

APPLICATION DE LA SPECTROSCOPIE DE FLUORESCENCE À L'ÉTUDE DU PÉTROLE : LE DÉFI DE LA COMPLEXITÉ

G. ELLINGSEN et S. FERY-FORGUES

Université Paul Sabatier¹

Grâce à sa sensibilité et à sa sélectivité, la spectroscopie de fluorescence est de plus en plus employée dans l'étude du pétrole. Dans un premier temps, les principes fondamentaux de cette technique sont rappelés, en mettant l'accent sur les difficultés inhérentes à la complexité du milieu et sur les développements récents comme la spectroscopie de fluorescence par excitation synchrone et la détection à distance. Par la suite, les principaux domaines d'application de la fluorescence à la technologie du pétrole sont successivement passés en revue, en particulier la détection de la pollution, la caractérisation rapide des bruts, l'information pour l'exploration et le forage, et enfin l'analyse fine des constituants. Les réactifs fluorogéniques ne sont utilisés qu'après minéralisation de l'échantillon et essentiellement pour détecter les traces de métaux.

APPLICATION OF FLUORESCENCE SPECTROSCOPY TO THE STUDY OF PETROLEUM: CHALLENGING COMPLEXITY

Due to its sensitivity and selectivity, fluorescence spectroscopy is increasingly used in petroleum technology. Firstly, the fundamentals of fluorescence are briefly presented, emphasizing the many difficulties encountered because of the medium complexity and the recent developments of methods like synchronously excited fluorescence spectroscopy and remote detection. Then, the main application fields are successively reviewed, that is identification of pollutant sources, crude oils fingerprinting, information for drilling and exploration and finally the analysis of petroleum constituents. Fluorogenic reactants are only used for trace metal detection after sample mineralization.

APLICACIÓN DE LA ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCENCIA AL ESTUDIO DEL PETRÓLEO : EL DESAFÍO DE LA COMPLEJIDAD

Gracias a su sensibilidad y a su selectividad, la espectroscopia de fluorescencia es cada vez más empleada para estudiar el petróleo. En una primera parte, los principios fundamentales de esta técnica son rápidamente presentados, insistiendo sobre las dificultades inherentes a un medio tan complejo y sobre los recientes desarrollos como la espectroscopia de fluorescencia por excitación

(1) Laboratoire des interactions moléculaires,
Réactivité chimique et photochimique,
UMR 5623 au CNRS,
118, route de Narbonne,
31062 Toulouse Cedex - France

sincrónica y la detección a distancia. Más lejos, pasamos en revista a los principales campos de aplicación, a saber la detección de la polución, la rápida caracterización de los crudos, la información para la exploración y el horadamiento y por fin el análisis fino de los constituyentes del petróleo. Los reactivos fluorogénicos son empleados solo después de la mineralización de la muestra, para detectar trazas de metales.

INTRODUCTION

Le pétrole provient de la dégradation thermique d'une matière organique fossile, d'origine animale ou végétale, qui a été enfouie lors des temps géologiques. La composition de ce fluide dépend à la fois de la nature de la matière première organique et de l'évolution subie dans les diverses conditions de température et de pression [1] et [2]. Du point de vue chimique, la matrice de base des pétroles est constituée d'hydrocarbures saturés, cyclisés ou non, allant du plus simple au plus ramifié, ce qui donne lieu à un grand nombre d'isomères structuraux. Dans cette matrice sont dissous de nombreux hydrocarbures aromatiques et des molécules polaires incluant des atomes de soufre, d'azote et d'oxygène. On trouve aussi des macromolécules très complexes comme les résines ou les asphaltènes. Enfin, de nombreux métaux à l'état de traces (essentiellement le vanadium et le nickel) souvent complexés aux porphyrines, sont présents dans les fractions lourdes des huiles.

Si ces quatre fractions se retrouvent dans tous les pétroles, il existe des différences importantes dans la proportion relative de ces fractions au sein d'un brut et au niveau de la nature des molécules qui les composent. Ces différences constituent en quelque sorte la carte d'identité de chaque brut.

