS Institute inc.).

Les concentrations moyennes en HP C₁₀-C₅₀ ont été comparées à l'aide du test Tukey HSD pour un niveau de confiance de 95 %. Les proportions des fractions du CCME retrouvées dans les sols et les tissus ont également été comparées à l'aide de ce test statistique. Tukey HSD est un test statistique à une dimension qui permet de comparer chacune des moyennes entre elles.

Les FBC obtenus pour chacune des espèces ont été comparés en fonction du niveau et de la durée d'exposition à l'aide d'un test statistique non paramétrique (Wilcoxon).

3.8.3 Régression linéaire

Une régression linéaire a été effectuée entre les concentrations en HP C₁₀-C₅₀ extraits des tissus et extraits des sols en fonction des durées d'exposition. Les

régressions ont été effectuées par la méthode des moindres carrés à l'aide du logiciel Excel. L'équation des droites obtenues, le coefficient de détermination (R^2) ainsi que la probabilité (p) sont présentés sur le graphique pour chacune des relations effectuées. La probabilité (p) ici présentée correspond à la mesure de la probabilité que le modèle ne soit pas approprié. Tout au long de cet ouvrage, uniquement les régressions possédant une probabilité significative ($p < 0,05$) ont été présentées.

4 RÉSULTATS

4.1 Caractérisation du sol

Les résultats obtenus pour le pH, la proportion de COT et de MOT, la CRE ainsi que la CEC sont caractéristiques d'un sol de type organique. Le pH moyen du sol est quasi-neutre (6,80) tandis que la proportion de COT et de MOT est relativement élevée avec respectivement 26,0 et 45 % p/p (tableau VI). Les coefficients de variation obtenus pour ces différents paramètres sont faibles avec des valeurs inférieures à 3 %. La CRE du sol caractérisé est élevée avec une capacité correspondant à près de 1,6 fois son poids. Le coefficient de variation obtenu pour ce paramètre est également relativement faible (10 %). La valeur élevée obtenue pour la CEC (143 méq/100g) s'explique par la grande concentration de matière organique dans le sol qui a pour effet d'augmenter la quantité des sites d'échange. Les mesures de CEC ont un coefficient de variation inférieur à 4 %. Ces résultats ont tous été validés par la mesure de ces caractéristiques avec un matériel certifié standard selon la même procédure d'analyse (Sheldrick et Wang, 1995). Les faibles pourcentages d'écart entre les valeurs obtenues démontrent la justesse des résultats.

En ce qui concerne les sols utilisés durant l'expérimentation avec les trois espèces de plantes, les valeurs pour le pH, la CEC ainsi que la quantité de COT et MOT sont restées relativement constantes en fonction du temps et du niveau d'exposition (tableau VI). Cependant, les échantillons les plus concentrés de carotte et de tomate au temps final ont démontré une diminution significative de la capacité de rétention d'eau. Cette situation peut s'expliquer par une hydrophobicité résultant d'une augmentation de la saturation du sol par l'huile.

Tableau VI : Caractéristiques physico-chimiques du sol utilisé durant la phase expérimentale

Média d'exposition	Niveau d'exposition	Temps d'exposition	pH	Carbone organique total (COT) (%)	Matière organique totale (MOT) (%)	Capacité de rétention d'eau (CRE) (%)	Capacité d'échange cationique (CEC) (méq/100g)
Sol sans plante	C ⁰	t ₀	6,80 (0,03)	26,0 (0,8)	45 (1)	160 (10)	143 (5)
	C ⁰	t ₁ (24 h)	6,38	31,7	55	167	150
Sol avec laitue	C ⁻	t ₁ (24 h)	6,80	33,9	59	158	126
	C ⁻	t ₃ (9 j)	6,90	32,3	56	166	123
	C ⁺	t ₁ (24 h)	6,94	33,2	57	162	132
	C ⁺	t ₃ (9 j)	7,00	32,1	55	185	125
	C ⁰	t ₁ (24 h)	6,21	33,8	57	156	155
Sol avec carotte	C ⁻	t ₁ (24 h)	6,50	41,5	71	165	144
	C ⁻	t ₃ (21 j)	6,52	36,1	61	132	141
	C ⁺	t ₁ (24 h)	6,44	38,2	65	180	151
	C ⁺	t ₃ (21 j)	6,66	38,8	66	132	143
	C ⁰	t ₁ (24 h)	6,30	34,0	58	167	149
Sol avec tomate	C ⁻	t ₁ (24 h)	6,40	38,7	66	152	143
	C ⁻	t ₃ (15 j)	6,80	37,8	64	154	142
	C ⁺	t ₁ (24 h)	6,56	31,1	53	123	146
	C ⁺	t ₃ (15 j)	6,50	37,9	64	103	130

Note : Pour les sols certifiés standardisés, les coefficients de variation entre les valeurs expérimentales et théoriques sont les suivants: pH = 0,6 %; COT = 1,2 %; CEC = 27 %.

Les métaux contenus dans le sol utilisé pour la croissance des plantes ont également été quantifiés. Tel que présenté au tableau VII, le zinc est l'élément retrouvé en plus grande concentration. Cependant, ce métal est essentiel à la croissance de la plante et demeure dans les limites acceptables pour la croissance des plantes. La concentration des autres métaux est inférieure à 30 mg/kg poids sec (ppm). Tel que mentionné précédemment, cette analyse n'a donc pas été réalisée sur les autres échantillons de sols et de tissus végétaux.

4.2 Caractérisation des hydrocarbures pétroliers dans l'huile Voltesso

Les résultats d'analyse obtenus pour la quantification des HP et des HAP sont présentés dans cette section.

Sur la base des analyses chimiques effectuées à trois reprises, les HP composant l'huile Voltesso se trouvent entre les chaînes constituées de 10 carbones (C_{10}) et de 35 carbones (C_{35}), soit, plus spécifiquement, celles correspondant aux fractions 2 (C_{10} - C_{16}) et 3 (C_{16} - C_{34}) du CCME ainsi que des fractions 4 ($> C_{10}$ - C_{12}), 5 ($> C_{12}$ - C_{16}), 6 ($> C_{16}$ - C_{21}) et 7 ($> C_{21}$ - C_{35}) du TPHCWG, aromatiques et aliphatiques confondus (tableau VIII). L'huile Voltesso ne comporte pas d'HP au-delà de C_{34} . Le chromatogramme de la figure 6 présente ces différentes proportions ainsi que les pics correspondant aux standards C_{10} (décane), C_{16} (hexadécane) et C_{34} (tétratriacontane).

Tableau VII : Concentrations en métaux dans le sol utilisé durant la phase expérimentale

Élément	Chrome	Nickel	Cuivre	Zinc	Cadmium	Plomb
	(mg /kg de poids sec)					
Sol sans plante	13,8	10,4	19	43	0,5	6,8
2 ^{ème} essai	14,5	10,1	30	38	0,3	7,1
Moyenne	14,2	10,2	25	40	0,4	6,9
Écart-type	0,5	0,2	8	4	0,1	0,2

Tableau VIII : Concentrations en hydrocarbures pétroliers C₁₀-C₅₀ mesurées dans l'huile Voltesso selon la méthode de fractionnement proposée par le TPHCWG et le CCME

	Approche du TPHCWG				Approche du CCME			
	Aromatique		Aliphatique		Aromatique et aliphatique			
	(mg/kg)	(%)	(mg/kg)	(%)	(mg/kg)	(%)	(mg/kg)	(%)
F1 = C ₅ -C ₇	0	0	0	0				
F2 = C ₇ -C ₈	0	0	0	0	F1 = C ₆ -C ₁₀	0	0	0
F3 = C ₈ -C ₁₀	0	0	0	0				
F4 = C _{>10} -C ₁₂	10 000	1,0	2 200	0,22	F2 = C ₁₀ -C ₁₆	244 000	24,4	24,4
F5 = C _{>12} -C ₁₆	130 000	13	200 000	20				
F6 = C _{>16} -C ₂₁	40 000	4	460 000	46	F3 = C ₁₆ -C ₃₄	756 000	75,6	75,6
F7 = C _{>21} -C ₃₅	0	0	160 000	16	F4 = C ₃₄ -C ₅₀	0	0	0

C_n : n correspond au nombre de carbones constituant la chaîne d'un composé donné.

Note : La méthode de CCME (2000) considère que la moitié de la concentration en C₁₀ est incluse dans la fraction de C₆-C₁₀ et l'autre moitié dans la fraction C₁₀-C₁₆. Il en va de même pour la concentration en C₁₆ et en C₃₄.

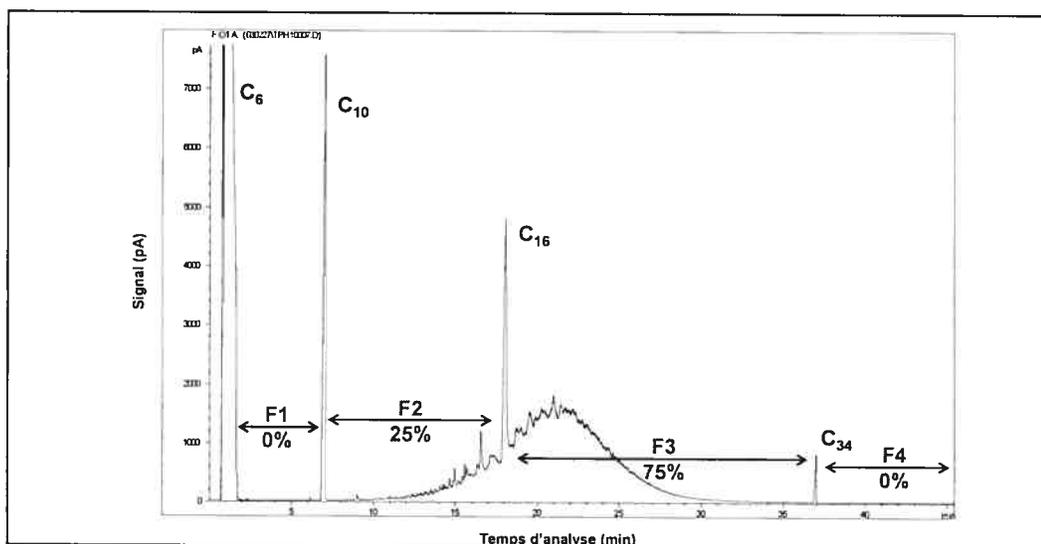


Figure 6 : Chromatogramme de l'huile Voltesso avec injection de standards obtenu selon la méthode décrite à la section 3.2.2 avec les pics associés aux standards utilisés pour le fractionnement des hydrocarbures pétroliers selon la méthode du CCME

Tel que mentionné à la section 3.2.3, les valeurs obtenues selon l'approche du CCME ont été validées lors de l'expérimentation finale par l'injection d'un standard de diesel n° 2 et d'huile minérale 1 : 1 dans l'hexane. Selon les valeurs présentées au tableau IX, les résultats obtenus lors de l'expérimentation montrent une proportion plus élevée des fractions 1 et 2 du CCME par rapport aux résultats fournis par la compagnie Restek inc pour le même standard. L'éluion prématurée des composés pourrait être expliquée par le fait que la nature et le débit du gaz vecteur utilisé pour les deux séries d'analyse étaient différents. De plus, la température du port d'injection était supérieure dans la méthode développée pour le projet (350 °C) par rapport à celle utilisée par la compagnie Restek (250 °C). Le type de colonne utilisé par la compagnie Restek n'est pas connu mais il est possible que des phases stationnaires de nature différente donnent des temps de rétention quelque peu différents. Cependant, les écart-types entre les valeurs déterminées à l'Université de Montréal et celles fournies par Restek inc restent acceptables (inférieurs à 7 %). De plus, les patrons chromatographiques produits à l'Université de Montréal et par cette compagnie sont très similaires (figure 7).

Tableau IX : Comparaison des proportions de chaque fraction du CCME calculées à partir des résultats de l'expérimentation et des données fournies par le fournisseur (Restek inc.) sur la base de l'analyse chimique d'un standard au diesel n°2 et d'huile minérale (1:1) dans l'hexane

Fraction CCME	Expérimental ^(a)	Restek inc.	Écart relatif (%) [(a-b/b)*100]
	(%) a	(%) b	
F1 = C ₆ -C ₁₀	3,9	0,8	79
F2 = C ₁₀ -C ₁₆	10	4	60
F3 = C ₁₆ -C ₃₄	87	95	10
F4 = C ₃₄ -C ₅₀	0	0	0

^(a) : Les résultats présentés correspondent à la moyenne de deux mesures. Les coefficients de variation sont inférieurs à 10%.

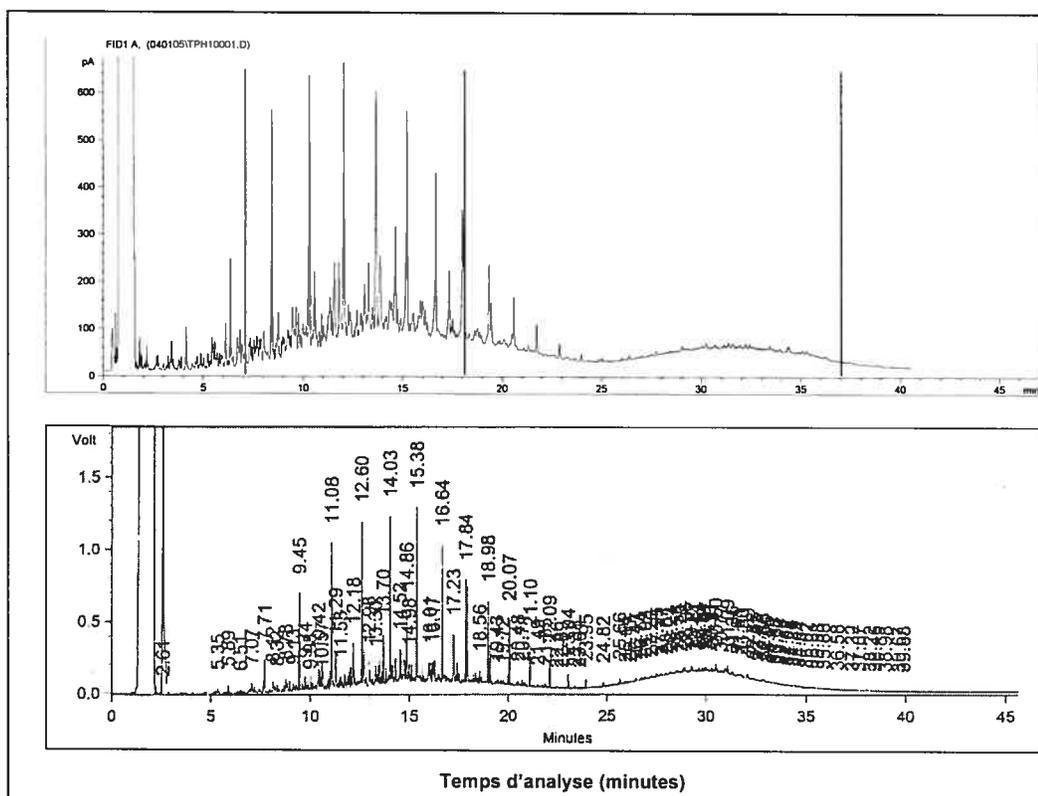


Figure 7 : Chromatogramme du standard de diesel #2 et d'huile minérale 1:1 dans l'hexane obtenu lors de la présente étude (chromatogramme du haut) et celui fourni par la compagnie Restek (chromatogramme du bas)

Le tableau VIII et la figure 8 montrent qu'en moyenne 82 % des HP de l'huile Voltesso sont de nature aliphatique et 18 % des composés sont aromatiques. La majorité des HP aliphatiques ont des longueurs de chaîne comprises entre C₁₆ et C₂₁. Quant aux composés aromatiques, la proportion est plus élevée pour un nombre de carbones entre C₁₂ et C₁₆.

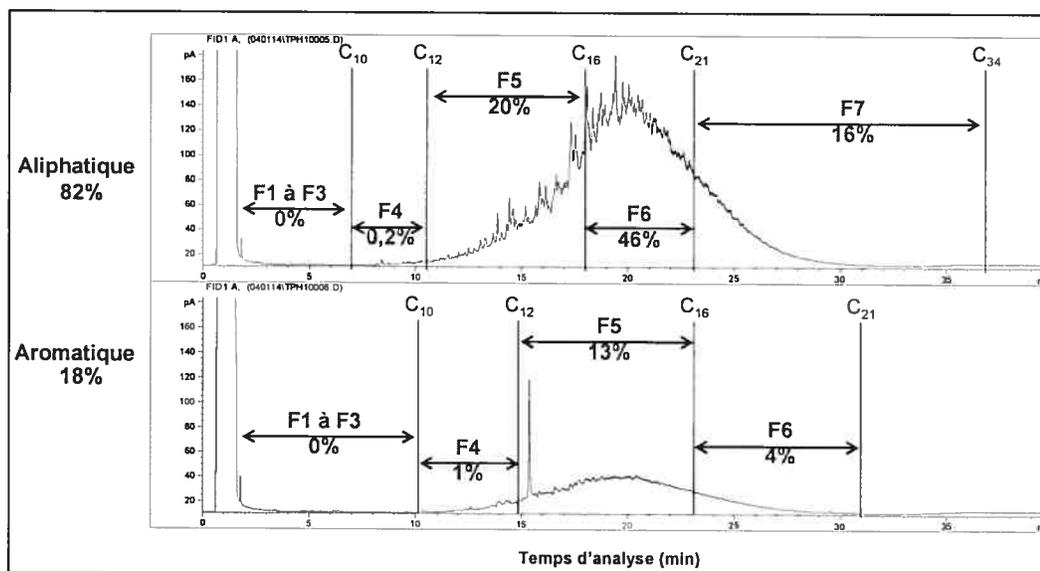


Figure 8 : Chromatogrammes des fractions aliphatique et aromatique retrouvées dans l'huile Voltesso selon la méthode de fractionnement du TPHCWG

Selon la méthode du CCME, plus de 75 % des hydrocarbures comportent un nombre de carbones équivalent supérieur à C_{16} , tandis que les résultats de la méthode du TPHCWG indiquent plutôt une proportion de 66 %. Il faut noter également que plus de 80 % des HP obtenus par cette dernière méthode sont associés à des composés de chaîne aliphatique.

Quant à la quantification des HAP contenus dans l'huile Voltesso, la concentration des différents congénères analysés est présentée au tableau X. Les résultats obtenus lors de l'étude effectuée par l'IREQ en 1995 sur ce type d'huile sont également présentés (Lamarre et Gendron, 1995). Il faut préciser ici que l'analyse effectuée dans le cadre de la présente étude par PSC Services Analytiques et celle effectuée par l'IREQ n'ont pas été réalisées sur la même huile d'origine. Cependant, les résultats obtenus dans les deux études montrent clairement que les HAP représentent moins de 1 % (p/p) de l'échantillon d'huile.

Tel que mentionné précédemment, les HAP n'ont pas été analysés dans le sol et dans les plantes compte tenu des faibles teneurs mesurées dans l'huile Voltesso.

Tableau X : Concentrations d'hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) contenues dans l'huile Voltesso déterminée par GC/MS

Congénère (HAP)	Nombre de carbones	Nombre de cycles	Présente étude ^(a) (mg/kg)	Lamarre et Gendron, 1995 (mg/kg)
Naphtalène	10	2	9,1	n.a.
2-Méthylnaphtalène	11	2	40,0	n.a.
1-Méthylnaphtalène	11	2	31,0	n.a.
1,3-Diméthylnaphtalène	12	2	150,0	n.a.
Acénaphthylène	12	3	<5,0	n.a.
Acénaphthène	12	3	7,3	n.a.
2,3,5-Triméthylnaphtalène	13	2	170,0	n.a.
Fluorène	13	3	<28,0	n.a.
Phénanthrène	14	3	84,0	n.a.
Anthracène	14	3	<5,0	n.a.
Fluoranthène	16	4	<5,0	0,450
Pyrène	16	4	<5,0	2,244
Benzo(c)phénanthrène	18	4	<5,0	0,010
Benzo(a)anthracène	18	4	<5,0	0,021
Chrysène	18	4	<5,0	0,457
1,2-Benzanthracène-7,12-diméthyl	20	4	<5,0	0,039
Benzo(b+k+j)fluoranthène	20	5	<5,0	0,025
Benzo(a)pyrène	20	5	<5,0	n.a.
3-Méthylcholanthrène	21	5	<5,0	0,012
Indeno(1,2,3-cd)pyrène	22	6	<5,0	0,002
Dibenzo(a,h)anthracène	22	5	<5,0	n.a.
Benzo(g,h,i)pérylène	22	6	<5,0	n.a.
Dibenzo(a,l)pyrène	24	6	<5,0	0,037
Dibenzo(a,i)pyrène	24	6	<5,0	0,009
Dibenzo(a,h)pyrène	24	6	<5,0	n.a.
HAP totaux			604	3,306
Proportion dans l'huile Voltesso			0,06%	0,0003%

n.a. : Non analysé.

^(a) Analyse effectuée par les laboratoires PSC Services Analytiques.

Note : - Limite de détection = PSC Services Analytiques (2003) : 0,05 mg/kg ; IREQ (1995) : 0,001 mg/kg.

- Les HAP totaux calculés par la présente étude comprennent les limites de détection des congénères non détectés.

Les métaux présents dans l'huile ont également été quantifiés. Les résultats présentés au tableau XI indiquent que la concentration des éléments analysés est inférieure ou égale à la limite de détection.

Tableau XI : Concentrations en métaux dans l'huile Voltesso déterminée par ICP/AES

Élément	Concentration (mg/kg)
Argent	< 0,1
Aluminium	< 0,1
Cadmium	< 0,1
Cobalt	0,1
Chrome	< 0,1
Cuivre	< 0,1
Fer	< 0,1
Magnésium	< 0,1
Manganèse	< 0,1
Molybdène	< 0,1
Nickel	0,1
Silice	< 0,1
Titane	< 0,1
Vanadium	< 0,1
Zinc	< 0,1

Note : - Analyse effectuée par Pratt & Whitney Canada.
 - Limite de détection = 0,1 ppm.

4.3 Caractérisation des hydrocarbures pétroliers dans la laitue

4.3.1 Pré-expérimentation

4.3.1.1 Niveaux d'exposition

Au total, sept niveaux d'exposition ont été considérés pour la phase pré-expérimentale avec la laitue, soit :

- cinq niveaux d'exposition considérant la vaporisation de 25, 50 (2), 100, 200 et 400 mL d'huile Voltesso suivant un ratio plante : sol de 1 : 1 ;
- un niveau d'exposition de 400 mL d'huile vaporisé directement sur le sol ;
- un niveau d'exposition contrôle (témoin).

La durée maximale de l'exposition correspond au moment où les plantes montraient des signes avancés de détérioration ou de dégénération, soit six jours.

4.3.1.2 Croissance et développement des laitues

Les feuilles ont jauni de plus en plus avec le temps et cet effet était plus marqué pour les échantillons ayant la plus forte exposition. Ces échantillons possèdent même des signes de nécrose des feuilles (points bruns) après quelques jours.

Tel que mentionné précédemment, six jours après l'ajout de l'huile, le vieillissement des laitues a été jugé trop avancé pour poursuivre l'expérimentation (le 3 avril 2003). L'apparence de l'échantillon témoin au cours de cette semaine avait très peu changé (belles feuilles vertes). De plus, les feuilles de l'échantillon « 400 mL sol » sont restées presque intactes, démontrant que le vieillissement prématuré des autres échantillons est provoqué par le contact de l'huile sur les feuilles.

4.3.1.3 Concentration en HP dans les sols

La concentration en HP C₁₀-C₅₀ dans le sol a été évaluée pour les échantillons prélevés dans le haut du pot (0-1 cm), au milieu du pot (5-6 cm) et pour un sol mélangé. Les résultats sont présentés au tableau XII.

Tel que prévu, la concentration d'huile extraite des sols augmente proportionnellement avec la quantité d'huile déversée sur le sol. Les concentrations en HP C₁₀-C₅₀ dans le sol obtenues pour les échantillons contaminés avec moins de 50 mL montrent des valeurs plus élevées à la surface du sol comparativement au sol au milieu du pot, montrant une adsorption rapide de l'huile Voltesso dans les couches superficielles de sol. Cependant, pour les échantillons contaminés avec plus de 100 mL d'huile, les sols au milieu du pot ont une concentration en HP C₁₀-C₅₀ supérieure aux sols à la surface. Ce résultat peut s'expliquer par le fait que le sol en surface devient saturé, ce qui entraîne une migration (percolation) de l'huile vers le bas du pot.