À l'heure actuelle, on est toujours à la recherche de nouvelles méthodes qui permettraient de caractériser rapidement une huile brute et éventuellement d'étudier en profondeur sa composition chimique. Longtemps utilisée de manière marginale, la spectroscopie de fluorescence est l'une de ces techniques dont le domaine d'applications ne cesse de s'élargir.

Dans cet article, nous nous proposons d'exposer les principes fondamentaux de cette technique mal connue. À travers des exemples simples, nous essaierons de comprendre quelles sont les difficultés liées à l'étude d'un milieu aussi complexe que le pétrole et comment la technique a évolué pour pallier ces difficultés. Dans un second temps, nous passerons en revue les quatre principaux champs d'application de la spectroscopie de fluorescence relatifs à la technologie du pétrole, à savoir :

- la détection de la pollution ;
- la caractérisation rapide des bruts et la classification des pétroles ;
- l'information pour l'exploration et le forage ;
- l'analyse fine des constituants.

Enfin, nous envisagerons l'utilisation de réactifs fluorogéniques destinés à permettre le dosage dans le pétrole de molécules qui n'émettent pas spontanément.

1 PARTIE EXPÉRIMENTALE

Les spectres de fluorescence stationnaire ont été enregistrés sur un spectrofluorimètre Quanta Master 1 de *Photon Technology International (PTI)* et sont corrigés. Les déclins de fluorescence ont été mesurés à l'aide d'un spectrofluorimètre Strobe Master (*PTI*) basé sur la technique stroboscopique.

Dans ce dernier cas, la source excitatrice est une lampe flash remplie d'un mélange azote/hélium 30 : 70. La collecte des données s'effectue sur 300 canaux, à raison de 0,33 ns par canal. L'analyse des déclins est réalisée à l'aide du logiciel fourni par *PTI* (méthode monoexponentielle).

2 PRINCIPE DE LA SPECTROSCOPIE DE FLUORESCENCE

La spectroscopie de fluorescence a une *sensibilité* cent à mille fois plus élevée que celle de la spectroscopie d'absorption (qui trouve déjà de nombreuses applications dans le domaine du pétrole [3]). C'est une méthode optique qui repose sur le principe suivant. L'illumination d'une molécule par une radiation de longueur d'onde appropriée conduit à l'absorption de l'énergie lumineuse par la molécule qui passe ainsi à un état électroniquement excité. Comme cet état est instable, la molécule retourne rapidement à son état fondamental, en restituant l'énergie en excès. Si cette dernière est émise sous forme de lumière et dans un temps très bref (généralement entre 10^{-10} et 10^{-8} s), le phénomène est appelé « fluorescence ».

Pratiquement, dans un spectrofluorimètre, le faisceau incident est une radiation dont on sélectionne la longueur d'onde à l'aide d'un monochromateur et que l'on envoie sur un échantillon. La lumière émise par l'échantillon est recueillie dans une direction perpendiculaire et analysée à l'aide d'un second monochromateur et d'un détecteur approprié. Elle est déplacée vers le rouge par rapport à la lumière excitatrice. Le spectre d'émission dépend de la nature de la molécule

fluorescente et des interactions mises en jeu entre cette molécule et son voisinage. La méthode est donc extrêmement *sélective*, puisque le signal obtenu est caractéristique non seulement d'une molécule, mais aussi de son environnement. Par conséquent, on peut se demander dans quelle mesure la spectroscopie de fluorescence pourra être appliquée à l'étude d'un milieu complexe, contenant un grand nombre de molécules fluorescentes, toutes susceptibles d'entretenir de multiples interactions entre elles et avec leur milieu.

3 LES FLUOROPHORES DU PÉTROLE

3.1 Nature et classification

Pour qu'un composé soit un fluorophore (étymologiquement « porteur de fluorescence »), il faut d'abord qu'il absorbe dans le domaine UV-visible. Cette condition est remplie pour les systèmes d'électron π conjugués, tels qu'on les rencontre dans les molécules polyinsaturées et les aromatiques.