Tableau XII : Concentrations en hydrocarbures pétroliers C₁₀-C₅₀ dans les sols contaminés par différents volumes d'huile Voltesso durant la pré-expérimentation avec la laitue

Échantillon	Volume d'huile Voltesso déversé (mL) ^(a)		Sol de surface (0-1 cm)		Sol au centre du pot (5 à 6 cm)		Sol mélangé	
	0	10	HP C ₁₀ -C ₅₀ (mg /kg poids sec)	Critères du MENV ^(b)	HP C ₁₀ -C ₅₀ (mg /kg poids sec)	Critères du MENV ^(b)	HP C ₁₀ -C ₅₀ (mg /kg poids sec)	Critères du MENV ^(b)
1	0	10	100	< B	80	< B	70	< B
2	10	25	3 000	B-C	90	< B	200	< B
3	25	50 (1)	30 000	> D	100	< B	700	B-C
4	50 (1)	100	6 000	> C	200	< B	60 000	> D
5	50 (2)	200	8 000	> C	5 000	> C	40 000	> D
6	100	400	8 000	> C	7 000	> D	20 000	> D
7	200	800	10 000	> D	40 000	> D	100 000	> D
8	400	1 600	30 000	> D	100 000	> D	200 000	> D
8b	400 (sol)	1 600 (sol)	40 000	> D	200 000	> D	200 000	> D

^(a) : Volume d'huile déversé sur les feuilles et le sol suivant un ratio 1 : 1, sauf pour l'échantillon 8b (déversement sur le sol seulement).

^(b) : Les critères B et C proviennent de la *Politique de protection des sols et de réhabilitation des terrains contaminés du ministère de l'Environnement*. Les critères B et C correspondent également aux critères de l'annexe I et de l'annexe II du *Règlement sur la protection et la réhabilitation des terrains* et ces derniers s'appliquent seulement si le terrain est visé par ce règlement. Les critères D correspondent aux critères de l'annexe 1 du *Règlement sur l'enfouissement des sols contaminés et constituent la limite de contamination au-dessus de laquelle un sol ne peut pas être enfoui*. Les critères établis par le MENV pour les HP C₁₀-C₅₀ sont de 300 à 700 mg/kg de matière sèche pour la plage A-B, de 700 à 3 500 mg/kg de matière sèche pour la plage B-C et de plus de 3 500 mg/kg poids sec pour la plage >C. Le critère D s'élève à 10 000 mg/kg poids sec.

En ce qui concerne la teneur en HP C₁₀-C₅₀ du sol mélangé, les concentrations obtenues indiquent des variations importantes par rapport aux prélèvements effectués en surface et au milieu du pot. Ce résultat suggère qu'une homogénéisation rigoureuse sera nécessaire lors de l'expérimentation afin de s'assurer que toutes les couches soient bien mélangées.

4.3.1.4 Concentration en HP C₁₀-C₅₀ dans la laitue

Les concentrations d'HP C₁₀-C₅₀ mesurées dans les feuilles de laitue selon les différents niveaux d'exposition sont présentées au tableau XIII. Il faut préciser que pour chaque volume d'huile déversé, les analyses ont été réalisées à deux reprises.

D'une manière générale, les concentrations en HP C₁₀-C₅₀ dans les feuilles de laitue ne sont pas directement proportionnelles à la quantité d'huile déversée.

La teneur en HP C₁₀-C₅₀ dans l'échantillon témoin des feuilles de laitue (3 000 mg/kg poids sec) est beaucoup plus élevée que la teneur de l'échantillon témoin du sol (70 mg/kg poids sec). Les concentrations en HP C₁₀-C₅₀ déterminées dans les feuilles de laitue dépendent de la méthode d'application de l'huile, c'est-à-dire du ratio d'huile appliqué sur les feuilles et le sol (25 à 400 mL) versus dans le sol seulement (400 mL). En effet, le niveau de la contamination des feuilles exposées à l'huile déversée sur le sol seulement est de 5 à 12 fois plus faible que celui attribuable à une exposition directe des feuilles, quel que soit le niveau d'exposition (tableau XIII).

Cependant, les concentrations en HP C₁₀-C₅₀ obtenues pour les deux pots contaminés avec la même quantité d'huile (50 mL) sont très différentes l'une de l'autre (environ 600 000 mg/kg versus 200 000 mg/kg). Ce résultat a ainsi montré qu'une attention particulière doit être portée lors de l'expérimentation afin d'uniformiser au maximum la méthode de déversement de l'huile. Par contre, les résultats obtenus pour deux extractions différentes sur le même échantillon

démontrent la bonne reproductibilité de la technique avec des coefficients de variation généralement inférieurs à 10 %.

Tableau XIII : Concentrations en hydrocarbures pétroliers C₁₀-C₅₀ dans les feuilles de laitue contaminées par différents volumes d'huile Voltesso déversés sur le sol et les feuilles durant la phase pré-expérimentale

Échantillon	Volume d'huile Voltesso déversé (mL)	HP C ₁₀ -C ₅₀ (mg /kg poids sec)	Coefficient de variation (%)
1	0 (témoin, bruit de fond)	3 000	6
	Réplikat	3 000	
2	10	350 000	5
	Réplikat	370 000	
3	25	580 000	2
	Réplikat	600 000	
4a	50 (1)	190 000	3
	Réplikat	190 000	
4b	50 (1)	240 000	5
	Réplikat	260 000	
5a	50 (2)	590 000	0,1
	Réplikat	590 000	
5b	50 (2)	230 000	10
	Réplikat	270 000	
6	100	600 000	1
	Réplikat	600 000	
7	200	650 000	1
	Réplikat	660 000	
8	400	620 000	5
	Réplikat	580 000	
8b	400 sol	46 000	6
	Réplikat	43 000	

Note : Les échantillons 4b et 5b ont été lavés à l'eau savonneuse pour fins de comparaison avec les échantillons 4a et 5a respectivement.

Au niveau de l'effet du lavage des feuilles de laitue avec un savon doux, les résultats sont concluants pour un des deux cas testés seulement. En effet, le lavage de l'échantillon 5b a permis de diminuer de plus de 60 % la concentration de l'huile dans les feuilles. Cependant, dans le cas de l'échantillon 4b, le lavage n'a pas permis de mettre en évidence une réduction de la teneur en HP C₁₀-C₅₀ dans les feuilles. Il est possible que les feuilles utilisées pour ce test contenaient initialement une plus grande quantité d'huile.

Finalement, la concentration en HP C₁₀-C₅₀ obtenue pour les feuilles de l'échantillon 400 mL appliquée sur le sol seulement démontre la possibilité d'absorption de l'huile par les racines à la suite d'une exposition de six jours.

Globalement, on obtient une teneur en HP C₁₀-C₅₀ dans l'échantillon témoin plutôt élevée et on observe de grandes différences entre les deux échantillons contaminés avec 50 mL d'huile. Ces résultats laissent penser qu'un biais résultant d'une contamination croisée due à la présence de résidus d'HP dans certains tubes à extraction servant aux manipulations a pu fausser la mesure de la concentration réelle dans la plante.

4.3.2 Expérimentation

4.3.2.1 Niveaux d'exposition

Au total, cinq niveaux ou types d'exposition ont été considérés pour la phase expérimentale, soit :

- deux niveaux d'exposition considérant le déversement de 15 (C⁻) et 40 (C⁺) mL d'huile Voltesso directement sur les feuilles de laitue ;
- deux niveaux d'exposition considérant le déversement de 15 (C⁻) et 40 (C⁺) mL d'huile Voltesso directement sur le sol ;
- et finalement, un groupe contrôle non contaminé (C⁰).

Il faut préciser que toutes les analyses ont été réalisées à deux reprises suivant les trois durées d'exposition : 24 heures (t₁), 5 jours (t₂) et 9 jours (t₃).

La durée maximale de l'exposition correspond au moment où les plantes montraient des signes avancés de détérioration ou de dégénération, soit neuf jours.

4.3.2.2 Croissance et développement des laitues

La croissance et le développement des laitues lors de l'étape expérimentale ont été similaires à ceux observés sur les plantes durant la phase pré-expérimentale. En effet, cinq jours suivant le début de l'expérimentation (t₂), l'apparence

physique des plants de laitue poussant dans les sols contaminés avait très peu changée et était comparable à celle du témoin. Par contre, les laitues où l'huile avait été appliquée directement sur les feuilles avaient un teint jaune et des traces de décomposition étaient visibles à la fin de l'expérimentation ($t_3 = 9$ jours).

La mesure de la capacité photosynthétique par fluorescence a été effectuée sur chacun des plants avant l'échantillonnage (tableau XIV). Pour chacun des échantillons # 1 à 15a, la puce électronique a été installée aux endroits de couleur verte sur les feuilles. Ainsi, les résultats obtenus pour la capacité photosynthétique présentés au tableau XIV montrent qu'il n'y a aucune différence significative ($p > 0,05$) entre les échantillons peu importe le mode de contamination (huile sur le sol ou sur les feuilles), le niveau (C^0 , C^- ou C^+) et la durée d'exposition (t_1 , t_2 et t_3). La valeur moyenne ($n = 30$) pour le rapport F_v/F_m est de 0,79 avec un coefficient de variation de 5 %. Cependant, la mesure de la capacité photosynthétique a également été effectuée en plaçant la puce sur la partie jaunâtre d'une des feuilles de l'échantillon 15 (#15b) pour comparaison. On remarque une diminution significative de F_v/F_m par rapport à la mesure #15a avec une moyenne ($n = 2$) de 0,45. Les mesures de fluorescence ont par conséquent une variabilité élevée pour un même plant et dépendent de l'endroit où la puce est installée comme le démontrent les deux mesures effectuées sur l'échantillon 15.

Tableau XIV : Capacité photosynthétique des feuilles de laitue déterminée par fluorescence

Échantillon	Niveau d'exposition (ml)	Durée d'exposition	Fv/Fm ^(a)	
			Mesure 1	Mesure 2
1	0	24h	0,821	0,814
2	0	5j	0,818	0,803
3	0	9j	0,818	0,805
4	15 (sol)	24h	0,814	0,750
5	15 (sol)	5j	0,787	0,786
6	15 (sol)	9j	0,789	0,801
7	15 (feuille)	24h	0,684	0,699
8	15 (feuille)	5j	0,800	0,801
9	15 (feuille)	9j	0,831	0,836
10	40 (sol)	24h	0,684	0,803
11	40 (sol)	5j	0,780	0,772
12	40 (sol)	9j	0,803	0,813
13	40 (feuille)	24h	0,818	0,795
14	40 (feuille)	5j	0,789	0,777
15a	40 (feuille)	9j	0,811	0,795
15b	40 (feuille)	9j	0,442	0,456

^(a) : Fv est la fluorescence variable
 Fm est la fluorescence maximale
 Fv/Fm est le rendement quantique maximal de la photosynthèse

Note: La mesure pour l'échantillon 15b a été effectuée sur la partie jaunâtre de la feuille pour comparaison.

4.3.2.3 Concentration en HP dans les sols

La quantification des HP contenus dans les sols de laitues a été effectuée pour les HP C₁₀-C₅₀ ainsi que pour les fractions du CCME et TPHCWG. Les résultats obtenus sont présentés au tableau XV.

D'une manière générale, les concentrations en HP C₁₀-C₅₀ de tous les pots contaminés (C⁻ : 15 et C⁺ : 40 mL) excédaient le critère C du MENV quel que soit le média contaminé (sol, feuille) ou la durée d'exposition. Les différents essais (n = 2) montrent des coefficients de variation inférieurs à 30 %.

Par ailleurs, les concentrations en HP C₁₀-C₅₀ extraites des sols augmentent significativement (p < 0,05) avec le niveau de contamination. Cependant, il faut noter que la forte variabilité et le faible effectif ne permettent pas de détecter une différence significative (p > 0,05) avec le temps d'exposition (t₁, t₂, t₃). Ces constatations peuvent être faites à partir de la figure 9 où les moyennes et les

écarts-types des concentrations extraites des sols selon le mode de contamination sont illustrés.

Tel que démontré sur la figure 10, la proportion de la fraction F2 du CCME obtenue dans les sols exposés (C⁻, C⁺) à l'huile Voltesso via les feuilles ou le sol est comparable à celle obtenue pour l'huile Voltesso. En moyenne, la proportion retrouvée pour cette fraction est de 23 % en considérant tous les sols exposés (n = 24).

De plus, des tests statistiques ont été effectués afin d'évaluer la variation des proportions des fractions entre les échantillons. Ces tests ont prouvé qu'il n'y a aucune différence significative entre les proportions des fractions en fonction du niveau ($p > 0,05$) ou de la durée ($p > 0,05$) d'exposition.

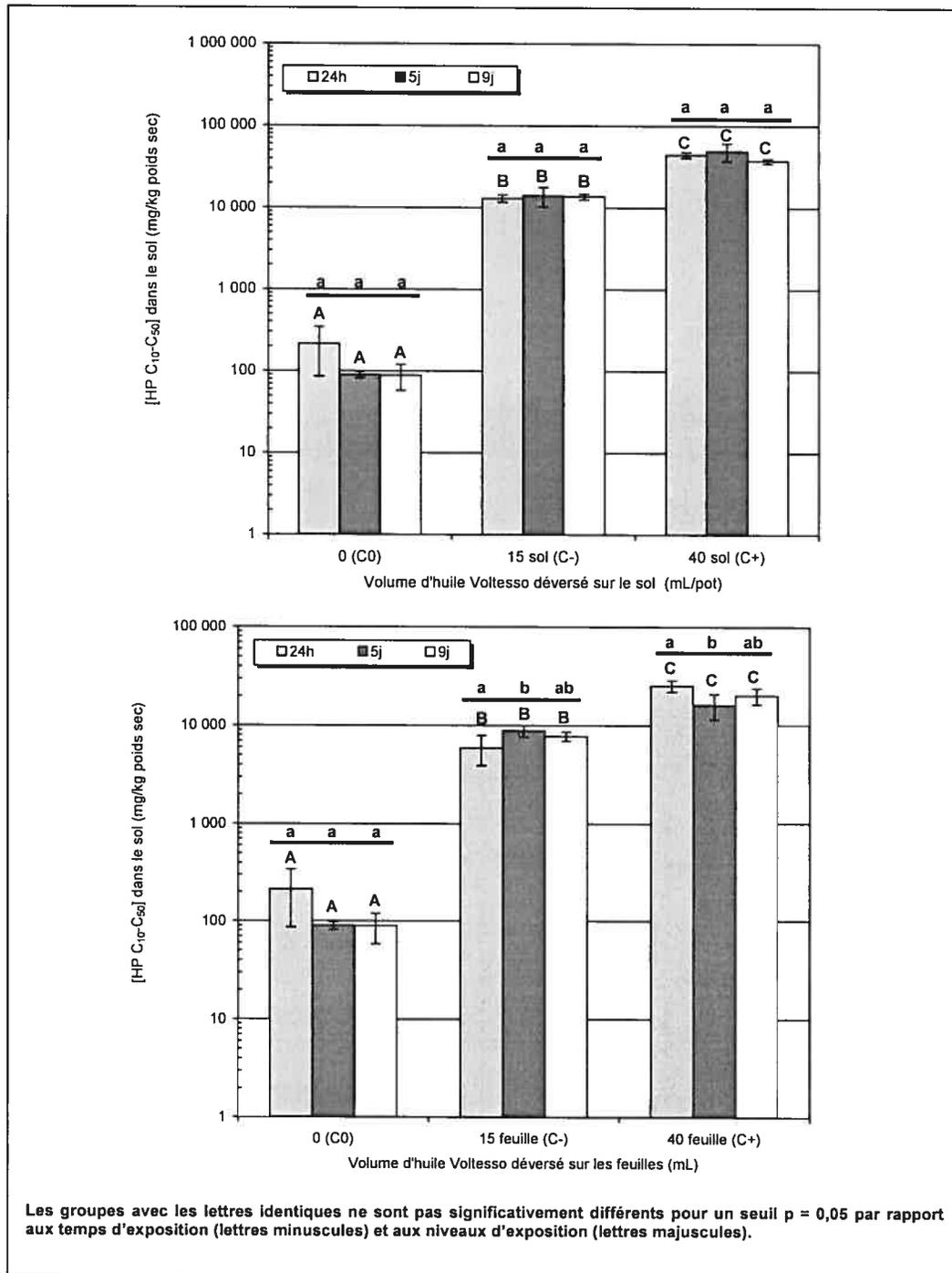


Figure 9 : Variation des concentrations en hydrocarbures pétroliers C₁₀-C₅₀ dans le sol en fonction du niveau d'exposition (volume d'huile déversé sur le sol ou les feuilles) et de la durée d'exposition (t_1 , t_2 , t_3) à l'huile Voltesso durant la phase expérimentale avec la laitue

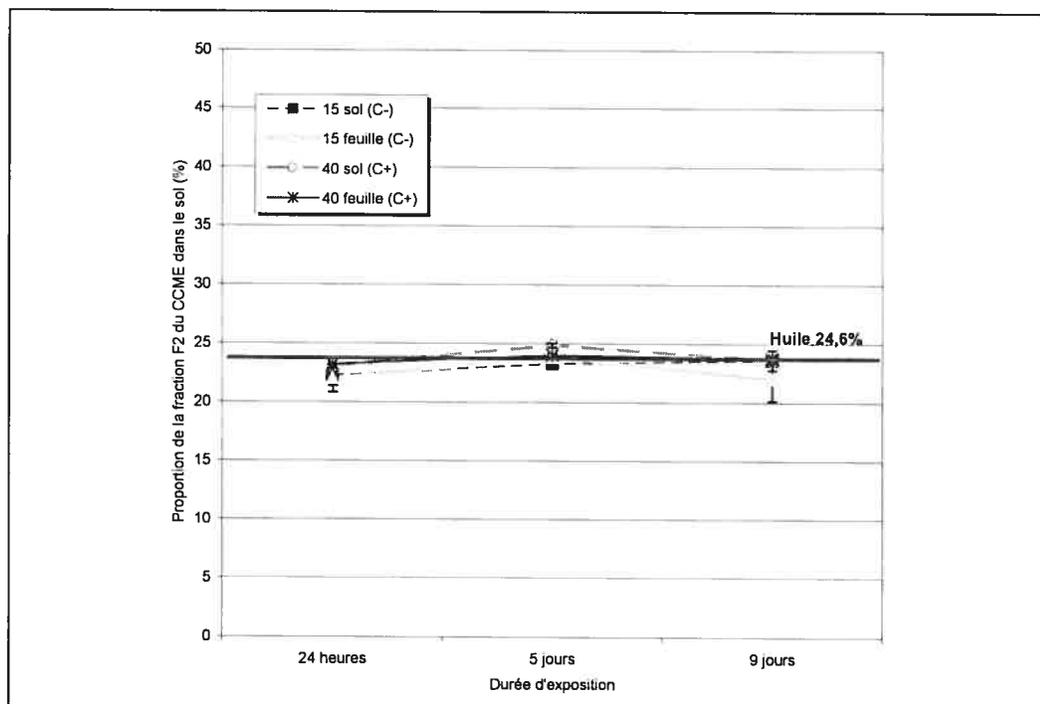


Figure 10 : Variation temporelle de la proportion moyenne de la fraction F2 du CCME retrouvée dans le sol en fonction du niveau d'exposition (volume d'huile déversé sur le sol ou les feuilles) et de la durée d'exposition (t_1 , t_2 , t_3) à l'huile Voltesso durant la phase expérimentale avec la laitue

La caractérisation des HP selon la méthode du TPHCWG a été réalisée uniquement pour les échantillons contaminés au niveau du sol. En effet, l'huile retrouvée dans le sol des échantillons contaminés sur les feuilles provient de l'écoulement de l'huile présente sur les feuilles. Les mesures réalisées seraient par conséquent très variables et possiblement biaisées.

Les résultats obtenus à la suite du fractionnement du TPHCWG des échantillons contaminés au niveau du sol montrent que la principale différence observée comparativement aux proportions retrouvées dans l'huile se trouve au niveau de la fraction aliphatique associée au C_{16} - C_{21} . De fait, la proportion moyenne ($n = 6$) de la fraction aliphatique de cet intervalle (54 %) est plus élevée par rapport à celle normalement retrouvée dans l'huile (46 %). De plus, la proportion des

fractions aliphatiques C_{16} - C_{21} varie significativement ($p = 0,02$) en fonction du niveau d'exposition (tableau XV).

Quoi qu'il en soit, tel que démontré sur la figure 11, la proportion des composés aliphatiques totale déterminée dans les extraits de sol est plus élevée que celle retrouvée dans l'huile (82 %) pour tous les niveaux (C^- , C^+) et les durées d'exposition (t_1 , t_2 et t_3).

En combinant les fractions aliphatique et aromatique obtenues selon la méthode du TPHCWG, 74 % des hydrocarbures extraits des échantillons de sol ont une longueur de chaîne supérieure à 16 carbones comparativement à 77 % selon le CCME. Ces valeurs se rapprochent de la proportion moyenne ($n = 3$) contenue dans l'huile (76 %).

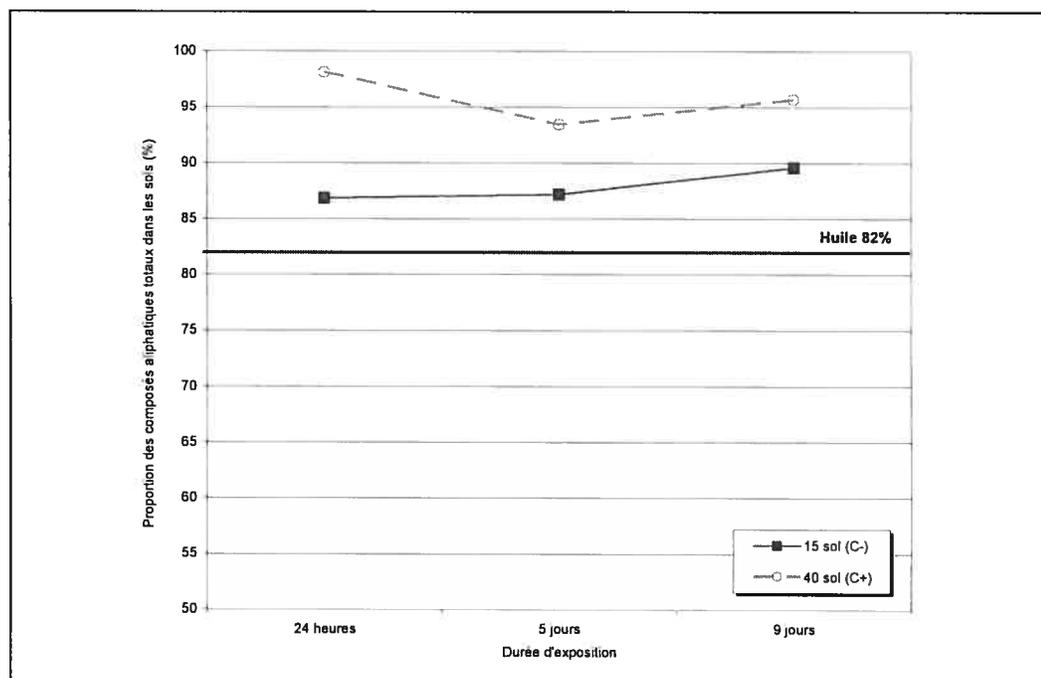


Figure 11 : Variation temporelle de la proportion de la fraction aliphatique totale (TPHCWG) retrouvée dans le sol en fonction du niveau d'exposition (volume d'huile déversé sur le sol) et de la durée d'exposition (t_1 , t_2 , t_3) à l'huile Voltesso durant la phase expérimentale avec la laitue

4.3.2.4 Concentration en HP dans la laitue

La quantification des HP contenus dans les feuilles de laitue a été effectuée pour les HP C₁₀-C₅₀ ainsi que pour les fractions du CCME et TPHCWG. Les résultats obtenus sont présentés au tableau XVI.

D'une manière générale, la concentration moyenne d'HP C₁₀-C₅₀ dans les tissus augmente significativement ($p < 0,05$) en fonction de la quantité d'huile déversée sur les feuilles ou dans le sol. Par contre, les teneurs diminuent significativement ($p < 0,05$) en fonction du temps pour les niveaux C⁻ et C⁺ dans le cas des feuilles exposées directement à l'huile. Cette diminution observée avec la durée d'exposition peut être causée par la volatilisation, le métabolisme ou la diminution de l'efficacité de l'huile Voltesso causée par l'absorption de ses composés par les tissus. En ce qui concerne les échantillons exposés directement sur le sol, il existe une différence significative ($p < 0,05$) pour la quantité d'HP extraite des échantillons exposés au plus grand volume d'huile (40 mL). Les deux extractions effectuées sur l'échantillon 27 n° 1 donnent des concentrations apparemment trop élevées (tableau XVI) en raison possiblement d'une contamination croisée avec un autre échantillon. Cet échantillon n'a donc pas été pris en considération pour les tests statistiques. Les moyennes et les écart-types des extractions selon le média d'exposition sont présentés à la figure 12.

La caractérisation des HP extraits des échantillons contaminés au niveau du sol selon la méthode du CCME a montré une diminution de la proportion des HP associés à la fraction F2 (C₁₀-C₁₆) comparativement à l'huile. Telle que présentée sur la figure 13, cette diminution a été observée pour tous les échantillons avec le niveau de contamination le plus élevé (C⁺ = 40 mL) et pour les échantillons exposés 24 heures au niveau de contamination faible (C⁻). Par ailleurs, il n'existe aucune différence significative ($p < 0,05$) entre la proportion moyenne des fractions de chaque échantillon contaminé sur le sol en fonction du niveau d'exposition (C⁻ et C⁺).

Tableau XVI : Concentrations en hydrocarbures pétroliers (C₁₀-C₅₀, fractions CCME et TPHCWG) dans les feuilles de laitue en fonction du niveau d'exposition (volume d'huile déversé sur les feuilles ou le sol) et de la durée d'exposition (t₁, t₂, t₃) à l'huile Voltesso durant la phase expérimentale

Niveau d'exposition (mL)	Durée d'exposition		Répétition	HP C ₁₀ -C ₅₀ Moyenne (mg/kg poids sec)	CV (%)	Fractions CCME (%)			Fractions TPHCWG aliphatiques (%)				Fractions TPHCWG aromatiques (%)				Fraction aromatique totale (%)	Fraction F2 du CCME obtenu par le TPHCWG (%)	Fraction F3 du CCME obtenu par le TPHCWG (%)
	t ₁	t ₂				F2 C ₁₀ -C ₁₄	F3 C ₁₅ -C ₂₈	F4 C ₉ -C ₁₄	F5 C ₁₅ -C ₁₈	F6 C ₁₉ -C ₂₁	F7 C ₂₃ -C ₂₄	F4 C ₉ -C ₁₄	F5 C ₁₅ -C ₁₈	F6 C ₁₉ -C ₂₁	F7 C ₂₃ -C ₂₄				
16 C ^b	0	24 heures	1	200	86	23	77	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		5 jours	2			43	81	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17 C ^b	0	5 jours	1	300	39	28	72	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		9 jours	2			80	77	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18 C ^b	0	9 jours	1	80	18	33	87	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		24 heures	2			92	74	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
19 C	15 (sol)	24 heures	1	560	12	11	86	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		5 jours	2			1 300	13	17	83	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20 C	15 (sol)	5 jours	1	1 100	18	24	76	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		9 jours	2			300	77	24	76	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21 C	15 (sol)	9 jours	1	200	66	26	74	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		24 heures	2			300	57	23	77	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22 C	15 (feuille)	24 heures	1	430 000	0,1	20	80	n.d.	24	56	15	15	0,2	4	1	n.d.	95	5	
		5 jours	2			330 000	2	20	80	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23 C	15 (feuille)	5 jours	1	210 000	3	16	64	n.d.	19	56	15	15	0,3	7	3	n.d.	89	11	
		9 jours	2			220 000	5	15	65	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24 C	15 (feuille)	9 jours	1	200 000	4	13	87	n.d.	18	57	16	16	0,1	6	3	n.d.	91	9	
		24 heures	2			240 000	6	12	86	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25 C	40 (sol)	24 heures	1	2 100	32	19	81	2,2	35	44	18	18	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	-	-	
		5 jours	2			1 000	43	18	82	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
26 C	40 (sol)	5 jours	1	700	32	24	76	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		9 jours	2			1 000	23	17	83	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
27 C	40 (sol)	9 jours	1	5 000	19	18	82	0,6	34	45	13	13	0,4	5	2	n.d.	92	7	
		24 heures	2			570	1	19	81	n.d.	30	52	18	18	n.d.	n.d.	n.d.	-	-
28 C	40 (feuille)	24 heures	1	750 000	6	20	80	n.d.	23	51	14	14	0,4	9	2	n.d.	88	12	
		5 jours	2			610 000	10	19	81	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
29 C	40 (feuille)	5 jours	1	560 000	5	14	86	n.d.	25	54	14	14	0,2	6	2	n.d.	93	7	
		9 jours	2			710 000	14	14	86	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30 C	40 (feuille)	9 jours	1	380 000	3	12	86	n.d.	23	56	15	15	0,1	4	2	n.d.	94	6	
		24 heures	2			460 000	10	12	88	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

n.d. : non détecté ; : non considéré (possiblement contaminé)

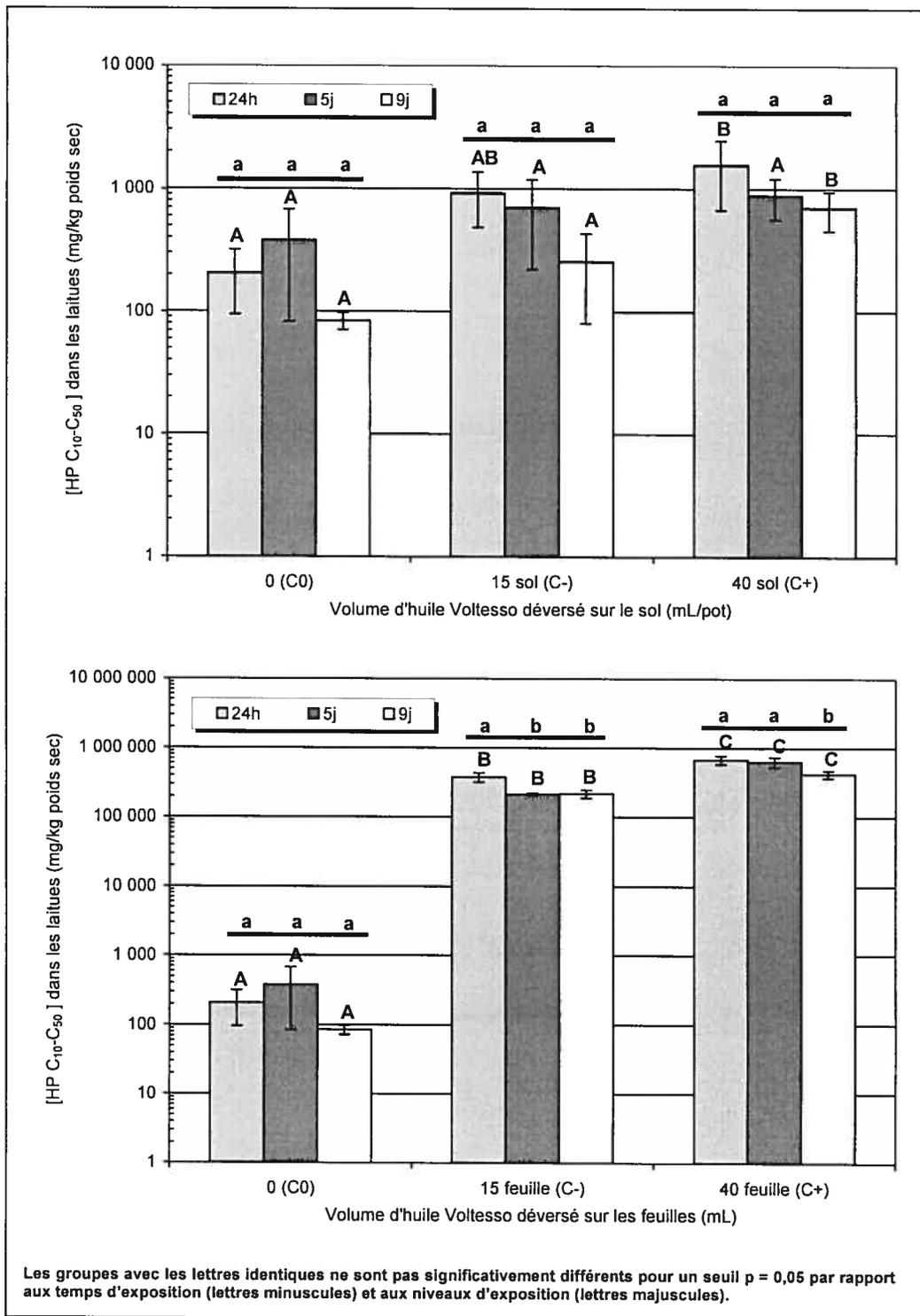


Figure 12 : Variation des concentrations en hydrocarbures pétroliers C₁₀-C₅₀ extraites des feuilles de laitue en fonction du niveau d'exposition (volume d'huile déversé sur le sol ou les feuilles) et de la durée d'exposition (t_1 , t_2 , t_3) à l'huile Voltesso durant la phase expérimentale

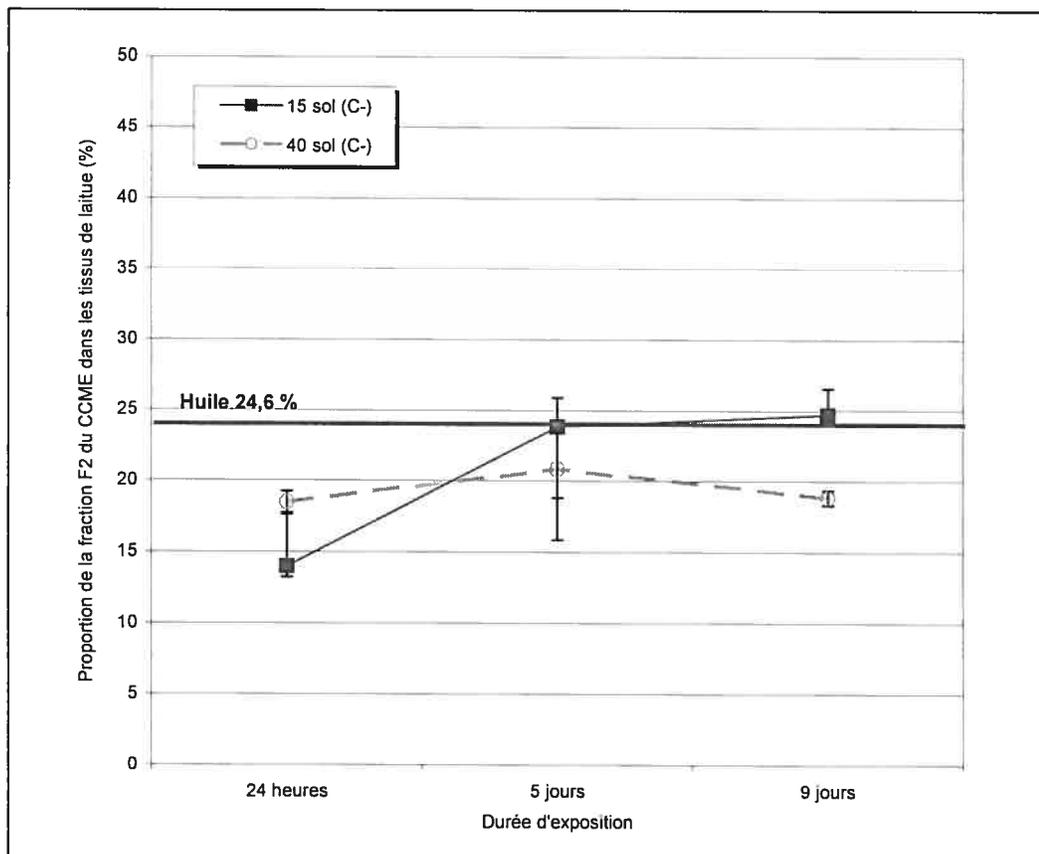


Figure 13 : Variation temporelle de la proportion moyenne de la fraction F2 du CCME retrouvée dans les feuilles de laitue en fonction du niveau d'exposition (volume d'huile déversé au niveau du sol seulement) et de la durée d'exposition (t_1 , t_2 , t_3) à l'huile Voltesso durant la phase expérimentale

En ce qui concerne les échantillons contaminés directement sur les feuilles, la figure 14 indique que la proportion de la fraction F2 du CCME est nettement inférieure à celle retrouvée dans l'huile et que cette proportion diminue significativement avec la durée d'exposition (t_1 , t_2 et t_3). Cette tendance est remarquée pour les deux niveaux d'exposition (C^- et C^+) et pourrait être due à la volatilisation de ces composés qui sont plus volatils et exposés à l'air ambiant sur les feuilles. D'ailleurs, les tests statistiques prouvent que les proportions de la fraction 2 du CCME, et donc par le fait même celle de la fraction 3, varient significativement en fonction du niveau ($p = 0,005$) et de la durée d'exposition ($p = 0,0001$).

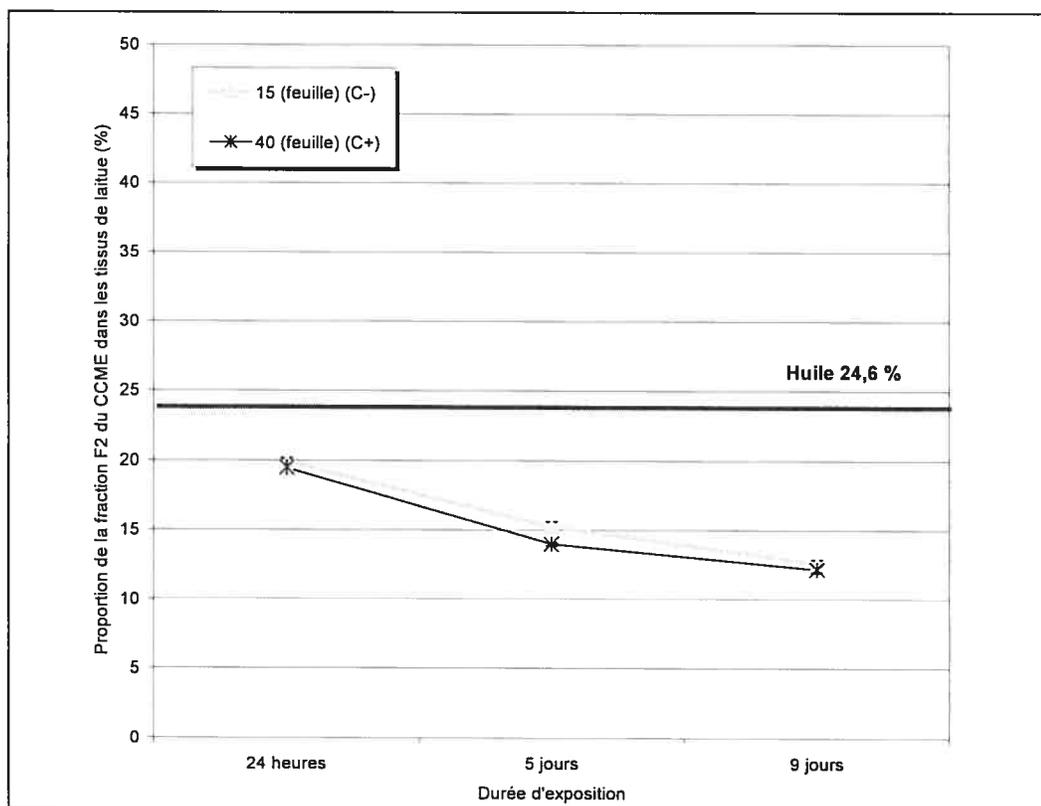


Figure 14 : Variation temporelle de la proportion moyenne de la fraction F2 du CCME retrouvée dans les feuilles de laitue en fonction du niveau d'exposition (volume d'huile déversé au niveau des feuilles seulement) et de la durée d'exposition (t_1 , t_2 , t_3) à l'huile Voltesso durant la phase expérimentale

Pour la méthode du TPHCWG, la fraction aromatique d'un seul des échantillons contaminés au niveau du sol a pu être quantifiée, les autres échantillons n'étant pas assez concentrés pour être détectés. Cependant, cet échantillon n'est pas considéré comme étant représentatif puisqu'il semble avoir été contaminé (échantillon 27 n° 1).

Quant à la caractérisation des HP des échantillons contaminés sur les feuilles, on n'observe aucun changement significatif ($p > 0,05$) pour les proportions des fractions aliphatiques et aromatiques peu importe la durée (t_1 , t_2 et t_3) et le niveau de contamination (C^- et C^+). Par contre, la proportion moyenne ($n = 6$) des composés aliphatiques (92 %) est plus élevée par rapport à celle de l'huile

(82 %). Cette augmentation peut être expliquée par une adsorption plus élevée des composés aromatiques sur la membrane des feuilles.

En comparant les différentes méthodes de fractionnement (CCME vs TPHCWG) pour des nombres de carbones équivalents aux fractions F2 et F3 du CCME, on remarque que la proportion moyenne déterminée par la méthodologie du TPHCWG (30/70) se rapproche de celle obtenue pour l'huile (25/75). Cependant, les résultats obtenus par la méthode du CCME (18/82) semblent indiquer une diminution de la proportion de la fraction 2, tous échantillons confondus.

L'effet du lavage a également été comparé sur les échantillons vaporisés au niveau du feuillage à 24 heures (t_1) et 9 jours (t_3) d'exposition en lavant la moitié des plants avec un savon doux (tableau XVII). L'utilisation d'un savon doux a permis de diminuer la concentration en HP C_{10} - C_{50} d'environ 40 % pour les échantillons où 15 mL (C^-) avait été vaporisés. Cependant, l'expérience est moins concluante pour les échantillons 40 mL (C^+) pour lesquels il a été possible d'enlever 16 % des HP à 24 heures. Pour l'échantillon à 9 jours, le savon n'a pas permis de diminuer la concentration d'HP C_{10} - C_{50} . On peut donc poser l'hypothèse que le lavage au savon doux est plus efficace pour les échantillons les moins concentrés. Avec le temps, l'huile serait absorbée par les feuilles ; le lavage ne permettant plus de diminuer la quantité d'HP C_{10} - C_{50} intégrée dans les tissus.

Tableau XVII : Concentrations en hydrocarbures pétroliers C_{10} - C_{50} extraits des feuilles de laitue avant et après lavage avec un savon doux durant la phase expérimentale

Niveau d'exposition	Durée d'exposition	Avant lavage n = 2		Après lavage n = 2		Variation relative de la concentration dans les tissus avant et après lavage (%)
		Moyenne	CV (%)	Moyenne	CV (%)	
		(mg/kg poids sec)		(mg/kg poids sec)		
C-: 15 ml (feuille)	24h	430 000	1	250 000	8	41,6
	9j	200 000	4	130 000	2	33,2
C+: 40 ml (feuille)	24h	750 000	8	630 000	3	16,0
	9j	300 000	3	430 000	7	-43,3

Les figures 15 et 16 présentent la quantité d'HP C₁₀-C₅₀ extraite des feuilles de laitue en fonction des HP C₁₀-C₅₀ extraits du sol selon le média d'exposition. Pour les échantillons contaminés au niveau du sol (figure 15), la tendance observée à 24 heures (t₁) et 9 jours (t₃) d'exposition indique que l'accumulation d'HP par les feuilles augmente avec la quantité d'huile retrouvée dans le sol ($p < 0,05$). La relation est donc linéaire à 24 heures et 9 jours d'exposition et explique près de 47 et 69 % respectivement de la variabilité totale du modèle. Cette tendance est cependant moins marquée à 5 jours d'exposition (t₂), où la quantité d'huile extraite des feuilles augmente très peu malgré la concentration plus élevée dans le sol. De plus, la figure 15 montre que la moyenne des HP C₁₀-C₅₀ extraits des tissus de laitue diminue avec la durée d'exposition. Il est à noter que les résultats de l'échantillon 27 n° 1 (tableau XVI) ne sont pas présentés sur le graphique. En effet, cet échantillon semble avoir été contaminé étant donné les concentrations élevées extraites des tissus.

La figure 16 montre que la relation est significative ($p < 0,05$) pour toutes les durées d'exposition avec des coefficients de détermination de 0,798, 0,671 et 0,943 pour 1, 5 et 9 jours respectivement. Ainsi, la quantité d'HP extraite des feuilles des échantillons contaminés sur les feuilles augmente proportionnellement avec le niveau d'exposition. Par ailleurs, la moyenne des concentrations extraites des feuilles de laitue diminue avec la durée d'exposition. Il est à noter que ce graphique ne représente pas le potentiel de bioconcentration puisque l'absorption relative des HP par le sol ou directement par les feuilles ne peut être estimée puisque les deux phénomènes coexistent dans le cas présent.

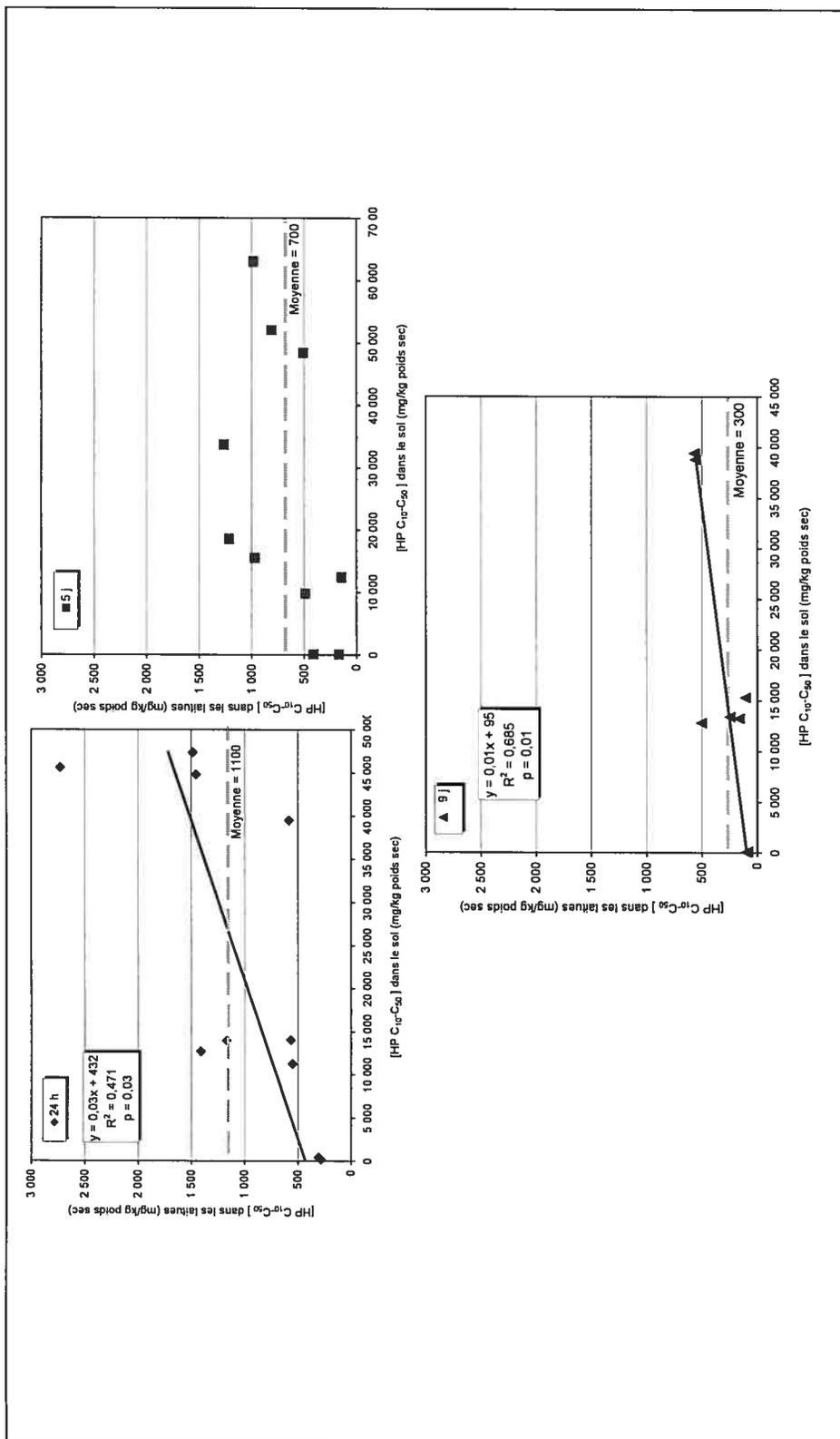


Figure 15 : Relation entre la concentration en hydrocarbures pétroliers C_{10-C₅₀} extraite des feuilles de laitue et la concentration en hydrocarbures pétroliers C_{10-C₅₀} retrouvée dans le sol en fonction de la durée d'exposition à l'huile Voltesso déversée sur le sol durant la phase expérimentale

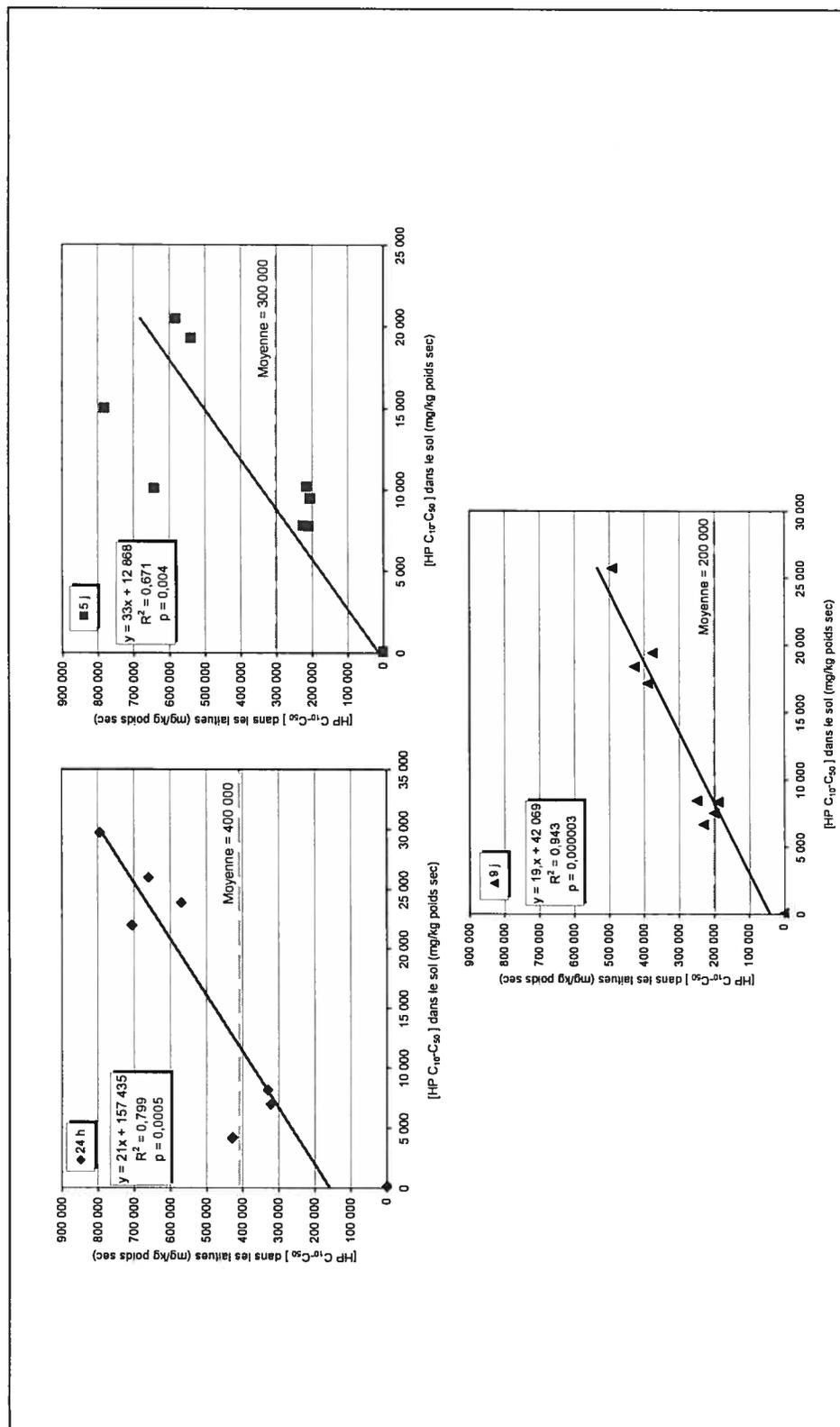


Figure 16 : Relation entre la concentration en hydrocarbures pétroliers C₁₀-C₅₀ extraite des feuilles de laitue et la concentration en hydrocarbures pétroliers C₁₀-C₅₀ retrouvée dans le sol en fonction de la durée d'exposition à l'huile Voltesso déversée sur les feuilles durant la phase expérimentale

4.3.2.5 *Évaluation du facteur de bioconcentration de l'huile Voltesso par la laitue*

Le FBC a été calculé à partir du ratio de la concentration en HP C₁₀-C₅₀ retrouvée dans les feuilles de laitue (poids sec) et la concentration en HP C₁₀-C₅₀ mesurée dans le sol (poids sec). Les deux concentrations sont exprimées en mg/kg sur une base sèche, le FBC est donc sans unité. Puisque les HP présents sur les échantillons contaminés sur les feuilles n'ont pas été accumulés par la plante à partir du sol, les FBC de la laitue ont été calculés uniquement pour les échantillons contaminés au niveau du sol.