D'autre part, il faut qu'il émette, et pour cela la première condition est de présenter un système carboné relativement rigide, pour que l'énergie absorbée ne soit pas dissipée sous forme de rotations ou de mouvements divers. Voyons plus précisément dans le cas du pétrole quelles sont les molécules susceptibles d'émettre de la fluorescence.

Les hydrocarbures saturés, ou paraffines, sont dépourvus d'électrons π . Ils n'absorbent que dans l'ultraviolet lointain et n'émettent pas. On peut considérer qu'ils servent de solvant pour les molécules fluorescentes. Celles-ci sont essentiellement constituées d'hydrocarbures aromatiques qui présentent à la fois le système électronique conjugué et la rigidité de structure nécessaire pour être fluorescents.

Les cycles aromatiques peuvent être simples ou condensés. De manière générale, la longueur d'onde de la lumière émise est d'autant plus déplacée vers le rouge que le nombre de cycles augmente (fig. 1). Ainsi, le benzène (un seul noyau) émet à partir de 269 nm, le naphthalène (2 noyaux) à partir de 312 nm, le phénanthrène et le pyrène (3 et 4 noyaux) autour de 346 et 372 nm, respectivement, et les composés plus condensés (5 noyaux ou plus) émettent dans le visible, au-dessus de 400 nm.

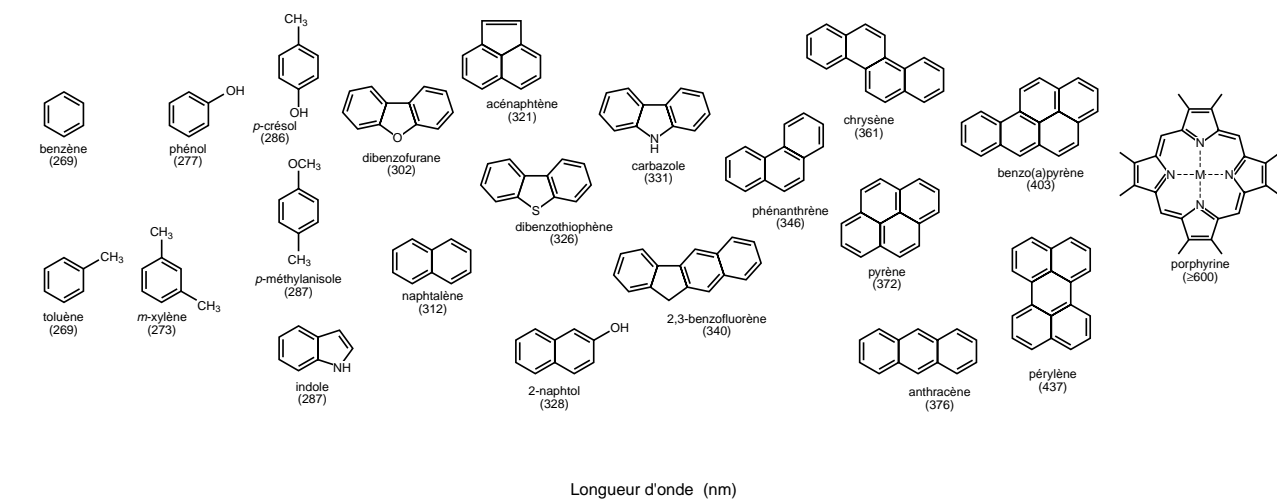


Figure 1

Quelques fluorophores du pétrole et position de la bande 0,0 (en nm) observables en fluorescence par excitation synchrone. D'après [13].

Structure of some fluorophores found in crude oils and corresponding 0.0 peak position (in nm) as observed by synchronous excitation fluorescence. From [13].

La substitution par des groupements alcane ou cycloalcane peut entraîner un léger déplacement du spectre vers le rouge.

Parmi les molécules polaires, on rencontre un certain nombre de composés aromatiques rigides et *a priori* susceptibles d'émettre. Cependant, il est difficile de prévoir les propriétés de fluorescence de ces composés.

En effet, la présence dans le cycle d'un hétéroatome (soufre, azote ou oxygène) porteur d'une paire d'électrons libres introduit des niveaux d'énergie à partir desquels la molécule excitée a plus de chances de se désactiver sur un mode non radiatif (c'est-à-dire sans émission de lumière). C'est le cas par exemple pour le thiophène, la pyridine et le furanne. Par contre, d'autres molécules comme l'indole, la quinoline, le dibenzothiophène et le dibenzofurane sont, elles, fluorescentes.

Enfin, les porphyrines sont des composés très colorés dont beaucoup émettent dans le rouge, au-delà de 600 nm.

3.2 Efficacité de fluorescence : inhibition et réabsorption

L'efficacité du processus de fluorescence (chiffrée par le rendement quantique ϕ = nombre de photons émis/nombre de photons absorbés) est très variable d'une molécule à l'autre. De plus, les propriétés de

fluorescence d'une molécule isolée n'ont rien de comparable avec celles de la même molécule en solution concentrée, où des interactions peuvent avoir lieu avec d'innombrables voisins.

Quand une molécule excitée rencontre une autre molécule, elle peut lui transférer son énergie. La deuxième molécule disperse à son tour cette énergie selon son propre mode de désactivation.

Il se peut aussi que la molécule excitée utilise son énergie pour échanger électrons ou protons avec une autre molécule ou un ion et qu'il n'y ait donc pas émission de lumière. On parle alors d'inhibition de la fluorescence.

Ces processus ont été très bien étudiés dans le pétrole par Mullins *et al.*, en faisant varier la concentration [4] et [5] des échantillons ou la température [6]. En fait, il a été montré que les complexes jouent un rôle important dans les huiles brutes et dans les asphaltènes, même à très basse concentration [7]. Les fluorophores du pétrole sont également très sensibles à la présence d'oxygène [8].

Les processus collisionnels d'inhibition affectent en priorité les molécules qui restent longtemps à l'état excité. Est-ce à dire que seules les molécules à courte durée de vie ont une chance d'être fluorescentes ? Ce serait oublier que la radiation émise peut très bien être réabsorbée par une autre molécule.

Malgré tout, le pétrole brut est très fluorescent. Mais comme on peut s'y attendre, le rendement quantique augmente notablement quand on dilue l'échantillon [9].

4 LES DIFFÉRENTES MÉTHODES DE FLUORESCENCE UTILISÉES DANS L'ÉTUDE DU PÉTROLE

D'un point de vue pratique, on peut effectuer le spectre de fluorescence d'un échantillon de pétrole de deux manières différentes, selon la concentration de ce dernier. Le plus souvent, l'échantillon est dilué dans un solvant de type cyclohexane qui présente l'avantage d'être transparent en UV et de solubiliser la plupart des huiles [10].

L'absorbance à la longueur d'onde d'excitation ne devrait pas excéder 0,05 (dans l'idéal). On procède ensuite de manière classique en utilisant une cuve en quartz placée dans le porte-échantillon du spectrofluorimètre.

On considère alors que la fluorescence provient des molécules situées au centre de la cuve (fig. 2a).

Par contre, pour effectuer le spectre d'une huile brute concentrée, il convient de placer la surface plane de la cuve à un angle proche de 45° (proche mais différent, afin d'éviter la réflexion spéculaire) par rapport au faisceau incident (fig. 2b).

On peut aussi déposer l'échantillon sur une lame recouverte d'une lamelle de quartz et montée comme précédemment.

Dans ce cas, la fluorescence provient des molécules situées près de la surface, l'absorbance de la solution ne permettant pas la propagation du faisceau lumineux plus en profondeur.