La figure 17 présente les facteurs de bioconcentration obtenus en fonction du volume d'huile déversé sur le sol selon les différents temps d'exposition. Encore une fois, les résultats de l'échantillon 27 n° 1 n'y sont pas présentés. Pour une même durée d'exposition, les FBC moyens calculés pour les niveaux C⁻ et C⁺ sont similaires ($p > 0,05$), c'est-à-dire que la concentration en HP dans les feuilles de laitue augmente proportionnellement avec le niveau de contamination ou la concentration de HP dans le sol. Ainsi, l'accumulation de l'huile par la laitue n'a pas atteint de plateau ou ne se stabilise pas dans les conditions utilisées.

Par contre, la figure 17 semble indiquer une diminution des FBC avec la durée d'exposition pour les deux niveaux d'exposition; les FBC moyens de la laitue étant de 0,04, 0,02 et 0,01 pour 24 heures, 5 jours et 9 jours d'exposition respectivement (t_1 , t_2 et t_3). Cependant, la variabilité intragroupe ainsi que le faible effectif ne permettent pas de conclure que cette diminution temporelle est significative ($p > 0,05$).

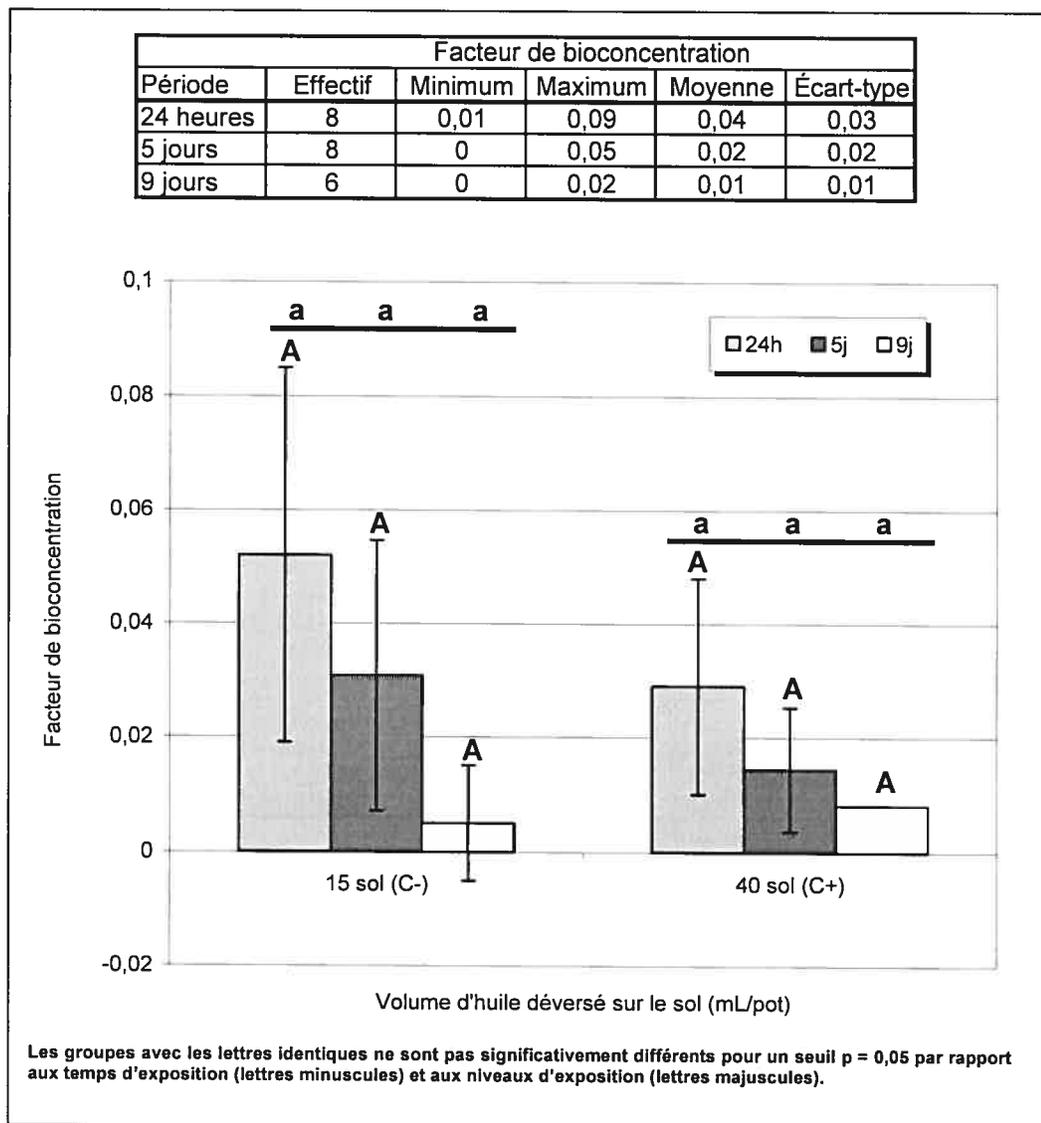


Figure 17 : Facteurs de bioconcentration calculés pour la laitue en fonction du niveau d'exposition (volume d'huile déversé sur le sol seulement) et de la durée d'exposition (t_1 , t_2 , t_3) à l'huile Voltesso durant la phase expérimentale

4.4 Caractérisation des hydrocarbures pétroliers dans la carotte

4.4.1 Pré-expérimentation

4.4.1.1 Viabilité et évolution temporelle des carottes

Au total, six niveaux d'exposition ont été considérés pour la phase pré-expérimentale, soit :

- cinq niveaux d'exposition considérant le déversement de 7, 16, 24, 36 et 50 mL d'huile Voltesso directement sur le sol contenant les carottes ;
- et un groupe contrôle (témoin) non contaminé.

Il faut préciser que toutes les analyses ont été réalisées à deux reprises à la suite d'une durée d'exposition maximale de 17 jours. Cette période d'exposition correspond au moment où les plantes montraient des signes de détérioration ou de dégénération.

4.4.1.2 Viabilité et évolution temporelle des plants de carotte

Une observation visuelle des plants de carotte a permis de noter que l'apparence des feuilles avait très peu changée pendant les premiers 17 jours d'exposition, mis à part le jaunissement de quelques feuilles qui ne semblait pas être causé par l'ajout d'huile. De fait, l'état du feuillage de l'échantillon témoin était comparable à celui de l'échantillon 25 mL même 17 jours suivant la contamination. Cependant, les échantillons les plus contaminés (36 et 50 mL) montraient des traces de décomposition dans le haut de la carotte, près des feuilles, après cette période.

4.4.1.3 Concentration en HP dans les sols

Les concentrations en HP C₁₀-C₅₀ obtenues dans le sol à la suite du déversement d'huile Voltesso sur les carottes sont présentées au tableau XVIII.

Les deux échantillons de sol prélevés par niveau de contamination démontrent une reproductibilité satisfaisante résultant d'une bonne homogénéisation des sols. Les concentrations en HP C₁₀-C₅₀ obtenues pour l'échantillon témoin sont attribuables au contenu élevé en MOT dans le sol.

L'ajout de 7 mL d'huile a permis d'atteindre un niveau de contamination en HP C₁₀-C₅₀ se trouvant dans la plage B-C des critères de la Politique du MENV. Pour cet intervalle (700 à 3 500 mg/kg), la concentration en HP C₁₀-C₅₀ mesurée pour l'échantillon témoin et associée au bruit de fond représente un peu plus de 10 % de la teneur totale de l'échantillon. Pour les échantillons au-delà du critère C de la Politique du MENV (16, 24, 36 et 50 mL), le bruit de fond représente moins de 10 % de la concentration en HP C₁₀-C₅₀ de l'échantillon. Le tableau XVIII présente également la concentration en HP C₁₀-C₅₀ attribuable à l'huile ajoutée, c'est-à-dire que la concentration moyenne d'HP C₁₀-C₅₀ dans les sols témoins (bruit de fond = 370 mg/kg) a été soustraite de la concentration totale mesurée dans les échantillons contaminés.

Tableau XVIII : Concentrations en hydrocarbures pétroliers C₁₀-C₅₀ dans les sols contaminés par différents volumes d'huile Voltesso durant la phase pré-expérimentale avec la carotte (racine)

Échantillon	Volume d'huile Voltesso déversé (mL)	HP C ₁₀ -C ₅₀ (mg/kg poids sec)	Coefficient de variation (%)	Critères du MENV ^(a)
1	0 (témoin, bruit de fond)	390	11	A
		350		
2	7	2 000	67	B-C
		4 000		
3	16	4 400	2	> C
		4 500		
4	24	13 000	48	> C
		8 000		
5	36	10 000	10	> D
		11 000		
6	50	17 000	19	> D
		14 000		

^(a) : Les critères B et C proviennent de la *Politique de protection des sols et de réhabilitation des terrains contaminés* du ministère de l'Environnement. Les critères B et C correspondent également aux critères de l'annexe I et de l'annexe II du *Règlement sur la protection et la réhabilitation des terrains* et ces derniers s'appliquent seulement si le terrain est visé par ce règlement. Les critères D correspondent aux critères de l'annexe 1 du *Règlement sur l'enfouissement des sols contaminés* et constituent la limite de contamination au-dessus de laquelle un sol ne peut pas être enfoui. Les critères établis par le MENV pour les HP C₁₀-C₅₀ sont de 300 à 700 mg/kg de matière sèche pour la plage A-B, de 700 à 3 500 mg/kg de matière sèche pour la plage B-C et de plus de 3 500 mg/kg poids sec pour la plage >C. Le critère D s'élève à 10 000 mg/kg poids sec.

4.4.1.4 Concentration en HP dans la carotte

Le tableau XIX présente les concentrations d'HP C₁₀-C₅₀ obtenues dans les carottes 17 jours après le déversement d'huile Voltesso. La technique d'extraction de l'huile des carottes (racine) a préalablement été optimisée et le recouvrement est au-delà de 95 %. La teneur en HP C₁₀-C₅₀ dans l'échantillon témoin des carottes (3 000 mg/kg poids sec) est beaucoup plus élevée que la teneur de l'échantillon témoin du sol (390 et 350 mg/kg poids sec). On remarque que la teneur en HP C₁₀-C₅₀ des carottes (racine) augmente jusqu'à un volume d'huile déversé de 36 mL. La contamination en HP C₁₀-C₅₀ observée pour l'échantillon de 36 mL est semblable à la contamination en place pour l'échantillon de 50 mL.

Ceci pourrait s'expliquer par une distribution non homogène de l'huile dans le pot de terre. Il est également possible que la carotte atteigne un niveau de saturation à une concentration donnée.

Tableau XIX : Concentrations en hydrocarbures pétroliers C₁₀-C₅₀ dans les racines de carotte en fonction du niveau d'exposition (volume d'huile déversé sur le sol) 17 jours après le début de la pré-expérimentation

Échantillon	Volume d'huile Voltesso déversé (mL) ^(a)	HP C ₁₀ -C ₅₀ (mg/kg poids sec)
1	0 (témoin, bruit de fond)	3 000
2	7	3 400
3	16	4 000
4	24	7 500
5a	36	17 000
5b	36	26 000
6a	50	16 000
6b	50	11 000

^(a) : Les échantillons 5b et 6b ont été pelés avant l'extraction pour fins de comparaison avec les échantillons 5a et 6a respectivement.

Le fait d'éplucher une des carottes de l'échantillon 50 mL a permis de diminuer la quantité d'huile d'environ 30 %. Cependant, ce résultat ne permet pas d'affirmer que l'huile absorbée se retrouve principalement sur la pelure de la carotte puisque l'échantillon 36 mL pelé contient une concentration en HP C₁₀-C₅₀ supérieure aux carottes non pelées.

Tel que le démontre la figure 18, la concentration en HP C₁₀-C₅₀ mesurée dans les carottes augmente avec la concentration mesurée et au volume déversé sur le sol. La valeur de la probabilité p obtenue inférieure à 5% indique que la régression linéaire semble être un modèle adéquat.

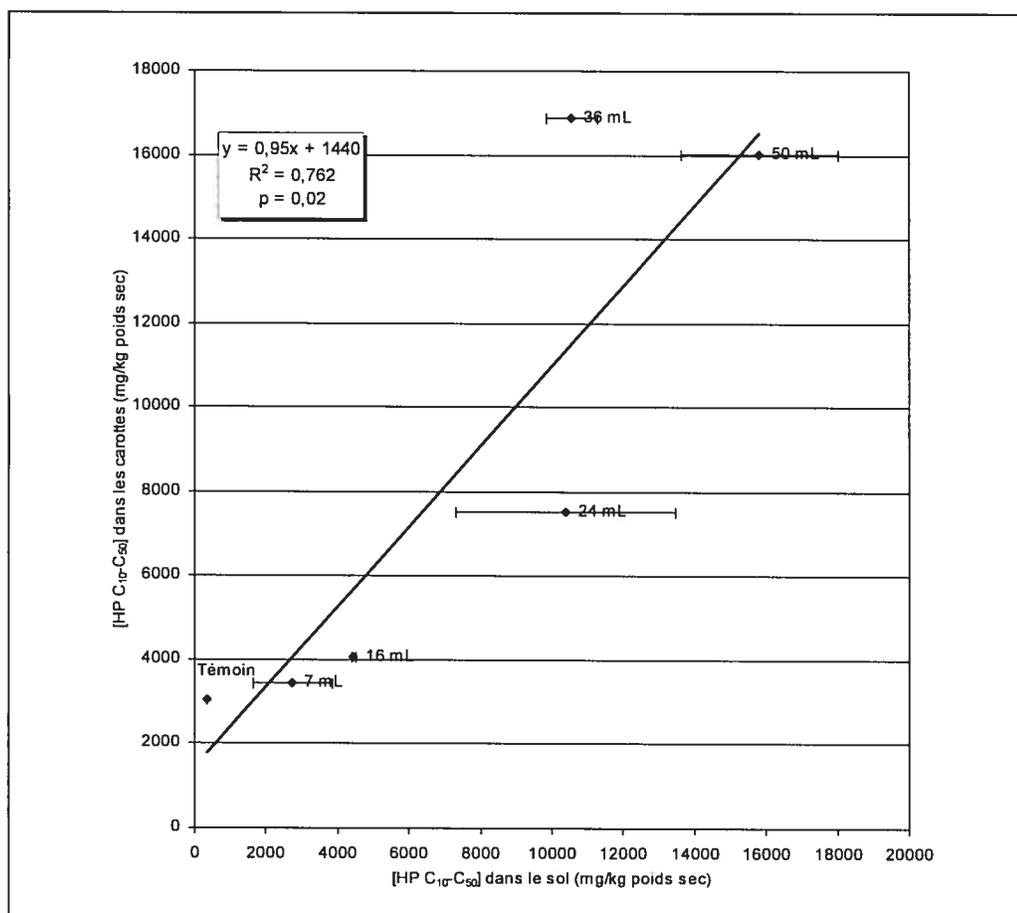


Figure 18 : Variation des concentrations en hydrocarbures pétroliers C₁₀-C₅₀ extraites des carottes (racine) en fonction de la concentration en hydrocarbures pétroliers C₁₀-C₅₀ retrouvée dans le sol et du niveau d'exposition (volume d'huile Voltesso déversé sur le sol) durant la phase pré-expérimentale

Globalement, on obtient une teneur en HP C₁₀-C₅₀ dans l'échantillon témoin plutôt élevée et on obtient une augmentation de concentrations en HP C₁₀-C₅₀ entre un échantillon de carotte pelé (5b) et un non pelé (4b). Ces observations permettent de croire que certaines observations de la pré-expérimentation sont attribuables en partie à une contamination croisée, due à la présence de résidus d'HP dans certains tubes à extraction servant aux manipulations, tel qu'observé pour un échantillon de laitue.

4.4.2 Expérimentation

4.4.2.1 Niveaux d'exposition

Au total, cinq niveaux d'exposition ont été considérés pour la phase expérimentale, soit :

- quatre niveaux d'exposition considérant le déversement de 10 (C⁻), 18 (C⁻), 25 (C⁺), 32 mL (C⁺) d'huile Voltesso directement sur le sol contenant les carottes ;
- et un groupe contrôle (témoin) non contaminé (C⁰).

Il faut préciser que toutes les analyses ont été réalisées en double suivant trois durées d'exposition : 24 heures (t₁), 7 jours (t₂) et 21 jours (t₃).

4.4.2.2 Viabilité et évolution temporelle des plants de carotte

Tel qu'observé dans l'étape pré-expérimentale, l'apparence physique des plants de carotte contaminés avec la quantité la plus élevée d'huile était comparable à celle du témoin, à tous les temps d'exposition. La seule différence physique remarquable était la taille plus importante des carottes échantillonnées à la fin de l'expérimentation, soit après 21 jours d'exposition.

4.4.2.3 Concentration en HP dans les sols

Les résultats des concentrations en HP C₁₀-C₅₀ et pour les fractions du CCME et du TPHCWG pour les sols sont présentés au tableau XX. Les échantillons 4, 5 et 6 (C⁻) se trouvent dans la plage B-C des critères de la Politique du MENV (700 à 3 500 mg/kg) tandis que les échantillons 7 à 15 (C⁻ et C⁺) ont une concentration en HP C₁₀-C₅₀ au-delà du critère C de la Politique du MENV. Tel qu'attendu, les concentrations en HP C₁₀-C₅₀ sont directement proportionnelles à la quantité d'huile ajoutée. De plus, les différents essais montrent une bonne reproductibilité

à en juger par les coefficients de variation obtenus (généralement inférieurs à 20 %) à partir des moyennes calculées pour chaque niveau (C^0 , C^- , C^+) et durée d'exposition (t_1 , t_2 , t_3).

De façon générale, la teneur en HP C_{10} - C_{50} des échantillons de sol avec le même niveau de contamination diminue significativement avec la durée d'exposition (figure 19). De fait, les tests de comparaisons multiples (tukey HSD) effectués montrent une différence significative entre les concentrations d'HP C_{10} - C_{50} dans le sol en fonction du niveau et de la durée d'exposition ($p < 0,05$), particulièrement pour les échantillons les plus contaminés.

Les concentrations estimées pour les différentes fractions du CCME sont présentées au tableau XX. Les proportions des fractions F2 et F3 des échantillons contaminés ne changent pas significativement ($p > 0,05$) avec les niveaux d'exposition (C^- et C^+). De plus, les proportions demeurent constantes avec le temps car il n'existe pas de différence statistique ($p > 0,05$) entre les durées d'exposition (t_1 , t_2 et t_3).

Tel que présenté sur la figure 20, la proportion de la fraction 2 des échantillons contaminés est inférieure à celle retrouvée dans l'huile Voltesso (25 %) pour tous les niveaux et durées d'exposition.