4.1 Le spectre d'émission

Différentes méthodes de fluorescence peuvent être utilisées dans les technologies du pétrole [10] et [12]. La plus communément employée par un spectroscopiste consiste à effectuer un spectre d'émission classique. On envoie sur l'échantillon une radiation de longueur d'onde fixe et on analyse la variation de l'intensité de fluorescence en fonction de la longueur d'onde d'émission. On obtient ainsi un spectre en deux dimensions, comme celui présenté sur la figure 3.

Le spectre d'émission d'un produit pur est généralement indépendant de la longueur d'onde d'excitation. Dans le cas de notre échantillon de pétrole brut, on note au contraire que la position et la forme du spectre d'émission varient fortement avec la longueur d'onde d'excitation.

Ce phénomène est attribuable au grand nombre de fluorophores présents dans le milieu, car leurs spectres, aussi bien d'absorption que d'émission, sont différents.

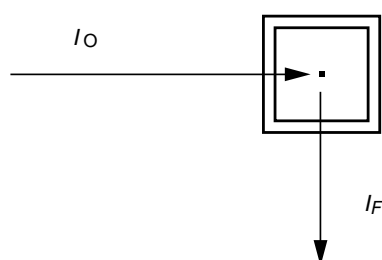


Figure 2a

Position de l'échantillon par rapport au faisceau incident I_0 et au faisceau émis I_F . Cas d'un échantillon dilué mis dans une cuve en quartz.

Geometric arrangements for observation of fluorescence: sample position with respect to the incident light beam I_0 and to the emitted light beam I_F . Dilute sample in a quartz cell.

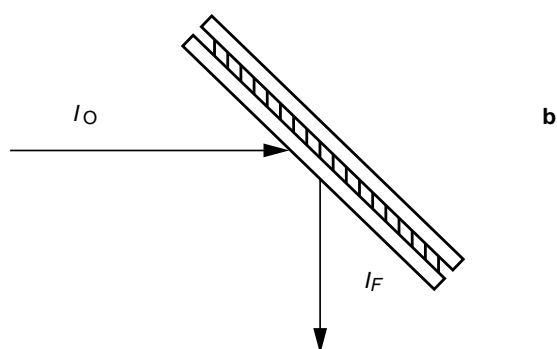


Figure 2b

Position de l'échantillon par rapport au faisceau incident I_0 et au faisceau émis I_F . Cas d'un échantillon concentré placé entre deux lames.

Geometric arrangements for observation of fluorescence: sample position with respect to the incident light beam I_0 and to the emitted light beam I_F . Concentrated sample between two slides.