Tableau XX : Concentrations en hydrocarbures pétroliers (C₁₀-C₅₀, fractions CCME et TPHCWG) dans le sol en fonction du niveau d'exposition (volume d'huile déversé sur le sol) et de la durée d'exposition (t₁, t₂, t₃) à l'huile Voltesso durant la phase expérimentale avec la carotte

Niveau d'exposition (mL)	Durée d'exposition	Réplicat	HP C ₁₀ -C ₅₀ Moyenne (mg/kg poids sec)	CV (%)	Critères du MENV	Fractions CCME (%)			Fractions TPHCWG aliphatiques (%)							Fractions TPHCWG aromatiques (%)							Fraction aromatique totale (%)	Fraction E2 du CCME observée le jour de l'analyse TPHCWG (%)			
						F2 C ₁₀ -C ₁₅	F3 C ₁₆ -C ₂₄	F4 C ₁₀ -C ₁₂	F5 C ₁₇ -C ₁₈	F6 C ₁₉ -C ₂₁	F7 C ₂₂ -C ₃₄	F4 C ₁₀ -C ₁₂	F5 C ₁₇ -C ₁₈	F6 C ₁₉ -C ₂₁	F7 C ₂₂ -C ₃₄	F4 C ₁₀ -C ₁₂	F5 C ₁₇ -C ₁₈	F6 C ₁₉ -C ₂₁	F7 C ₂₂ -C ₃₄								
1 C ⁰	t ₁	24h	1	120	21	<A	37	63	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
			2	150	12	<A	34	66	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2 C ⁰	t ₂	7j	1	130	3	<A	29	71	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			2	110	4	<A	37	63	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3 C ⁰	t ₃	21j	1	130	18	<A	40	60	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			2	110	35	<A	36	64	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4 C ¹	t ₁	24h	1	2400	15	B-C	15	85	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			2	1800	18	B-C	13	87	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5 C ¹	t ₂	7j	1	1700	14	B-C	18	82	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			2	3400	29	B-C	20	80	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6 C ¹	t ₃	21j	1	1200	19	B-C	18	82	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			2	1300	36	B-C	21	79	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7 C ¹	t ₁	24h	1	6000	27	>C	15	85	n.d.	19	54	22	0.4	2	2	n.d.	96	4	22	78	-	-	-	-	-	-	
			2	7000	17	>C	16	84	n.d.	13	48	18	0.3	15	7	n.d.	78	22	28	72	-	-	-	-	-	-	
8 C ¹	t ₂	7j	1	6000	18	>C	19	81	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			2	6600	7	>C	20	80	1	18	39	23	1.2	11	6	n.d.	80	19	30	69	-	-	-	-	-	-	
9 C ¹	t ₃	21j	1	4400	3	>C	16	84	n.d.	12	54	19	1.7	8	5	n.d.	85	15	22	78	-	-	-	-	-	-	
			2	3400	13	B-C	16	84	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10 C ²	t ₁	24h	1	10000	14	>C	18	82	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
			2	9000	24	>C	17	83	n.d.	12	55	19	0.3	9	4	n.d.	87	13	22	78	-	-	-	-	-	-	
11 C ²	t ₂	7j	1	10000	17	>D	17	83	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
			2	10000	11	>C	19	82	n.d.	17	47	17	0.4	14	5	n.d.	81	19	32	68	-	-	-	-	-	-	
12 C ²	t ₃	21j	1	5500	4	>C	19	81	n.d.	15	55	10	3.1	11	7	n.d.	79	21	28	72	-	-	-	-	-		
			2	6200	1	>C	20	80	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
13 C ³	t ₁	24h	1	10000	18	>D	17	83	n.d.	16	54	21	n.d.	7	2	n.d.	91	9	23	77	-	-	-	-	-		
			2	13000	19	>D	18	82	n.d.	16	56	21	0.2	5	2	n.d.	93	7	21	79	-	-	-	-	-		
14 C ³	t ₂	7j	1	13000	6	>D	17	84	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
			2	14000	3	>D	17	83	n.d.	15	51	19	0	10	4	n.d.	86	14	26	74	-	-	-	-	-		
15 C ³	t ₃	21j	1	10000	2	>D	18	82	n.d.	16	45	15	1	15	8	n.d.	76	24	32	68	-	-	-	-	-		
			2	8100	7	>C	18	82	n.d.	19	62	12	1	5	1	n.d.	93	7	25	75	-	-	-	-	-		

n.d. : non détecté

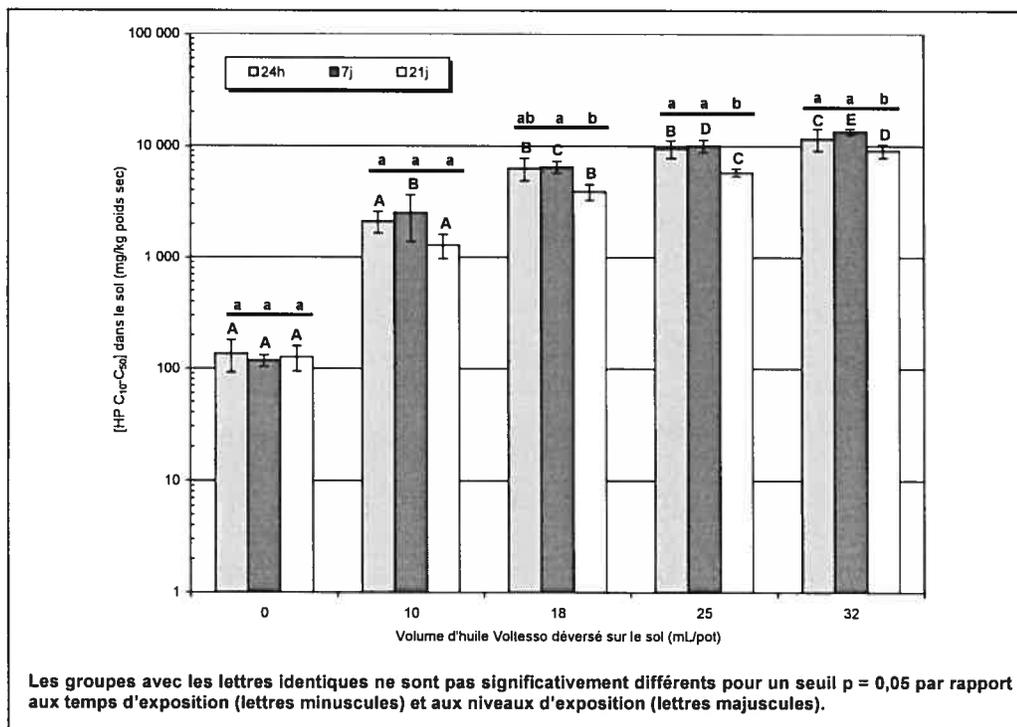


Figure 19 : Variation des concentrations en hydrocarbures pétroliers C₁₀-C₅₀ dans le sol en fonction du niveau d'exposition (volume d'huile déversé sur le sol) et de la durée d'exposition (t₁, t₂, t₃) à l'huile Voltesso durant la phase expérimentale avec la carotte

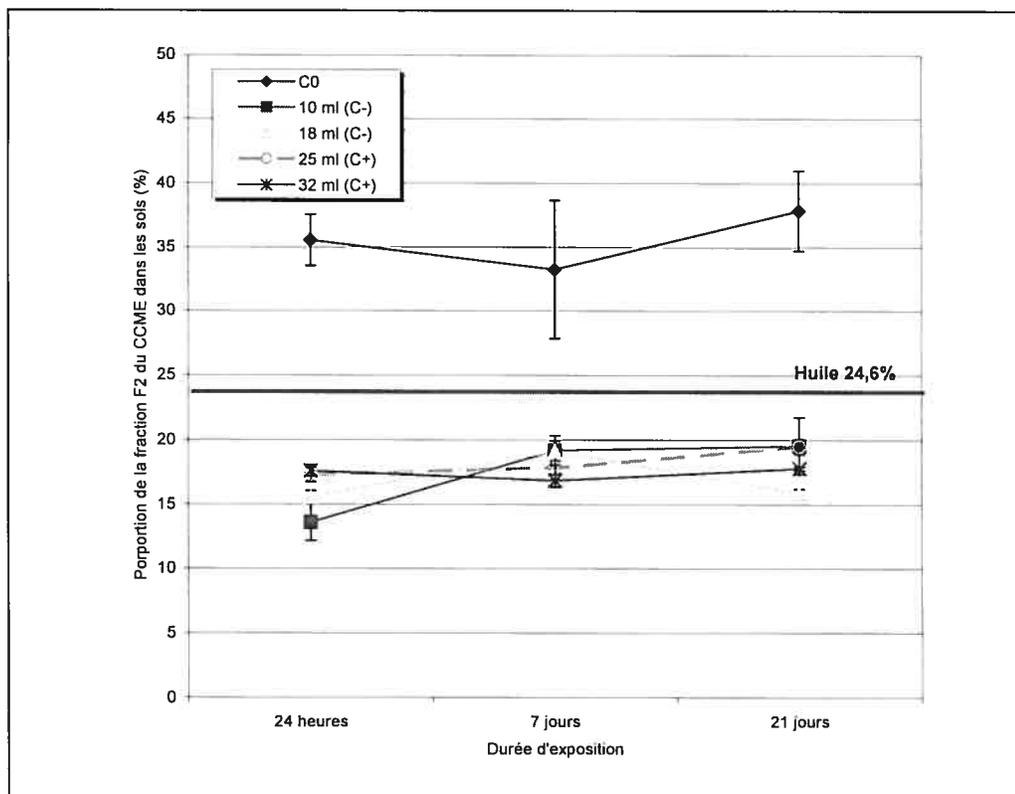


Figure 20 : Variation temporelle de la proportion moyenne de la fraction F2 du CCME retrouvée dans le sol en fonction du niveau d'exposition (volume d'huile déversé sur le sol) et de la durée d'exposition (t_1 , t_2 , t_3) à l'huile Voltesso durant la phase expérimentale avec la carotte

Le fractionnement selon le TPHCWG a été réalisé sur au moins un des deux essais des échantillons 7 à 15. Les proportions des fractions déterminées ne changent pas significativement entre les échantillons avec des niveaux de contamination différents (C⁻ et C⁺). Cependant, on remarque une augmentation significative dans le temps ($p = 0,05$) de la proportion de la fraction 6 aromatique correspondant aux HP ayant entre 16 et 21 carbones pour tous les niveaux d'exposition analysés (figure 21). Ce résultat semble indiquer que cette fraction serait un indicateur de la persistance de cette classe de composés dans l'environnement, c'est-à-dire pour les composés aromatiques de poids moléculaires élevés.

De façon générale, la proportion des fractions déterminées est comparable aux résultats obtenus lors de la caractérisation de l'huile, laissant présumer que l'extraction des HP des sols est efficace. Quoiqu'il en soit, la fraction aliphatique totale moyenne obtenue pour les douze effectifs testés (85 %) est comparable à celle de l'huile (82 %).

La méthode de fractionnement du TPHCWG donne une proportion de 26 % pour les HP correspondant à la fraction 2 du CCME (entre C_{10} et C_{16}) fractions aliphatique et aromatique confondues. La proportion de cette fraction déterminée par la méthode du CCME est de 17 %. Ainsi, la méthode du TPHCWG donne des résultats se rapprochant davantage des proportions se trouvant dans l'huile (25 %).

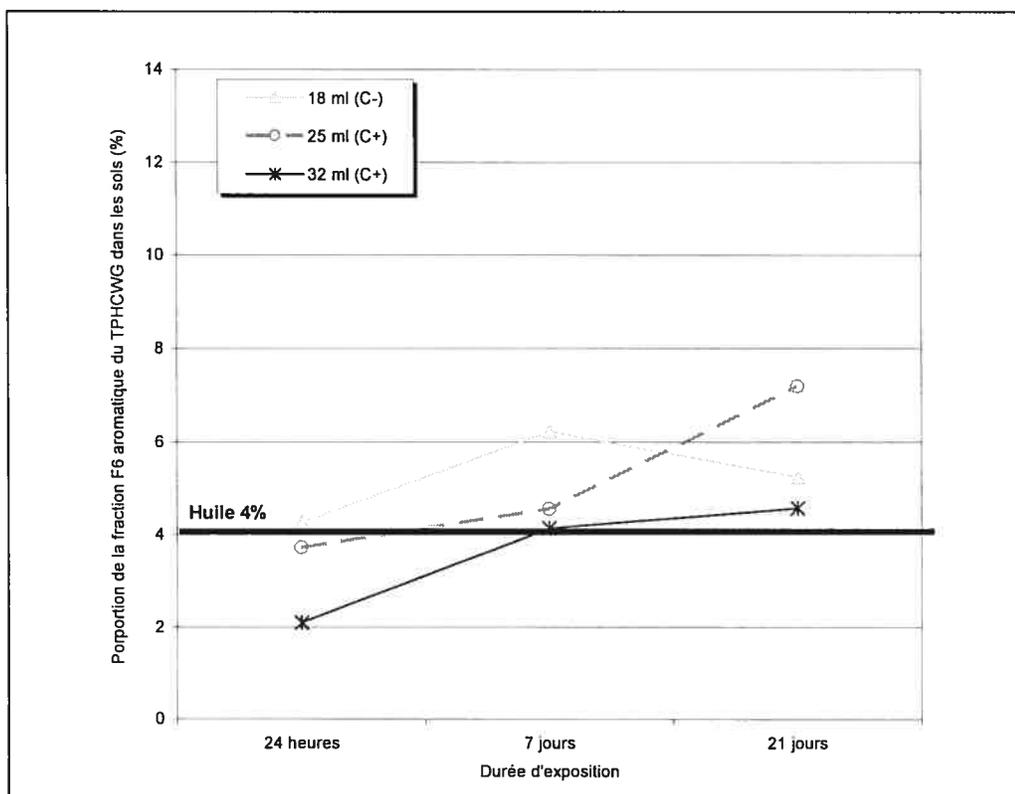


Figure 21 : Variation temporelle de la proportion de la fraction aromatique F6 (C_{16} - C_{21}) du TPHCWG retrouvée dans le sol en fonction du niveau d'exposition (volume d'huile déversé sur le sol seulement) et de la durée d'exposition (t_1 , t_2 , t_3) à l'huile Voltesso durant la phase expérimentale avec la carotte

4.4.2.4 Concentration en HP dans la carotte

Les HP des tissus de carotte ont été analysés pour les C₁₀-C₅₀ et également pour les fractions du CCME, tels que présentés au tableau XXI. Cependant, les faibles teneurs en HP retrouvées dans les tissus ont permis la quantification des fractions du TPHCWG pour un seul échantillon.

Tel que démontré au tableau XXI et à la figure 22, la concentration en HP C₁₀-C₅₀ dans la carotte (racine) augmente avec le niveau d'exposition à l'huile Voltesso ($p < 0,05$) à 24 heures et 21 jours d'exposition (t_1 et t_3). Cependant, les écart-types élevés des moyennes à 7 jours d'exposition (t_2) ne permettent pas de confirmer cette tendance.

La concentration en HP C₁₀-C₅₀ dans les carottes diminue significativement avec le temps d'exposition ($p < 0,05$) pour les niveaux d'exposition où la carotte a bioconcentré une plus grande quantité d'huile (échantillons 18 et 32 mL). Cette situation semble indiquer que l'absorption d'HP s'effectue principalement au début de l'exposition. Plusieurs mécanismes peuvent ensuite expliquer la diminution de concentration dans le temps tels que la diffusion des HP vers les feuilles des carottes et la dilution liée à l'augmentation de la biomasse.

La quantification des fractions d'HP définies par le CCME a démontré des proportions constantes entre les différents essais mais une variabilité élevée entre les différents traitements. Ainsi, selon les résultats obtenus pour les témoins, les HP entre C₁₀ et C₁₆ et entre C₁₆ et C₃₄ contenus naturellement dans la carotte se retrouvent en proportion égale. La même distribution a été observée pour les échantillons 19, 20 et 21 (10 mL) qui ne semblent pas avoir bioconcentré d'huile Voltesso. De plus, ces proportions sont restées constantes avec la durée d'exposition ($p < 0,05$).

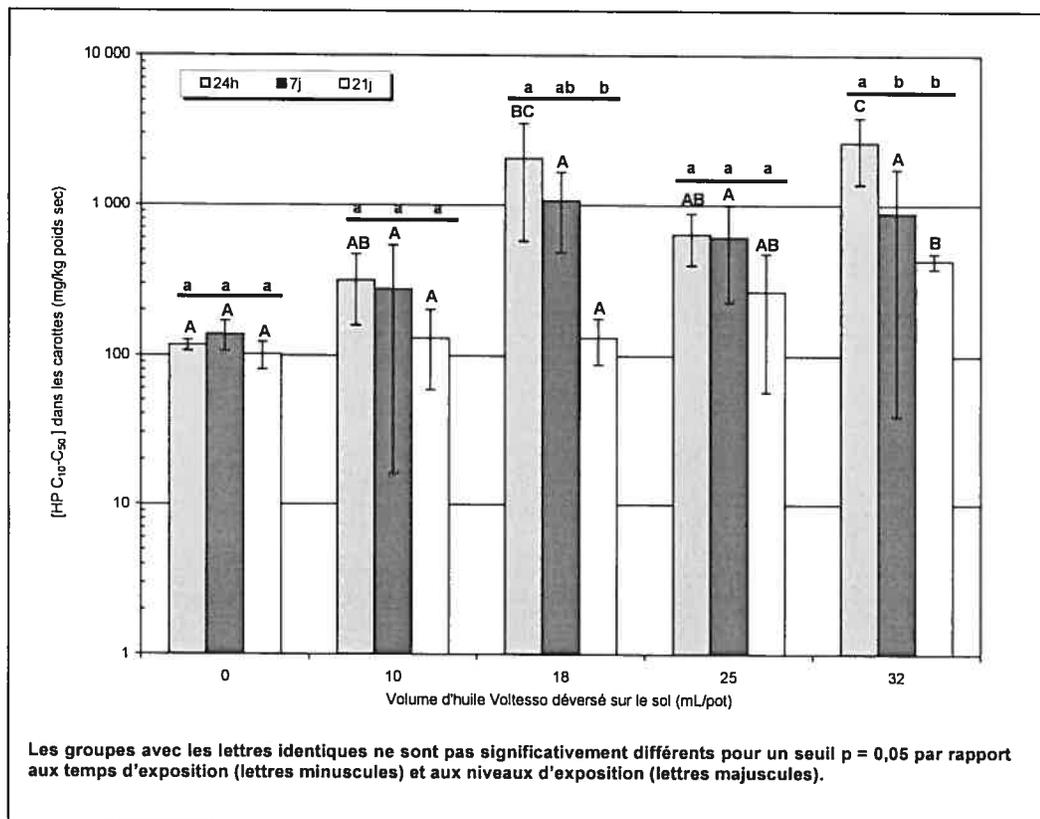


Figure 22 : Variation des concentrations en hydrocarbures pétroliers C_{10} - C_{50} extraites de la carotte en fonction du niveau d'exposition (volume d'huile déversé sur le sol seulement) et de la durée d'exposition (t_1 , t_2 , t_3) à l'huile Voltesso durant la phase expérimentale

Pour les tissus ayant bioconcentré l'huile (18, 25 et 32 mL : échantillons 22 à 30, tableau XXI), on remarque une diminution significative de la proportion des HP de la fraction 2 du CCME ($p < 0,05$) par rapport aux échantillons 16 à 21 (0 et 10 mL) pour atteindre des proportions similaires à celles retrouvées dans l'huile (figure 23). Cette tendance est davantage remarquée au début de l'exposition où l'accumulation a été maximale. Quoi qu'il en soit, la moyenne des proportions de la fraction 2 des échantillons les plus exposés (n^{os} 22 à 30) toute date confondue ($n = 18$) est similaire à celle de l'huile (24 % vs 25 %).

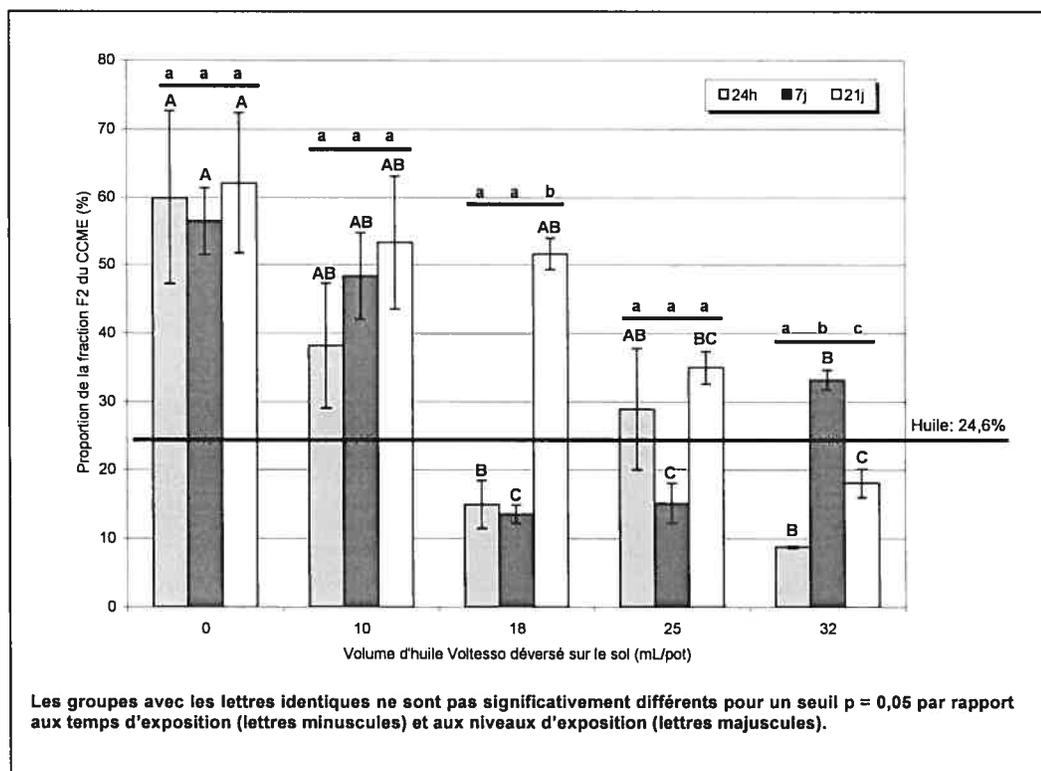


Figure 23 : Variation temporelle de la proportion moyenne de la fraction F2 du CCME retrouvée dans la carotte en fonction du niveau d'exposition (volume d'huile déversé au niveau du sol seulement) et de la durée d'exposition (t_1 , t_2 , t_3) à l'huile Voltesso durant la phase expérimentale

Le fractionnement selon l'approche du TPHCWG a été effectué sur les échantillons avec les concentrations tissulaires en HP les plus élevées. Malgré ce fait, les concentrations finales des composés aromatiques sont inférieures aux limites de détection du GC/FID, sauf pour un des échantillons #28. Ce dernier a démontré une diminution de la proportion des fractions aliphatiques 6 et 7 au profit d'une augmentation des aromatiques par rapport aux proportions de l'huile Voltesso, laissant présumer une plus grande affinité pour la carotte avec les composés aromatiques entre C_{12} et C_{21} (proportion de 36 % vs 17 % pour l'huile). Cependant, les résultats selon la méthode de fractionnement du TPHCWG ont été obtenus sur seulement un échantillon et divergent considérablement de ceux obtenus par la méthode du CCME. En effet, le TPHCWG donne une proportion de 44 % pour les HP de la fraction 2 du CCME tandis que celle obtenue à la suite

du fractionnement selon le CCME est de 9%. Il semblerait que la concentration en HP C₁₀-C₅₀ dans la carotte analysée près des limites de détection de la méthode donne des résultats moins représentatifs.

La figure 24 présente la concentration d'HP C₁₀-C₅₀ extraite dans la carotte en fonction de la concentration d'HP C₁₀-C₅₀ extraite des échantillons de sol, et ce, pour les différentes durées d'exposition. La relation linéaire obtenue est significative ($p \leq 0,05$) pour les trois périodes testées (1, 7 et 21 jours) avec un pourcentage de la variance totale expliquée de 53, 19 et 51 % respectivement. La moyenne des concentrations en HP C₁₀-C₅₀ extraites des carottes diminue avec la durée d'exposition.

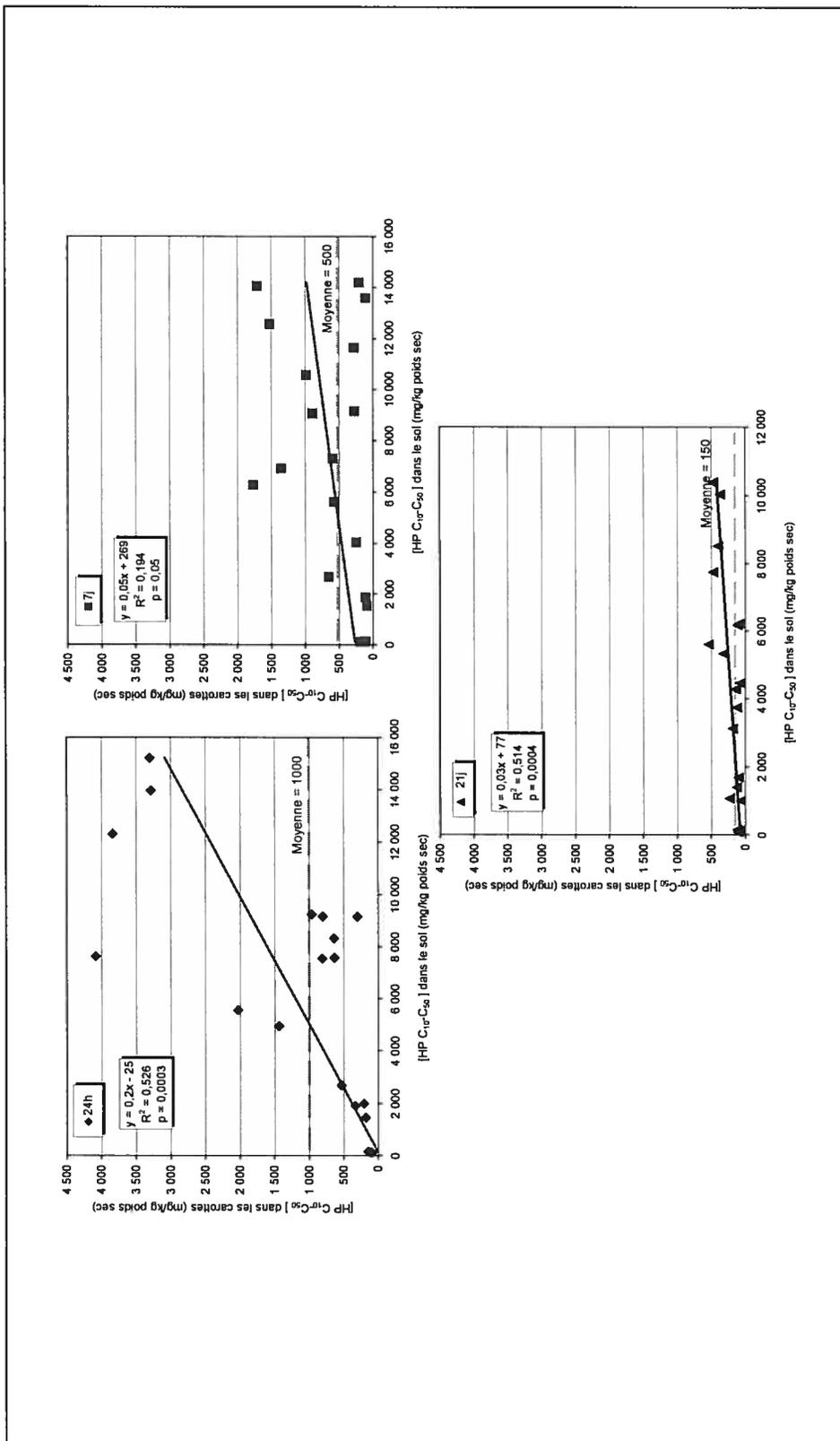


Figure 24 : Relation entre la concentration en hydrocarbures pétroliers C₁₀-C₅₀ extraite des carottes (racine) et la concentration en hydrocarbures pétroliers C₁₀-C₅₀ retrouvée dans le sol en fonction de la durée d'exposition (t₁, t₂, t₃) durant la phase expérimentale

4.4.2.5 *Évaluation du facteur de bioconcentration de l'huile Voltesso par la carotte*

En ce qui concerne les FBC des carottes, la figure 25 présente le FBC en fonction du volume d'huile déversé sur le sol et les statistiques des résultats obtenus. À 24 heures d'exposition, on remarque que la valeur du FBC est très variable en fonction du niveau d'exposition (C⁻ et C⁺). Cependant, il n'y a pas de différence significative ($p > 0,05$) entre les FBC obtenus à chaque niveau d'exposition pour les temps d'exposition de 7 et 21 jours. En combinant les résultats pour les différents niveaux d'exposition, les FBC moyens après 24 heures, 7 jours et 21 jours d'exposition sont respectivement de 0,17, 0,08 et 0,03.

Par ailleurs, on remarque que les FBC pour un même niveau d'exposition tendent à diminuer avec le temps. Cette tendance s'avère être significative ($p < 0,05$) pour les échantillons où 18 et 32 mL ont été déversés, mais pas pour les autres niveaux d'exposition (10 et 25 ml).

Malgré les limites des mesures obtenues (faible effectif, variabilité importante), il semblerait, qu'à l'équilibre, les FBC moyens pour les racines de carotte seraient constants avec le niveau d'exposition mais diminueraient avec la durée d'exposition.

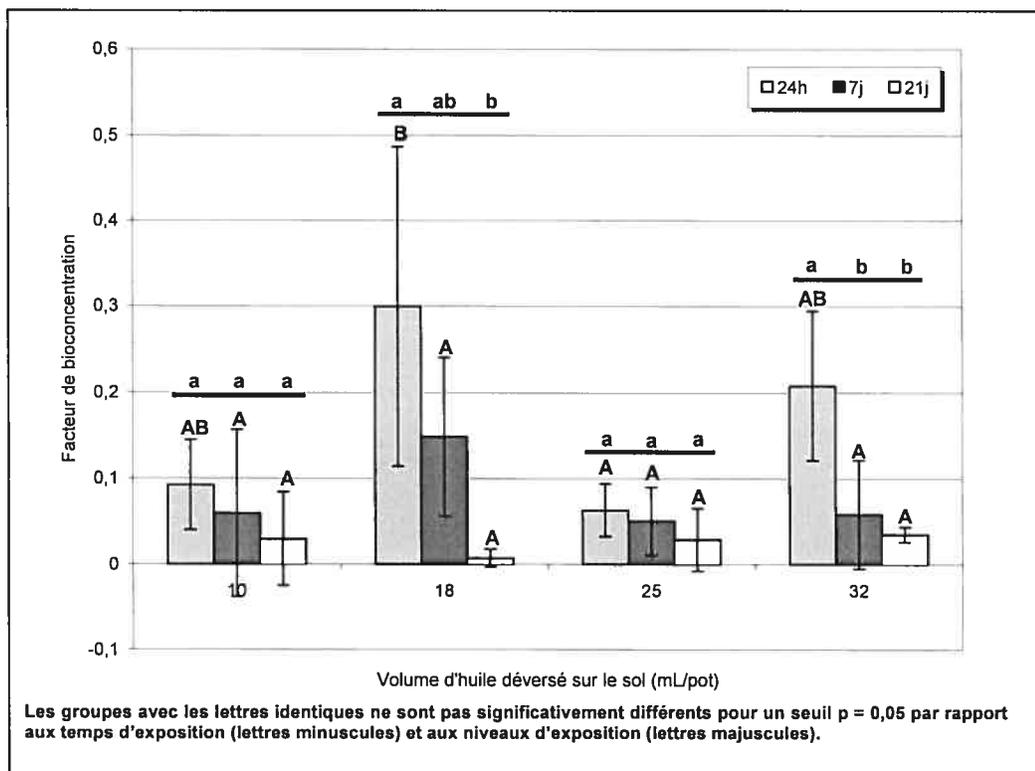


Figure 25 : Facteurs de bioconcentration calculés pour la carotte en fonction du niveau d'exposition (volume d'huile déversé sur le sol seulement) et de la durée d'exposition (t_1 , t_2 , t_3) à l'huile Voltesso durant la phase expérimentale

4.5 Caractérisation des hydrocarbures pétroliers dans la tomate

4.5.1 Expérimentation

4.5.1.1 Niveaux d'exposition

Au total, cinq niveaux d'exposition ont été considérés pour la phase expérimentale, soit :

- quatre niveaux d'exposition considérant le déversement de 10, 20, 35, 50 mL d'huile Voltesso directement sur le sol des pots de tomates ;
- un groupe contrôle (témoin) non contaminé.

Il faut préciser que toutes les analyses ont été réalisées en double suivant trois durées d'exposition : 24 heures, 7 jours et 15 jours.

La durée maximale de l'exposition correspond au moment où les plants montraient des signes de détérioration ou de dégénération.

4.5.1.2 Viabilité et évolution temporelle des plants de tomate

À la suite du déversement d'huile Voltesso, les tomates n'ont montré aucun effet visible de la contamination au niveau du plant. En effet, l'apparence des plants exposés au volume le plus élevé d'huile (50 mL) était comparable à celle du témoin. L'expérimentation a été achevée quinze jours après le déversement d'huile, car les tomates de quelques plants, dont celles du témoin, possédaient des points noirs, signe de vieillissement avancé.

4.5.1.3 Concentration en HP dans les sols

Les résultats obtenus pour la concentration en HP C₁₀-C₅₀ des échantillons de sol sont présentés au tableau XXII. De façon générale, les sols exposés à 10 et 20 mL d'huile (échantillons 4 à 9) se retrouvent dans la plage B-C des critères d'HP C₁₀-C₅₀ de la Politique du MENV (700 à 3 500 mg/kg), tandis que ceux exposés à 35 et 50 mL d'huile (échantillons 10 à 15) ont une concentration en HP C₁₀-C₅₀ supérieure au critère C de la Politique du MENV.

Tel qu'illustré à la figure 26, la concentration moyenne ($n = 2$) en HP C₁₀-C₅₀ pour un même traitement dans le sol est directement proportionnelle au volume d'huile déversé ($p < 0,05$). À l'exception de l'échantillon de 50 mL, le niveau de reproductibilité des différents essais est satisfaisant pour les différents niveaux d'exposition avec des coefficients de variation inférieurs à 40 %. Par ailleurs, les concentrations en HP C₁₀-C₅₀ mesurées pour chaque niveau d'exposition ne varient pas significativement en fonction du temps d'exposition ($p > 0,05$).

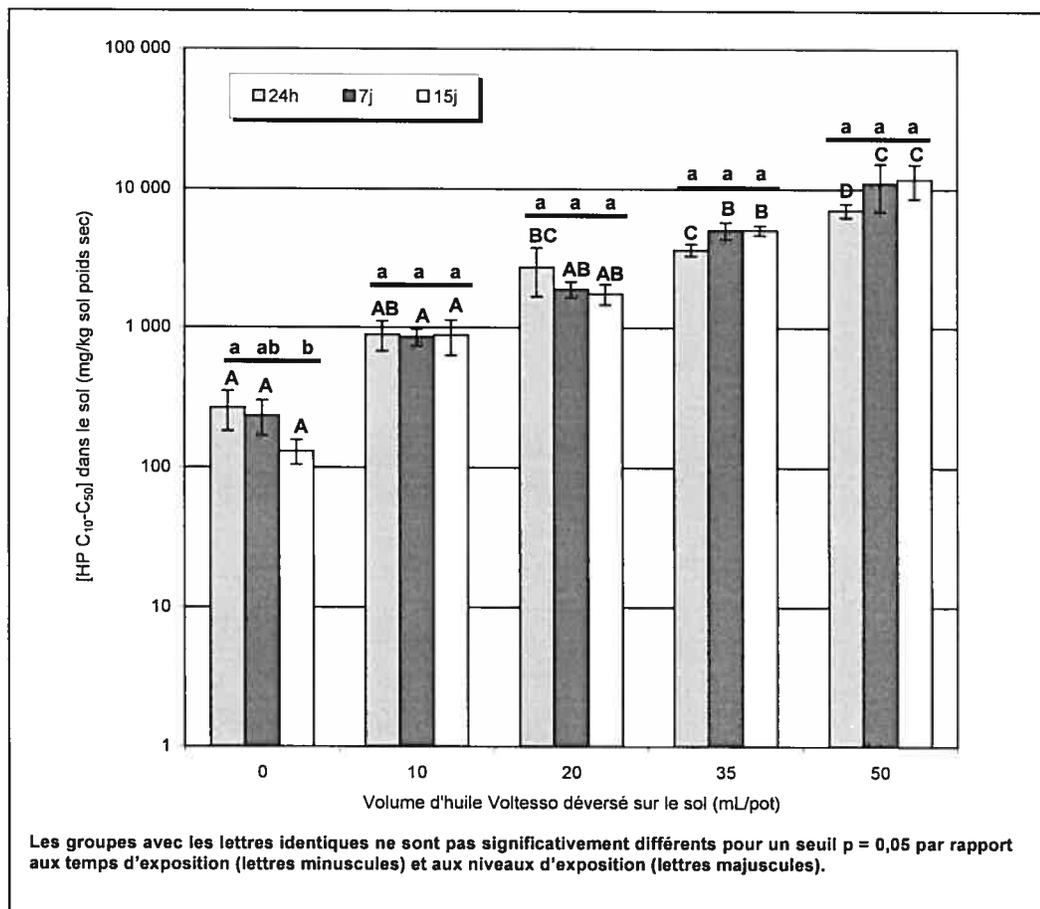


Figure 26 : Variation des concentrations en hydrocarbures pétroliers C_{10} - C_{50} dans le sol en fonction du niveau d'exposition (volume d'huile déversé sur le sol) et de la durée d'exposition (t_1 , t_2 , t_3) à l'huile Voltesso durant la phase expérimentale avec la tomate

Les quantifications des fractions ont été réalisées pour tous les échantillons selon la méthode définie par le CCME. La proportion moyenne des composés entre C_{10} et C_{16} (F2) des échantillons contaminés (10, 20, 35, 50 mL) est de 12 %, soit légèrement inférieure à celle retrouvée dans l'huile (25 %). Cette différence peut être attribuable à la volatilisation ou au métabolisme favorisés pour ces composés qui possèdent des longueurs de chaînes plus courtes. Il est également possible que ces composés soient préférentiellement absorbés par les racines des plants de tomate sans nécessairement atteindre les fruits. Les tests statistiques n'ont montré aucune différence significative entre les proportions moyennes de la fraction F2 pour les échantillons contaminés (C^- , C^+) (figure 27).

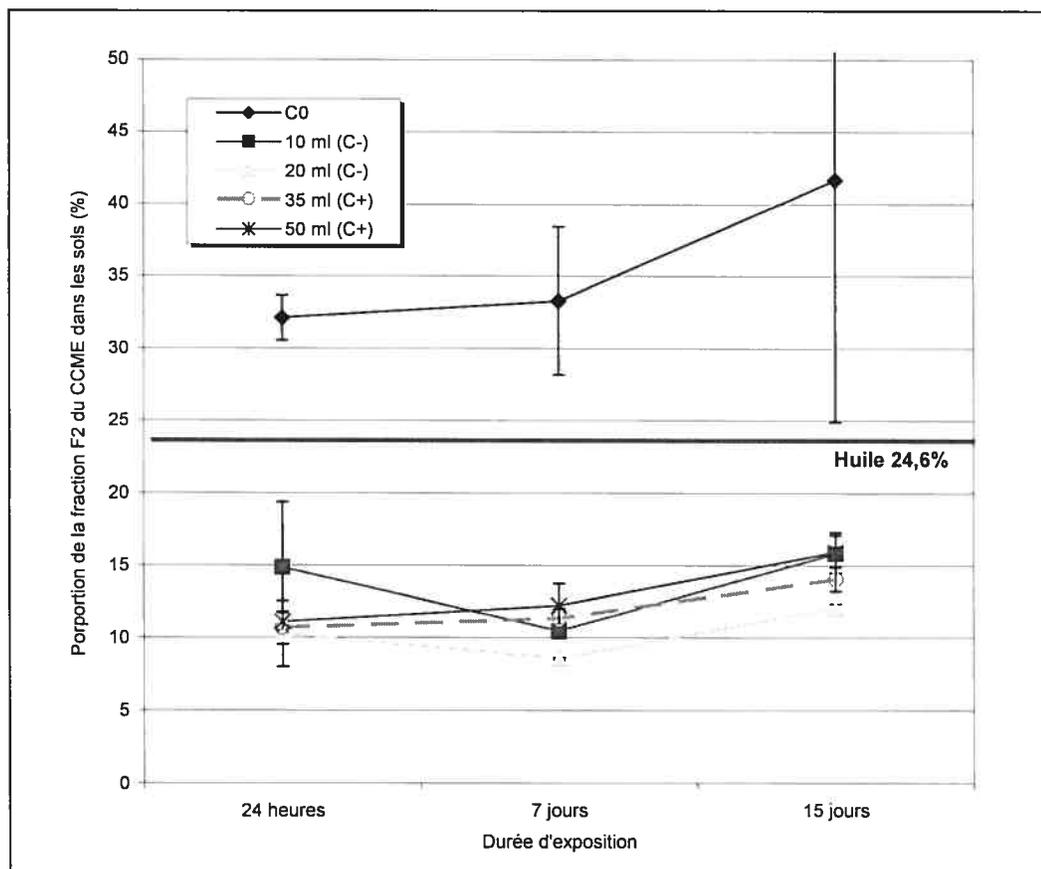


Figure 27 : Variation temporelle de la proportion moyenne de la fraction F2 du CCME retrouvée dans le sol en fonction du niveau d'exposition (volume d'huile déversé sur le sol) et de la durée d'exposition (t_1 , t_2 , t_3) à l'huile Voltesso

La quantification des fractions a également été effectuée pour quelques-uns des échantillons 7 à 15 (tableau XXII) selon la méthode du TPHCWG. Tout comme pour les carottes, les sols de tomates contaminés ont démontré une proportion inférieure pour les HP aliphatiques dans l'intervalle C_{10} - C_{16} (F4 et F5) comparativement à l'huile possiblement due à l'évaporation ou à la dégradation microbienne supérieure pour ces composés (figure 28). Cependant, la proportion totale moyenne des composés aliphatiques obtenue (79 %) est comparable à celle de l'huile (82 %).

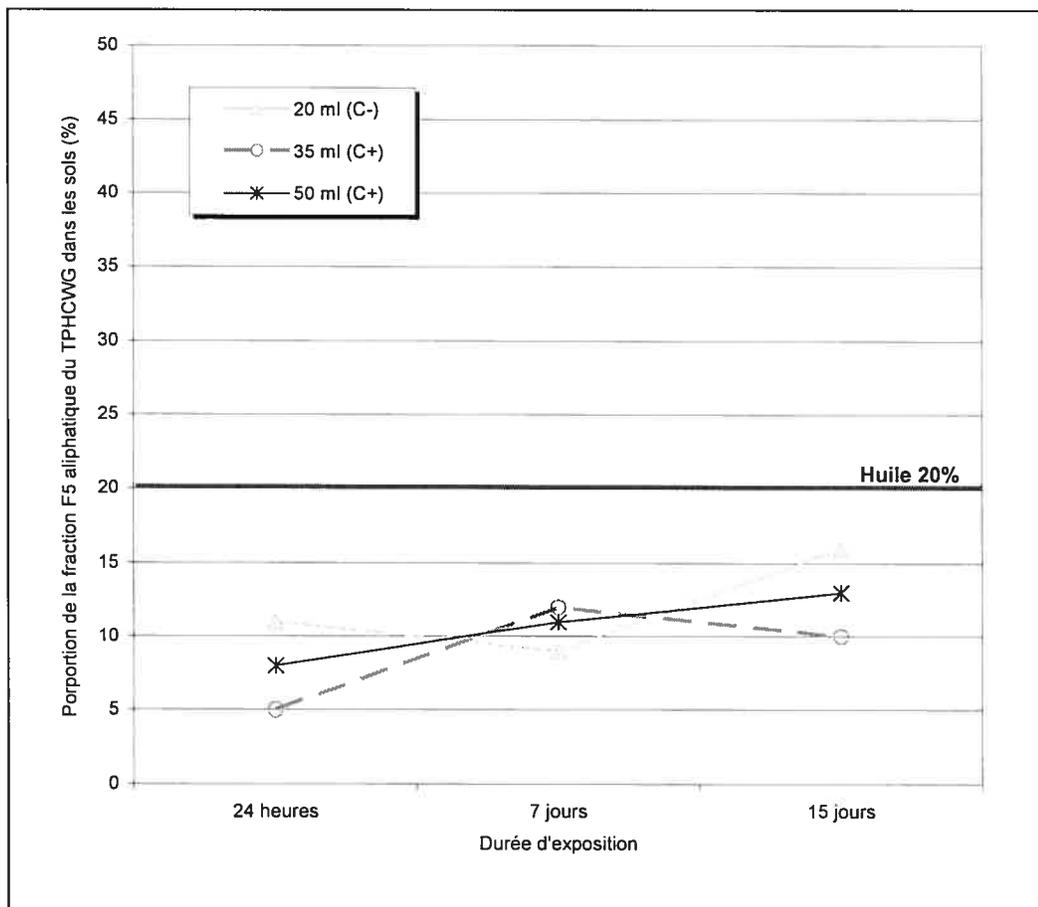


Figure 28 : Variation temporelle de la proportion de la fraction F5 aliphatique du TPHCWG retrouvée dans le sol en fonction du niveau d'exposition (volume d'huile déversé sur le sol) et de la durée d'exposition (t_1 , t_2 , t_3) à l'huile Voltesso durant la phase expérimentale avec la tomate

L'addition des fractions aliphatiques et aromatiques 4 et 5 obtenues selon la méthode du TPHCWG (26 %) donne une proportion pour les composés situés entre C_{10} et C_{16} comparable à celle de l'huile (25 %).

4.5.1.4 Concentration en HP dans la tomate (fruit)

Les concentrations en HP C_{10} - C_{50} mesurées dans les tomates sont présentées au tableau XXIII. Il n'y a pas de variation significative ($p > 0,05$) de la concentration

en HP C₁₀-C₅₀ dans les fruits selon la durée d'exposition (figure 29). Ceci s'explique par le fait que les concentrations en HP C₁₀-C₅₀ mesurées dans les tomates (fruits) exposées à l'huile Voltesso des échantillons exposés à 10, 20 et 35 mL d'huile Voltesso (0 mg/kg à 150 mg/kg) s'apparentent aux concentrations mesurées dans les tomates de l'échantillon témoin (90 à 140 mg/kg) (tableau XXIII et figure 29). En revanche, on observe une hausse marquée des concentrations en HP C₁₀-C₅₀ pour l'échantillon ayant subi la plus forte exposition (50 mL, C⁺) ($p < 0,05$) par rapport aux témoins et aux autres échantillons contaminés. Il n'existe toutefois pas de variations significatives à ce niveau d'exposition en fonction de la durée exposition. Il semblerait donc qu'il y ait un seuil de concentration d'HP C₁₀-C₅₀ sous lequel le fruit de la tomate n'absorbe pas d'HP C₁₀-C₅₀ provenant du sol.

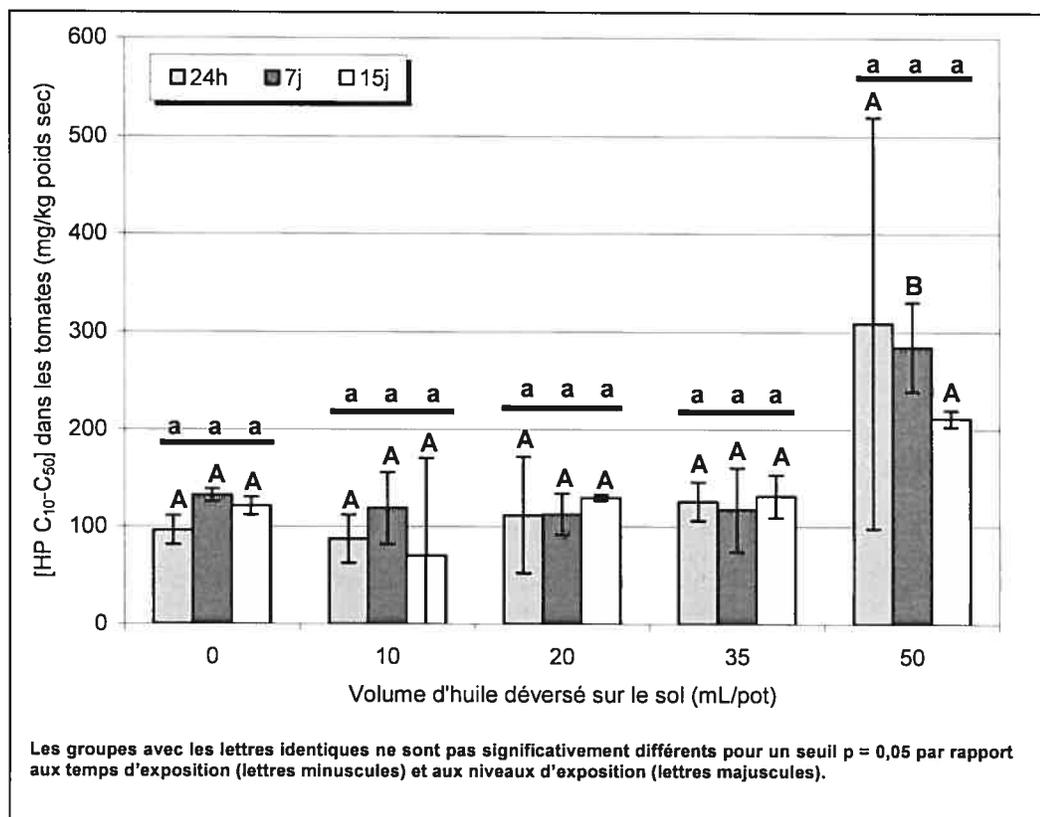


Figure 29 : Variation des concentrations en hydrocarbures pétroliers C₁₀-C₅₀ extraites de la tomate en fonction du niveau d'exposition (volume d'huile déversé sur le sol seulement) et de la durée d'exposition (t_1 , t_2 , t_3) à l'huile Voltesso durant la phase expérimentale

Tableau XXIII : Concentrations en hydrocarbures pétroliers (C₁₀-C₅₀, fractions CCME et TPHCWG) dans les tomates fonction du niveau d'exposition (volume d'huile déversé sur le sol) et de la durée d'exposition (t₁, t₂, t₃) à l'huile Voltesso durant la phase expérimentale

Échantillon	Niveau d'exposition (mL)		Durée d'exposition			Réplicat	HP C ₁₀ -C ₅₀ (mg/kg poids sec)	F2 (C ₁₀ -C ₁₆)		F3 (C ₁₆ -C ₃₄)	
	C ⁰	C ⁺	t ₁	t ₂	t ₃			(%)	(mg/kg)	(%)	(mg/kg)
16	C ⁰	0	t ₁	24h	1	80	62	49	38	31	
							63	63	37	37	
17	C ⁰	0	t ₂	7j	1	130	62	80	38	50	
							67	93	33	47	
18	C ⁰	0	t ₃	15j	1	130	59	76	41	54	
							60	72	40	48	
19	C ⁻	10	t ₁	24h	1	70	52	36	48	34	
							66	66	34	34	
20	C ⁻	10	t ₂	7j	1	150	55	82	45	68	
							60	54	40	36	
21	C ⁻	10	t ₃	15j	1	140	51	71	49	69	
							n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	
22	C ⁻	20	t ₁	24h	1	150	63	94	37	56	
							63	44	37	26	
23	C ⁻	20	t ₂	7j	1	100	63	63	37	37	
							60	78	40	52	
24	C ⁻	20	t ₃	15j	1	130	58	76	42	54	
							58	75	42	55	
25	C ⁺	35	t ₁	24h	1	140	64	90	36	50	
							67	74	33	36	
26	C ⁺	35	t ₂	7j	1	90	62	56	38	34	
							62	93	38	57	
27	C ⁺	35	t ₃	15j	1	120	59	71	41	49	
							60	90	40	60	
28	C ⁺	50	t ₁	24h	1	500	50	251	50	249	
							63	101	37	59	
29	C ⁺	50	t ₂	7j	1	300	54	163	46	137	
							59	177	41	123	
30	C ⁺	50	t ₃	15j	1	200	54	107	46	93	
							64	128	36	72	
Moyenne (CV)							60 (8)	85 (51)	40 (11)	59 (69)	

n.d. : non détecté

Les quantifications des fractions d'HP selon la méthode définie par le CCME ont démontré des proportions constantes pour tous les échantillons et comparables à celles obtenues pour le bruit de fond, c'est-à-dire 60 % des composés dans la fraction 2 avec un coefficient de variation de 8 %.

Les fractionnements selon l'approche du TPHCWG n'ont pas été effectués étant donné les limites de détection de la méthode.

L'effet du lavage au savon doux a tout de même été évalué à partir de fruits achetés. Les tomates cerises ont été contaminées directement avec environ 1 mL d'huile et extraites 24 heures et 7 jours suivant l'exposition. Le tableau XXIV présente le rendement des extractions plutôt que la quantité d'HP C₁₀-C₅₀ extraite des tomates puisque le niveau de contamination variait d'une tomate à l'autre. Ainsi, les résultats du tableau XXIV démontrent qu'il y a une réduction de la concentration des HP extraits pour les échantillons lavés après 24 heures d'exposition au contaminant. En effet, le rendement moyen (n = 3) d'extraction s'élève à 60% pour les tomates non lavées et à 10 % pour les tomates lavées, indiquant que le lavage au savon doux entraînerait une réduction de 50 % des HP C₁₀-C₅₀ présents. Cependant, pour une exposition plus longue (7 jours), l'huile semble avoir pénétré la membrane du fruit et le lavage n'a pas permis de réduire la quantité des HP extraits avec des rendements d'extraction de 50 % pour les tomates non lavées et de 70 % pour les tomates lavées.

Tableau XXIV : Proportions d'hydrocarbures pétroliers C₁₀-C₅₀ extraites des tomates cerises avant et après lavage avec un savon doux durant la phase expérimentale

Niveau d'exposition ^(a)	Durée d'exposition	Tomate non lavée (%)	Tomate lavée (%)
Environ 40 000 mg/kg (> C ⁺)	24h	73	1
		49	10
		51	29
	Moyenne (écart-type)	60 (10)	10 (10)
Environ 40 000 mg/kg (> C ⁺)	7j	36	62
		51	89
		57	56
	Moyenne (écart-type)	50 (10)	70 (20)

^(a) : 1 mL d'huile sur tomates cerises d'environ 20 grammes.

4.5.1.5 *Évaluation du facteur de bioconcentration de l'huile Voltesso par la tomate*

La figure 30 présente les facteurs de bioconcentration des HP C₁₀-C₅₀ en fonction de la concentration dans le sol. On remarque ainsi que le facteur de bioconcentration pour la tomate est négligeable pour l'ensemble des niveaux d'exposition et des temps d'exposition, à l'exception de l'échantillon 50 mL, où le FBC moyen est de 0,02, variant de 0,05 pour une exposition de 24 heures à 0,01, pour une exposition de 21 jours. Tout comme pour la carotte, plusieurs mécanismes peuvent expliquer la diminution du facteur de concentration dans le temps tels que la diffusion des HP dans l'eau de la tomate et son élimination par évapotranspiration ainsi que la dilution liée à l'augmentation de la biomasse. De façon générale, le facteur de bioconcentration ne change pas significativement ($p > 0,05$) avec le niveau et la durée d'exposition avec une valeur moyenne de 0,01 à tous les temps d'exposition. Par conséquent, l'absorption racinaire d'huile Voltesso par les tomates à la suite d'une exposition via le sol est négligeable. Par contre, les résultats obtenus à la suite de l'évaluation de l'effet du lavage au savon doux pour la tomate laissent présumer que dans le cas d'un déversement sur le fruit directement, la bioconcentration de l'huile par la tomate augmenterait avec le temps.

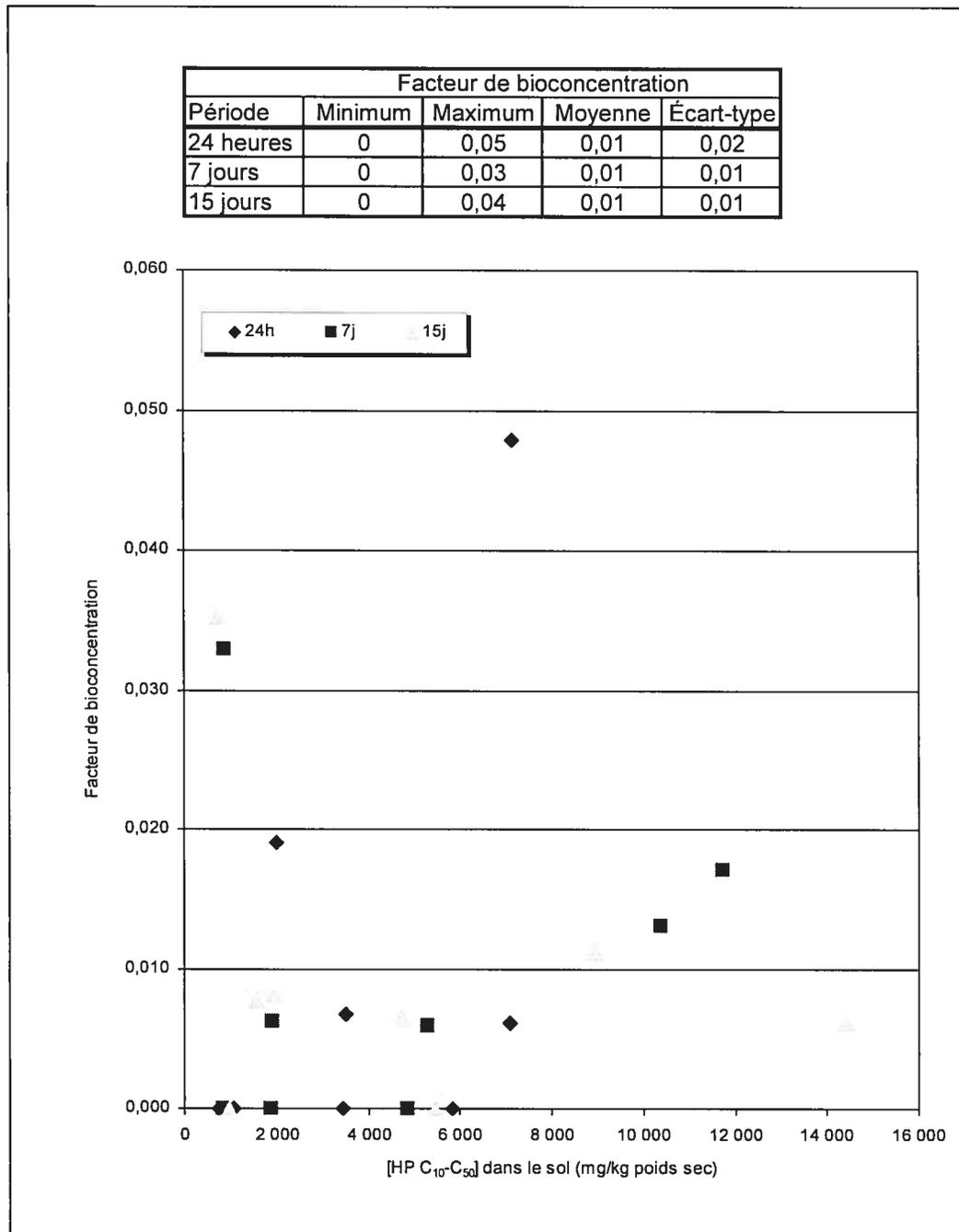


Figure 30 : Facteurs de bioconcentration calculés pour la tomate en fonction du niveau d'exposition (volume d'huile déversé sur le sol seulement) et de la durée d'exposition (t_1 , t_2 , t_3) à l'huile Voltesso durant la phase expérimentale

5 DISCUSSION

La présente discussion vise à mettre en évidence les principaux résultats de l'étude en fonction des connaissances actuelles sur le sujet.

5.1 Caractéristiques de la source de contamination : l'huile Voltesso

Les propriétés physiques, chimiques, biologiques et toxicologiques d'un mélange complexe tel que l'huile Voltesso dépendent de la nature de ses constituants. La caractérisation de l'huile Voltesso a permis de déterminer la concentration de chacune des fractions d'HP définie suivant les méthodes proposées par le CCME et par le TPHCWG ainsi que les teneurs associées aux HAP et aux métaux.

De manière générale, l'huile Voltesso est constituée de centaines de composés ayant des longueurs de chaîne variant de 10 (C_{10}) à 35 carbones (C_{35}). Tous ces composés sont associés aux fractions 2 (C_{10} - C_{16}) et 3 (C_{16} - C_{34}) du CCME dans des proportions de 24 et 76% respectivement. La caractérisation de l'huile Voltesso selon la méthode proposée par le TPHCWG a démontré que 82% des HP sont de nature aliphatique, la différence (18 %) étant formés de composés aromatiques.

Par ailleurs, la quantification de 25 congénères de HAP et de 15 métaux a montré que les concentrations sont très faibles, soit moins de 1% pour ces deux groupes de substances. Ces faibles concentrations laissent présumer que l'huile analysée est neuve ou régénérée.

Ainsi, la composition de l'huile Voltesso est comparable aux huiles lubrifiantes typiques et à l'huile à moteur no. 6. En effet, on y retrouve une concentration élevée en alcanes cyclique et aliphatique. De plus, ces trois types de mélanges ne contiennent pas d'HP légers qui sont plus volatils (C_{10} et moins). Par le fait même, on n'y retrouve pas les HP reconnus comme étant les plus toxiques soit

notamment le benzène, le toluène, l'éthylbenzène et les xylènes (BTEX). La concentration en HAP y est également très faible (Potter et Simmons, 1998).

5.2 Caractéristiques du sol : terre à jardin

La caractérisation du sol utilisé lors de l'expérimentation a permis de déterminer que le pH du sol utilisé est légèrement acide (6,80). Cette légère acidité permet notamment d'optimiser la croissance des plantes. Une multitude de réactions chimiques et biologiques ayant lieu lors de la croissance d'une plante dépendent du pH du sol. Le pH influence la solubilité et donc la disponibilité des nutriments et de certaines substances, tels que les métaux, dans l'eau interstitielle utilisée par la plante. De plus, le pH module fortement la spéciation des métaux dans le sol (Brady, 1996).

La CEC d'un sol représente le mécanisme par lequel le potassium, le calcium, le magnésium et les métaux traces essentiels deviennent disponibles pour la plante. Lors de l'absorption des nutriments par les racines, la plante relâche un ion hydrogénium pour ensuite absorber un cation provenant du sol, entraînant ainsi l'augmentation de l'acidité du sol selon la capacité tampon qui varie en fonction du type de sol (Manahan, 2000). Ainsi, la CEC de la terre à jardin utilisée est optimisée pour la croissance des plantes avec en moyenne 143 méq de charge positive par 100 g de sol.

Les sols utilisés ont un COT de 26,0 % et un MOT correspondant de 45 %. La matière organique d'un sol est composée de résidus de plantes, de résidus d'animaux et de composés organiques produits par les microorganismes qui jouent le rôle de liants dans la matrice sol. Par exemple, elle lie entre elles des particules métalliques et organiques présentes de façon naturelle dans le sol. Ce phénomène a pour effet d'augmenter la fertilité et la capacité de rétention d'eau du sol. Une terre à jardin typique a généralement un contenu en COT de plus de 10 %, soit un pourcentage de matière organique MOT équivalent à environ 17 %. Ainsi, la terre à jardin utilisée peut être considéré comme étant un sol de type

organique avec une CRE normalement élevée de 1,6 fois son poids sec en eau (Brady, 1996).

5.3 Potentiel d'absorption et bioconcentration des HP par les plantes

Tel que prévu, le caractère hydrophobique, les K_{ow} et les poids moléculaires élevés des composés de l'huile Voltesso ainsi que les caractéristiques du sol telles que la proportion en carbone organique limite *a priori* le potentiel de bioconcentration par les plantes.

En analysant plus en détails les résultats on note que d'une manière générale les FBC moyens obtenus pour les feuilles de laitue (0,02), la carotte (0,09) et la tomate (0,01) dans les pots contaminés à l'huile Voltesso sont faibles. En effet, plusieurs auteurs ont sélectionné 0,01 comme valeur de FBC indiquant une bioconcentration minimale (Wild et Jones, 1992 ; Kipopoulou *et al.*, 1999).

Dans une étude de modélisation de bioconcentration de polluants par les plantes, Chiou *et al.* (2001) ont conclu que les contaminants organiques avec un K_{ow} élevé se lient par adsorption aux particules de MOT du sol et qu'une très faible proportion se retrouve alors dans l'eau interstitielle directement absorbée par la plante. Cependant, Chiou *et al.* (2001) ont également démontré qu'une certaine proportion de ces contaminants hydrophobes se trouve à proximité de la racine des plantes et s'adsorbe directement à la surface de celle-ci en traversant efficacement la bicouche lipidique cellulaire.

Tel que démontré lors de la pré-expérimentation avec les laitues, on observe un gradient de la distribution de l'huile en profondeur. Cette situation s'explique en partie par la forte capacité de rétention d'eau du sol ainsi que par les affinités entre l'huile Voltesso et le contenu en MOT élevé du sol. Ainsi, la racine de la plante n'est pas exposée à la même quantité de HP suivant la profondeur du pot ; le taux de transfert ou d'absorption potentiel n'est probablement pas le même suivant la profondeur de la racine et la durée d'exposition.

Par ailleurs, la quantité d'un contaminant pouvant atteindre une structure morphologique donnée dépend entre autre du taux de circulation dans la plante et de la composition spécifique qui varient selon l'espèce (Chiou *et al.*, 2001).

Le texte qui suit discute des principaux résultats obtenus pour les différentes espèces testées.

5.4 Potentiel de bioconcentration de la laitue

Dans le but de voir un effet phytotoxique sur les laitues, de grandes quantités d'huile par rapport à la grosseur des pots ont été vaporisées sur le sol ou sur les feuilles. Ainsi, les concentrations en HP C₁₀-C₅₀ extraites des sols de laitue dépassent largement le critère C de la politique du MENV pour tous les niveaux et les durées d'exposition. Ces concentrations élevées dans les sols n'ont eu aucun effet phytotoxique ou sur le rendement de croissance des plantes. Par contre, sur les échantillons contaminés directement sur les feuilles, des points de nécrose ont été observés après 9 jours de contamination.

Lors de la phase expérimentale de l'étude, les concentrations en HP C₁₀-C₅₀ extraits des sols d'échantillons de laitue étaient directement proportionnelles à la quantité d'huile déversée et constantes avec le temps peu importe le média d'exposition (sol ou feuille). La concentration moyenne en HP C₁₀-C₅₀ extraits des sols est de 11 000 mg/kg de sol poids sec pour les échantillons C⁻ (15 mL) et de 32 000 mg/kg de sol poids sec pour les échantillons C⁺ (40 mL).

De plus, les proportions des différentes fractions quantifiées étaient en général constantes avec les niveaux et les durées d'exposition. La proportion moyenne (n = 24) de la fraction F2 du CCME des échantillons contaminés est de 23% et donc comparable à celle de l'huile (24%).

La fraction aliphatique totale déterminée par la méthode du TPHCWG est supérieure à celle retrouvée dans l'huile (92% vs 82%). Ainsi, il est possible que les micro-organismes du sol métabolisent plus facilement les composés aromatiques, élevant ainsi la proportion des composés aliphatiques. De plus, l'extraction des composés aromatiques peut être moins efficace avec le temps de séjour dans le sol en raison de la grande affinité de ces derniers avec la matière organique ou par phénomène de séquestration. En effet, plusieurs études ont démontré l'évidence de la séquestration des composés organiques non ioniques dans le sol avec le temps (Northcott et Jones, 2001) qui amène une diminution de l'extractibilité et de la biodisponibilité du contaminant pour les microorganismes.

Pour les échantillons contaminés au niveau du sol, les concentrations retrouvées dans les tissus semblent diminuer avec la durée d'exposition avec des valeurs variant entre 180 et 1300 mg/kg de tissus poids sec pour les échantillons C⁻ (15 mL) et entre 570 et 2100 mg/kg de tissus poids sec pour les échantillons C⁺ (40 mL). Cependant, la variabilité des résultats obtenus et le faible effectif n'ont pas permis de confirmer cette tendance statistiquement.

Le fractionnement selon la méthode du CCME des HP extraits des feuilles de laitue contaminées au niveau du sol donne des proportions similaires à l'huile avec une moyenne de la fraction F2 de 21% pour les échantillons C⁻ et 19% pour les échantillons C⁺. Ainsi, selon cette méthode, les feuilles de laitue ne semblent pas avoir bioconcentré une fraction spécifique d'HP.

Aucune investigation n'a pu être effectuée pour les fractions du TPHCWG en raison des concentrations tissulaires près des limites de détection imposées par la méthode.

Les FBC observés pour la laitue sont très faibles considérant les volumes d'huile déversés sur le sol avec des valeurs moyennes oscillant entre 0,02 et 0,11 à 24 heures, entre 0,01 et 0,07 à 5 jours et entre 0,01 et 0,04 à 9 jours d'exposition. Ainsi, les FBC sont demeurés constants avec le niveau d'exposition, c'est-à-dire que l'accumulation des HP C₁₀-C₅₀ n'a pas atteint de plateau dans les conditions

utilisées et augmente proportionnellement avec la concentration dans le sol. Par contre, les FBC des laitues semblent diminuer avec la durée d'exposition. Cependant, les écart-types élevés et le faible effectif (manque de puissance) obtenus sur les mesures ne permettent pas de confirmer cette tendance statistiquement.

Kipopoulou *et al.* (1999) ont évalué le FBC des feuilles de laitue poussant dans un sol contaminé aux HAP. Ils ont obtenu des FBC plus élevés pour les HAP du poids moléculaires plus faibles, et donc plus hydrophiles et plus volatiles. La valeur moyenne des BFC pour les 13 congénères analysés est de 2,23. Cependant, le sol utilisé lors de l'étude à une teneur en MOT de 2%, favorisant la bioconcentration par les plantes.

En ce qui concerne les tissus des échantillons contaminés directement sur les feuilles, la quantité d'HP extraite augmente avec le niveau de contamination et diminue avec la durée d'exposition avec des valeurs variant entre 200 000 et 430 000 mg/kg de tissus poids sec pour les échantillons C⁻ et entre 380 000 et 750 000 mg/kg de tissus poids sec pour les échantillons C⁺. Cette diminution temporelle de la quantité d'HP extraite des laitues peut être causée par leur adsorption aux cuticules membranaires des feuilles. En effet, la partie cireuse retrouvée sur la surface des feuilles peut solubiliser les composés lipophiliques et les retenir par des liaisons covalentes de types Van der Waals (Fismes *et al.*, 2002).

Le fractionnement selon le CCME a démontré une diminution temporelle de la fraction F2 pour les deux niveaux d'exposition avec une proportion moyenne (n = 12) de 20% à 24 heures et 12% à 9 jours. Cette diminution peut être causée par la volatilisation ou le métabolisme favorisés pour les composés de poids moléculaires plus faibles.

L'extraction semble avoir été moins efficace pour les composés aromatiques. En effet, le fractionnement selon le TPHCWG démontre une proportion moins élevée des composés aromatiques par rapport à celle retrouvée dans l'huile (8 vs 18%).

Cette proportion n'a pas varié avec le niveau ou la durée d'exposition. Cette diminution de la quantité d'HP aromatique retrouvée dans les feuilles de laitue peut s'expliquer par le métabolisme favorisé pour les composés de faible masse moléculaire ou par leur adsorption par rétention ou pénétration à travers les cuticules cireuses des feuilles.

Le FBC n'a pas été calculé pour les échantillons contaminés directement sur les tissus. En effet, les HP associés spécifiquement au transport des racines aux feuilles à partir du sol ne peuvent être quantifiés dans ce contexte. Par conséquent, on peut poser l'hypothèse que dans le cas d'une exposition directe des feuilles à l'huile, les résultats précédant laissent présumer une possibilité de bioconcentration via les cuticules des feuilles.

L'effet du lavage au savon doux des feuilles contaminées directement a permis de réduire la quantité d'HP C₁₀-C₅₀ extraite des échantillons C⁻ de 40% à 24 heures et de 33% à 9 jours. Pour les échantillons C⁺, la même méthode de lavage a permis de réduire la concentration de 16% à 24 heures et aucune diminution n'a été observée à 9 jours. Ainsi, on peut conclure que le lavage est plus efficace pour les échantillons les moins contaminés et avec une courte durée d'exposition. Encore une fois, on remarque une absorption des composés sur la cuticule avec le temps.

5.5 Potentiel de bioconcentration de la carotte

Précisons tout d'abord qu'au niveau de l'analyse des échantillons de sols réalisée lors de la phase expérimentale avec les carottes, la concentration en HP C₁₀-C₅₀ mesurée dans ce média est directement proportionnelle à la quantité d'huile ajoutée. Cependant, on remarque une diminution temporelle des quantités de HP dans le sol entre 1 et 21 jours. Ce résultat pourrait être lié à un processus de dégradation des HP par des microorganismes, laquelle conduit généralement à la production de composés moins toxiques et moins persistants dans l'environnement comme des alcools, des acides, du dioxyde de carbone et de

l'eau (Eweis *et al.*, 1998). Cette dégradation peut s'effectuer dans la plante elle-même, mais le plus souvent, elle est réalisée au niveau de la rhizosphère par les microorganismes du sol dont la présence et l'activité sont étroitement associées à la plante (Miya et Firestone, 2001). Ainsi, les concentrations moyennes ($n = 6$) d'HP C_{10} - C_{50} extraites des sols pour la carotte sont de 2000 mg/kg poids sec pour l'ajout de 10 mL d'huile (C^-), 5600 mg/kg poids sec pour l'ajout de 18 mL d'huile (C^-), 8400 mg/kg poids sec pour l'ajout de 25 mL d'huile (C^+) et 12 000 mg/kg poids sec pour l'ajout de 32 mL d'huile (C^-).

Les proportions moyennes de la fraction F2 du CCME sont constantes avec les niveaux et les durées d'exposition mais légèrement inférieures à celle retrouvée dans l'huile (17 vs 24%). Ainsi, il semble que la dégradation des composés de poids moléculaires plus faibles soit favorisée. Cette diminution peut être causée par la volatilisation des composés de faibles poids moléculaires ou par la dégradation microbienne de ces composés (Schwab *et al.*, 1999).

Le fractionnement selon la méthode du TPHCWG des échantillons de sol de carotte a démontré une augmentation de la proportion de la fraction F6 aromatique (C_{16} - C_{21}) avec la durée d'exposition. Par conséquent, cette augmentation est en accord avec une étude réalisée par Chaîneau *et al.* (1996) sur le devenir des HP dans le cas de l'épandage de déblais de forage à base d'huile sur des sols agricoles. En effet, ces auteurs avaient observé qu'à long terme (720 jours), des populations bactériennes pouvaient métaboliser les composés facilement dégradables mais les composés cycliques récalcitrants demeuraient dans les sols.

Quant aux mesures réalisées dans les tissus de la carotte, les régressions effectuées à partir des concentrations en HP extraites des tissus en fonction de leur concentration dans le sol démontrent que la teneur en HP C_{10} - C_{50} varie proportionnellement en fonction de la concentration dans le sol pour toutes les durées d'exposition testées ($p < 0,05$). De plus, les concentrations retrouvées dans les racines de carotte diminuent significativement avec la durée d'exposition pour les échantillons ayant davantage bioconcentré l'huile (18 et 32 mL). Cette

diminution vient appuyer l'hypothèse d'une dégradation microbienne hautement favorisée par cette espèce (Schwab *et al.*, 1999).

Le fractionnement des HP dans les tissus de carotte a démontré des proportions moyennes des fractions du CCME similaires à celles retrouvées dans l'huile pour les échantillons ayant bioconcentré l'huile (contaminés avec 18, 25 et 32 mL).

Les concentrations retrouvées dans les tissus sont en général sous les limites de détection de la méthode de fractionnement du TPHCWG. Les fractions d'un seul des échantillons ont pu être quantifiées et semblent indiquer une plus grande affinité des tissus de carotte pour les composés aromatiques entre C_{12} et C_{21} comparativement aux proportions de l'huile Voltesso (36 vs 17%). Cependant, aucun échantillon n'a permis de confirmer cette hypothèse. De fait, il est possible que les sous-produits formés lors de la dégradation microbienne soient des molécules plus polaires et aient été accumulés préférentiellement par la carotte. Ces composés plus polaires seraient retenus sur la colonne de gel de silice lors du fractionnement selon le TPHCWG et élueraient avec la fraction aromatique. (Chaîneau *et al.*, 1997).

Par ailleurs, les résultats expérimentaux obtenus pour les carottes (racine) démontrent que le FBC des HP C_{10} - C_{50} varie grandement en fonction des niveaux et des durées d'exposition de la plante avec des valeurs oscillant entre 0 et 0,52. Wild et Jones (1992), lors d'une étude de la bioconcentration de HAP par les carottes, ont remarqué peu de FBC supérieur à 1. Cependant, la bioconcentration était plus importante pour les composés de faibles poids moléculaires et s'effectuait surtout au niveau de la pelure de la carotte. De façon générale, les FBC du cœur de la carotte n'excédaient pas la valeur de FBC représentant une bioconcentration minimale (0,01). Une autre étude évaluant la bioconcentration de HAP notamment par les carottes poussant dans des sols contaminés a démontré un FBC moyen de 0,66 pour 13 congénères pour la racine de carotte (Kipopoulou *et al.*, 1999). Les HAP bioconcentrés étaient principalement des composés de poids moléculaires faibles, donc plus volatiles et hydrophiles.

Malgré le fait que les tests statistiques ne peuvent le prouver, les FBC observés pour la carotte semblent diminuer avec le temps d'exposition, indiquant que la bioconcentration des HP C₁₀-C₅₀ s'effectuerait majoritairement dans les premiers temps suivant la contamination. Les HP C₁₀-C₅₀ sont ensuite dilués lors de la croissance du végétal. Cependant, cette augmentation de la biomasse est en désaccord avec les observations de Chaîneau *et al.* (1997) qui ont réalisé une étude sur la phytotoxicité et la bioconcentration d'huile sur des laitues, de l'orge et du maïs. En effet, ils ont observé une diminution significative de la croissance des végétaux avec la présence d'HP dans le sol à une concentration d'environ 10 000 mg/kg poids sec. Par contre, lors d'une étude effectuée sur des végétaux poussant dans des sols contaminés aux HAP, Fismes *et al.* (2002) n'ont observé aucun effet de la contamination sur le rendement de croissance des plantes.

Pour le niveau d'exposition de 24 heures et de 21 jours, la concentration en HP C₁₀-C₅₀ dans les carottes n'est expliquée qu'à environ 50 % par la concentration en HP C₁₀-C₅₀ dans le sol. On observe cependant des variabilités importantes des essais pour les niveaux d'exposition de 18 mL (C⁻) et de 32 mL (C⁺) pour ces durées d'exposition. Ainsi, pour ces durées, on ne peut présumer que le système (sol-plante) n'est cependant pas à l'équilibre et que certains mouvements de contaminants dans le sol, dans l'eau interstitielle et dans la racine ne sont alors pas constants. L'ensemble des mécanismes liés à l'absorption des HP par les carottes semblent cependant survenir pendant les premiers temps à la suite de l'exposition puisque les concentrations en HP C₁₀-C₅₀ observées après 24 heures d'exposition pour un même niveau d'exposition sont de 1,4 à 6,6 fois plus élevées que pour l'exposition de 21 jours. La diminution de la concentration et du FBC est probablement causée par la dilution liée à l'augmentation de la biomasse, à la diffusion vers les feuilles ou alors au métabolisme de la carotte qui permettrait une dégradation des HP. L'augmentation de la biomasse survenue sur les carottes matures pourrait également être liée au métabolisme de la carotte lié à la contamination en HP dans le sol, d'autant plus qu'une diminution de la concentration en HP C₁₀-C₅₀ dans les sols en fonction du temps a été observée. L'augmentation de la biomasse n'a pas été quantifiée dans la présente expérience.

5.6 Potentiel de bioconcentration de la tomate

En ce qui concerne les tomates, la quantité d'HP extraite des échantillons de sol est directement proportionnelle à la quantité d'huile ajoutée dans les différents pots. De plus, la concentration en HP C₁₀-C₅₀ dans le sol est constante en fonction du temps avec des concentrations moyennes (n = 6) d'HP C₁₀-C₅₀ extraites de 900 mg/kg poids sec pour l'ajout de 10 mL d'huile (C⁻), de 2000 mg/kg poids sec pour l'ajout de 20 mL d'huile (C⁻), de 5000 mg/kg poids sec pour l'ajout de 35 mL d'huile (C⁺) et de 10 000 mg/kg poids sec pour l'ajout de 50 mL d'huile (C⁺).

Le fractionnement selon le CCME des sols de tomate contaminés a démontré une diminution de la fraction F2 par rapport à celle retrouvée dans l'huile (moyenne de 12% vs 24%), possiblement causée par la volatilisation ou la dégradation accrue des composés avec des longueurs de chaîne plus courte.

La principale différence observée lors de la quantification des fractions du TPHCWG des sols de tomate avec l'huile est la diminution de la proportion des composés aliphatiques entre C₁₀ et C₁₆ (F4 et F5) (11% vs 20% pour l'huile). Encore une fois, ces résultats viennent confirmer la volatilisation et la dégradation favorisées pour les composés avec des chaînes hydrocarbonées plus courtes.

En ce qui concerne les tissus de tomate, les extractions des C₁₀-C₅₀ des échantillons contaminés avec 35 mL d'huile et moins ont démontré des concentrations similaires aux témoins. En effet, la moyenne en HP C₁₀-C₅₀ de ces échantillons est de 110 mg/kg de tissus poids sec tandis que la moyenne pour les témoins est de 120 mg/kg de tissus poids sec. Par contre, les tissus des échantillons avec le niveau de contamination le plus élevé (50 mL) ont accumulé une petite quantité d'HP avec une concentration moyenne de 270 mg/kg de tissus poids sec.

Par ailleurs, les FBC obtenus à partir des concentrations d'HP C₁₀-C₅₀ par les tomates et dans le sol sont très faibles avec des valeurs de bioconcentration situées entre 0,01 et 0,05. Les FBC obtenus ne varient pas dans le temps. À notre connaissance, aucune étude tentant d'évaluer le potentiel de bioconcentration des tomates a été réalisée à ce jour. Cependant, il est évident que le FBC moyen obtenu est équivalent à la valeur minimale de bioconcentration (0,01) selon différents auteurs (Wild et Jones, 1992 ; Kipopoulou *et al.*, 1999). Ces résultats concordent avec ceux obtenus par Frick *et al.* (1999) qui ont démontré que la concentration en HP dans les plantes liée à une contamination par de l'huile du sol est minime, surtout au niveau de la tige et des feuilles.

L'effet du lavage de fruits contaminés directement à l'huile a également été évalué. Des résultats similaires à ceux obtenus suite au lavage des feuilles de laitue ont été observés. Ainsi, le lavage à 24 heures suivant la contamination a permis de réduire de 50 % la teneur en HP C₁₀-C₅₀ tandis qu'aucune diminution de la quantité en HP a été possible après 7 jours d'exposition, signifiant que les composés sont adsorbés à la membrane possiblement par des liaisons de Van der Waals (Fimes *et al.*, 2002).

5.7 Comparaison interespèce

La bioconcentration des HP observée plus élevée pour la carotte que pour la tomate et la laitue peut s'expliquer par son contenu lipidique supérieur (Schwab *et al.*, 1998 ; Fimes *et al.*, 2002). En effet, Chiou *et al.* (2001) ont observé que les contaminants hydrophobes ont tendance à se loger dans les parties lipidiques de la plante. Ainsi, peu de mouvement de l'huile Voltesso a été observé et le potentiel de bioconcentration des HP serait situé davantage au niveau des racines qu'au niveau des fruits et des feuilles.

Fimes *et al.* (2002) ont étudié l'accumulation par les laitues, les patates et les carottes à partir de sols contaminés par 16 congénères de HAP ayant des propriétés physico-chimiques (K_{ow} , solubilité, pression de vapeur) comparables

aux HP de l'huile Voltesso. Ils ont détecté des HAP dans tous les tissus analysés mais avec des concentrations très faibles compte tenu des teneurs retrouvées dans les sols. Ils ont conclu que la concentration dans les végétaux augmentait avec la concentration dans le sol. Plus spécifiquement, ils ont découvert que le principal mécanisme d'absorption des HAP de poids moléculaire élevé tels que les composés s'apparentant à la fraction F3 du CCME s'effectuait au niveau des racines. À l'opposé, les HAP de faibles poids moléculaires tels que les HP dans l'intervalle de la fraction F2 du CCME étaient préférentiellement accumulés par les feuilles dans l'atmosphère aussi bien que par transport par évapotranspiration à partir des racines. Kipopoulou *et al.* (1999), qui ont évalué la bioconcentration de HAP par différents légumes dont la carotte et la laitue, ont également observé l'accumulation des 16 congénères à des niveaux très bas. Par contre, ils ont conclu que les HAP de faibles poids moléculaires étaient prédominant à la fois dans les feuilles et dans les racines.

Lors de la présente étude, la caractérisation des fractions contenues dans les feuilles de laitue confirme les observations de ces deux études. En effet, on retrouve la concentration des composés aliphatiques entre C_{12} et C_{16} en proportion plus élevée comparativement à celle retrouvée dans l'huile Voltesso. Les HP de faible poids moléculaire seraient donc plus facilement transportés de la racine jusqu'aux feuilles. Le fractionnement selon la méthode du TPHCWG effectué avec les racines de carotte semble également confirmer à la fois les observations de Fimes *et al.* (2002) et de Kipopoulou *et al.*, (1999). Ainsi, la proportion des composés aromatiques entre C_{12} et C_{21} plus élevée pour les tissus de carotte par rapport à l'huile peut indiquer une adsorption importante aux tissus racinaires hautement lipidiques. Par le fait même, le mécanisme d'absorption des HP au niveau de la racine aurait une affinité plus élevée pour les composés aromatiques. Cependant, il est à noter qu'une seule mesure de ces fractions a pu être acheminée.

Malgré le fait que les HP ont été détectés dans les racines de carotte et dans les feuilles de laitue dans des concentrations faibles mais directement proportionnelles à la concentration dans le sol, il est évident que les végétaux

peuvent pousser dans des sols hautement contaminés en HP sans effet dommageable sur la croissance et sans aucun signe de phytotoxicité.

6 CONCLUSION

En conclusion, cette étude a permis de quantifier le potentiel de bioconcentration de l'huile Voltesso par les feuilles de laitue, les racines de carottes et les fruits de tomate pour des durées d'exposition variables et des niveaux de contamination correspondant aux critères génériques du MENV pour les HP. Cette étude a également permis de mieux comprendre le comportement de l'huile Voltesso qui est un mélange complexe de milliers de composés dans l'environnement.

Suite à une décision prise lors d'une rencontre, les laitues ont été contaminées selon deux niveaux d'exposition au-delà du critère C du MENV ($> 10\,000$ mg/kg). Malgré ce fait, les échantillons contaminés sur le sol ont démontré des facteurs de bioconcentration très faibles, même près de la valeur minimale établie par plusieurs auteurs (0,01). Les facteurs de bioconcentration étaient également constants avec le niveau d'exposition. Ainsi, on peut extrapoler que la quantité d'HP bioconcentrée par les feuilles de laitue serait encore plus faible pour un niveau de contamination inférieur au critère C. Par contre, les tissus des échantillons contaminés sur les feuilles avec les niveaux d'exposition supérieurs au critère C ont démontré des signes apparents de dégradation. Il est cependant difficile de prévoir l'apparence physique des tissus pour un niveau de contamination inférieur. L'évaluation de l'effet du lavage des feuilles contaminées sur les tissus avec un savon doux a permis de réduire la quantité d'huile présente d'environ 40% 24 heures suivant la contamination. Par contre, le lavage des tissus n'était plus efficace après 9 jours d'exposition à l'huile, suggérant une absorption des HP par les cuticules des feuilles.

La carotte est une espèce racinaire avec une teneur lipidique élevée, elle possède donc un potentiel de bioconcentration des HP plus élevé. Les échantillons de carotte ont été contaminés uniquement au niveau du sol avec deux niveaux d'exposition compris entre les critères B-C du MENV et deux niveaux d'exposition au-delà du critère C du MENV. Une augmentation de la quantité d'HP a été observée pour tous les niveaux testés. De façon générale, les

quantités extraites des tissus de carotte étaient directement proportionnelles à la quantité d'huile déversée. Ainsi, même dans le cas d'une contamination faible, la carotte risque de bioconcentrer une fraction de l'huile déversée. Cependant, les teneurs retrouvées dans les tissus de carotte ont diminué avec la durée d'exposition pour atteindre des niveaux similaires aux échantillons témoins après 21 jours.

D'après les résultats obtenus, la carotte, avec son système racinaire hautement lipidique et sa flore rhizosphérique favorisant la dégradation, serait une espèce maraîchère à envisager dans une optique de phytoremédiation d'un site contaminé aux HP. Il serait donc intéressant de vérifier éventuellement cette hypothèse et d'évaluer la possibilité de replanter suite à la décontamination. Il serait également intéressant de vérifier jusqu'à quel point la diminution de la concentration observée dans la carotte est due à la dégradation microbienne. Pour ce faire, une étude exhaustive sur les changements de la biomasse de la carotte en fonction du temps d'exposition au contaminant pourrait être réalisée afin de quantifier l'apport de la dilution due à la croissance du végétal.

En ce qui concerne les tomates, les échantillons ont été contaminés sur le sol avec deux niveaux d'exposition compris entre les critères B-C du MENV et deux niveaux d'exposition au-delà du critère C du MENV. La quantification des HP dans les fruits n'a démontré aucune accumulation de l'huile pour tous les niveaux et durées d'exposition testés. Ainsi, un plant de tomate poussant dans un sol hautement contaminé ne devrait pas accumuler d'HP dans ses fruits. Le lavage au savon doux de tomates contaminées directement à l'huile s'est avéré efficace 24 heures suivant la contamination en réduisant la quantité des HP présents d'environ 45%. Cependant, le lavage n'était plus efficace 7 jours suivant la contamination. Ainsi, dans le cas d'une contamination directe d'huile sur la tomate, on peut s'attendre à une absorption d'HP par le fruit.

Afin de confirmer les résultats obtenus lors de la présente étude, il serait nécessaire d'augmenter la puissance de l'étude en effectuant plus d'échantillon pour un même niveau de contamination. De plus, une étude permettant de

répéter l'expérience en analysant toutes les parties de chacune des espèces (racines, feuilles, tiges et fruits) poussant dans un sol contaminé à l'huile Voltesso permettrait de mieux caractériser les mécanismes d'absorption de ce contaminant par ces espèces. La comparaison de la bioconcentration de la carotte avec une autre espèce ayant la racine comme partie comestible mais avec un contenu lipidique moins élevé tel que le radis permettrait également d'étudier cet aspect. Finalement, il serait intéressant de quantifier l'absorption des HP par les tomates suite à une contamination directement sur le fruit.

7 BIBLIOGRAPHIE

- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ASTDR). 1999. Toxicological Profile for Total Petroleum Hydrocarbons (TPH). Department of Health and Human Services. Research Triangle Institute. Atlanta, GA.
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ASTDR). 1995. Toxicological Profile for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHS). Department of Health and Human Services. Research Triangle Institute. Atlanta, GA.
- Anderson, T.A., E.A. Guthrie et B.T. Walton. 1993. Bioremediation in the Rhizosphere. *Environmental Science and Technology*. 27 : 2630-2636.
- Atlantic Partnership in RBCA Implementation (Atlantic PIRI). 1999. Reference Documentation for Petroleum Impacted Sites. Version 1.0, April 1999.
- Brady, N.C. 1996. *The Nature and Properties of Soils*, 10^e edition, Macmillan Publishing Company, New York, pp. 1-21.
- Canadian Council of Ministers of the Environment (CCME). 2000a. Canada-Wide Standard for Petroleum Hydrocarbons (PHC) in Soil. Supporting Technical Supplement. Canadian Council of Ministers of the Environment, Winnipeg, December 2000.
- Canadian Council of Ministers of the Environment (CCME). 2000b. Reference Method for the Canada Wide Standard for Petroleum Hydrocarbons in Soil – Tier 1 Method. Revision 5.0, for Draft CWS PHC Agreement. CCME.
- Canadian Council of Ministers of the Environment (CCME). 2000c. Canada Wide Standards for Petroleum Hydrocarbons in Soils: Guidance on Implementation Framework. CCME.
- Chaîneau, C.H., J.L. Morel et J. Oudot. 1996. Land Treatment of Oil-Based Drill Cuttings in an Agricultural Soil. *Journal of Environmental Quality*. 25: 858-867.
- Chaîneau, C.H., J.L. Morel et J. Oudot. 1997. Phytotoxicity and Plant Uptake of Fuel Oil Hydrocarbons. *Journal of Environmental Quality*. 26: 1478-1483.
- Chiou, C.T., G. Sheng et M. Manes. 2001. A Partition-Limited Model for the Plant Uptake of Organic Contaminants from Soil and Water. *Environmental Science & Technology*. 35 : 1437-1444.
- Conseil canadien des ministres de l'environnement (CCME). 1999. Deuxième atelier du CCME sur l'élaboration de standards pancanadiens relatifs aux hydrocarbures pétroliers dans le sol. Rapport final. 33 p.

- Cunningham, S.D., T.A. Anderson, A.P. Schwab et F.C. Hsu. 1996. Phytoremediation of Soils Contaminated with Organic Pollutants. *Advances in Agronomy*. 56: 55-114.
- Edwards, D.A., M.D. Androit, M.A. Amoruso, A.C. Tummey, C.J. Bevan, A. Tveit, L.A. Hayes, S.H. Yongren et D.V. Nakles. 1997. Development of Fraction Specific Reference Doses (RfDs) and Reference Concentrations (RfCs) for Total Petroleum Hydrocarbons (TPH). Volume 4 of the Total Petroleum Hydrocarbon Criteria Working Group Series, Amherst Scientific Publishers, Amherst, MA. 137 p.
- Eweiss, J.B., S.J. Ergas, D.P.Y. Chang et E.D. Schroeder. 1998. *Bioremediation Principles*. McGraw-Hill Inc. Toronto.
- Ferro, A., J. Kennedy, W. Doucette, S. Nelson, G. Jauregui, B. McFarland et B. Bugbee. 1997. Fate of Benzene in Soils Planted with Alfalfa: Uptake, Volatilization and Degradation. *Photoremediation of Soils and Water Contaminants*. Chapitre 16. American Chemical Society, Washington D.C.. ACS Symposium Series. 664: 223-237.
- Fismes, J., C. Perrin-Ganier, P. Empereur-Bissonnet et J.L. Morel. 2002. Soil-to-Root Transfert and Translocation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by Vegetable Grown on Industrial Contaminated Soils. *Journal of Environmental Quality*. 31: 1649-1656.
- Frick, C.M., R.E. Farrell et J.J. Germida. 1999. Assessment of Phytoremediation as an in-situ Technique for Cleaning Oil-Contaminated Sites. Report submitted to Petroleum Technology Alliance of Canada, Calgary, AB. 82 p.
- Gobas, F.A.P.C., J.B. Wilcockson, R.W. Russell, and G.D. Haffner. 1999. Mechanisms of biomagnification in fish under laboratory and field conditions. *Environmental Science and Technology* 33: 133-141.
- Gustafson, J.G., J. G. Tell et D. Orem. 1997. Selection of Representative TPH Fractions Based on Fate and Transport Considerations. Volume 3 of the Total Petroleum Hydrocarbon Criteria Working Group Series, Amherst Scientific Publishers, Amherst, MA. 102 p.
- Hatsy et Revesz. 1995. Total Petroleum Hydrocarbon Determination by Microwave Solvent Extraction. *American Laboratory* 27 (4), pp. 66-72.
- Hendershot, W.H., H. Lalonde, and M. Duquette. 1993. Soil reaction and exchangeable acidity. In M. R. Carter, ed. *Soil sampling and methods of analysis*. Lewis Publishers, Boca Raton, Florida, USA, p. 141-145.
- Hendershot, W.H., H. Lalonde, and M. Duquette. 1993. Ion exchange and exchangeable cations. In M. R. Carter, ed. *Soil sampling and methods of analysis*. Lewis Publisher, Boca Raton, Florida, USA, p. 167-175.

- Hydro-Québec. 2001. Base de données OUPS. Unité Environnement.
- Hydrotec inc. (1982). Infiltration des hydrocarbures dans le sol. Vice-présidence Environnement-Hydro-Québec. 67p. + annexes
- Kipopoulou, A.M., E. Manoli et C. Samara. 1999. Bioconcentration of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Vegetables Grown in an Industrial Area. *Environmental Pollution*. 106 : 360-380.
- Lamarre, C. et A. Gendron. 1995. Analyse des contaminants HAP dans les huiles isolantes de transformateurs. Vice-présidence Technologies, IREQ : Montréal.
- Manahan, S.E. 1999. *Environmental Chemistry*, seventh edition, Lewis Publishers, 898 p.
- Massachusetts Department of Environmental Protection (MADEP). 1994. Interim Final Petroleum Report: Development of Health-Based Alternatives to the Total Petroleum Hydrocarbon (TPH) Parameter, MADEP: Boston, MA.
- Méthy, M., D. Gillon, et C. Houssard. 1997. Temperature-Induced Changes of Photosystem II Activity in *Quercus ilex* and *Pinus halepensis*. *Can. J. For. Res.* 27, pp. 31-38.
- Miya, R.K. et M.K. Firestone. 2001. Enhanced Phenanthrene Biodegradation in Soil by Slender Oat Root Exudates and Root Debris. *Journal of Environmental Quality*. 30: 1911-1918.
- Northcott, G.L. et K.C. Jones. 2001. Partitioning, Extractibility, and Formation of Nonextractable PAH Residues in Soil. 1. Compound Differences in Aging and Sequestration. *Environmental Science & Technology*. 35: 1103-1110.
- OECD. 2000. Guideline for the Testing of Proposal for New Guideline. Earthworm Reproduction Test. Paris, France, 13.
- Otten, A., A. Alphenaar, C. Pijls, F. Spuij et H. de Wit. 1997. *In situ Soil Remediation*. Kluwer Academic Publishers. Boston.
- Paterson, S. et D. Mackay. 1994. A Model of Chemical Uptake by Plants from Soil and the Atmosphere. *Environmental Science & Technology*. 28 : 2259-2266.
- Potter, T.L. et K. E. Simmons. 1998. *Composition of Petroleum Mixtures. Volume 2 of the Total Petroleum Hydrocarbon Criteria Working Group Series*, Amherst Scientific Publishers, Amherst, MA. 102 p.
- QSAR inc. 2001. Modélisation du devenir de l'huile minérale isolante Voltesso 35 dans le sol, Service d'analyse de risque QSAR inc. pour Hydro-Québec : Montréal 15 p. + annexe.

- Riis, V., M. Stimming, D. Miethe et W. Babel. 1996. Investigation into the Toxicity of Persistent Fraction of Mineral Oils. *Chemosphere*, 32 : 1435-1443.
- Ryan, J.A., R.M. Bell, J.M. Davidson et G.A. O'Connor. 1988. Plant Uptake of Non-Ionic Organic Chemicals from Soils. *Chemosphere*. 2299-3023.
- Saterbak, A., R.J. Toy, C.L. Wong, B.J. McCain, M.P. Williams, P.B. Dorn, L.P. Brzuzy, E.Y. Chai et J.P. Salanitro. 1999. Ecotoxicological and Analytical Assessment of Hydrocarbon-Contaminated Soils and Application to Ecological Risk Assessment. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 18: 1591-1607.
- Schnoor, J.L., L.A. Licht, S.C. McCutcheon, N.L. Wolfe et L.H. Carreira. 1995. Phytoremediation of Organic and Nutrient Contaminants. *Environmental Science and Technology*. 29: 318-323.
- Schwab, A.P., A.A. Al-Assi et M.K. Banks. 1998. Adsorption of Naphtalene onto Plant Roots. *Journal of Environmental Quality*. 27: 220-224.
- Sheldrick, B.H. et C. Wang. 1995. Data Quality Report and Compilation of Data for ECSS Reference Soil Samples. 2nd Edition, 1995.
- Siciliano, S.D. et J.J. Germida. 1998. Mechanisms of Phytoremediation : Biochemical and Ecological Interactions Between Plants and Bacteria. *Environmental Review*. 6: 65-79.
- Simonich, S.L. et R.A. Hites. 1995. Organic Pollutant Accumulation in Vegetation. *Environ. Sci. Technol.* 29: 2905-2914.
- Sung, K. M.Y. Corapcioglu, M.C. Drew et C.L. Munster. 2001. Plant Contamination by Organic Pollutants in Phytoremediation. *Journal of Environmental Quality*. 30: 2081-2090.
- Trapp, S., M. Matthies, I. Scheunert et E.M. Topp. 1990. Modeling the Bioconcentration of Organic Chemicals in Plants. *Environmental Science and Technology*. 24: 1246-1252.
- Tiessen et Moir. 1993. Total and Organic Carbon. In M. R. Carter, ed. *Soil Sampling and Methods of Analysis*. Lewis Publishers, Boca Raton, Florida, USA, p. 187-198.
- Total Petroleum Hydrocarbon Criteria Working Group (TPHCWG). 1999. Human Health Risk-Based Evaluation of Petroleum Release Sites: Implementing the Working Group Approach. Amherst, MA: Amherst Scientific Publishers. Volume 1 à 5.
- Total Petroleum Hydrocarbon Criteria Working Group (TPHCWG). 1998. Characterization of C₆ to C₃₅ Petroleum Hydrocarbons in Environmental Samples. Revision 5.1.

- VanLoon et Duffy. 2000. *Environmental Chemistry, a Global Perspective*, Oxford, p. 244.
- Wang, T., J. Xiujuan et J. Wu. 2003. Direct Determination of Metals in Organics by Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry in Aqueous Matrices. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 33: 636-646.
- Weisman, W. (Ed.). 1998. *Analysis of Petroleum Hydrocarbons in Environmental Media. Volume 1 of the Total Petroleum Hydrocarbon Criteria Working Group Series*, Amherst Scientific Publishers, Amherst, MA. 98 p.
- Wild, S.R. et K.C. Jones. 1992. Polynuclear Aromatic Hydrocarbon Uptake by Carrots Grown in Sludge-Amended Soil. *Journal of Environmental Quality*. 21: 271-225.