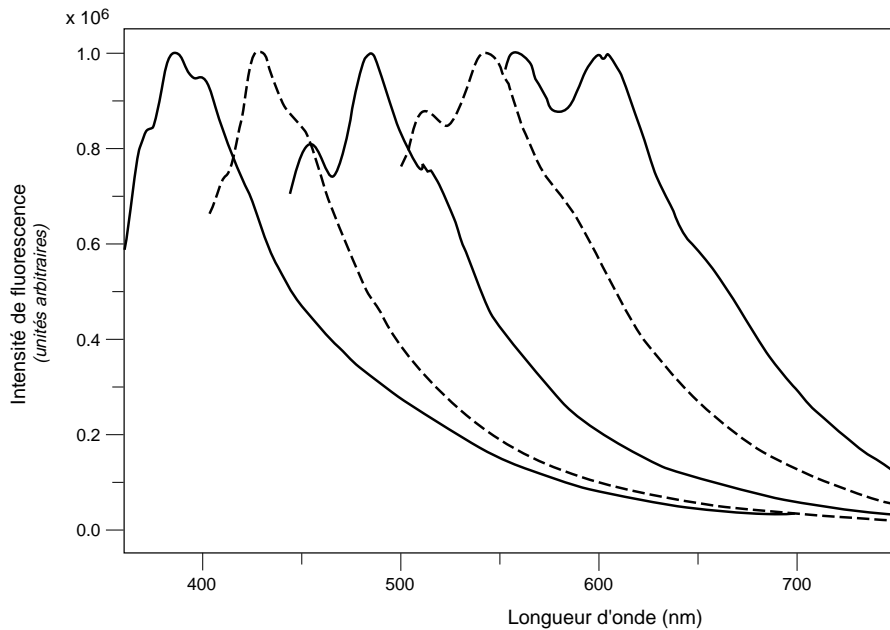


Figure 3

Spectres d'émission normalisés d'un échantillon de pétrole « Statfjord Satelittene » dilué dans du cyclohexane. Absorbance = 0,05 à la longueur d'onde d'excitation (λ_{ex}). De gauche à droite : λ_{ex} = 350, 400, 450, 500 et 550 nm.

Normalized emission spectra of a crude oil sample "Statfjord Satelittene" diluted in cyclohexane. Absorbance = 0.05 at the excitation wavelength (λ_{ex}). From left to right: λ_{ex} = 350, 400, 450, 500 and 550 nm.

4.2 Le spectre d'excitation

Réciproquement, on peut garder fixe la longueur d'onde d'émission et faire défiler la longueur d'onde d'excitation. On obtient alors un spectre d'excitation, qui, pour un produit pur, est généralement très proche du spectre d'absorption et ne varie pas avec la longueur d'onde d'émission.

Dans le cas de notre échantillon d'huile brute (fig. 4), on observe des changements très importants du spectre d'excitation suivant la longueur d'onde d'émission.

Aucun de ces spectres n'est comparable au spectre d'absorption, qui est la somme de tout ce qui absorbe dans l'échantillon et se présente comme un pic intense aux environs de 300 nm, suivi d'une longue queue de bande jusque dans le visible.

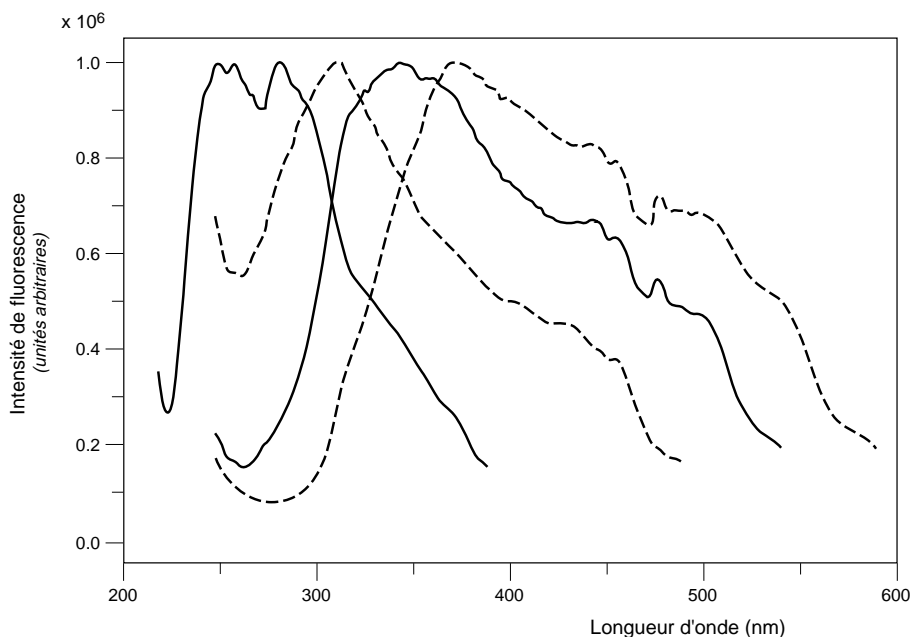


Figure 4

Spectres d'excitation normalisés d'un échantillon de pétrole « Statfjord Satelittene » dilué dans du cyclohexane. De gauche à droite : longueur d'onde d'émission λ_{em} = 400, 500, 550 et 600 nm.

Normalized excitation spectra of a crude oil sample "Statfjord Satelittene" diluted in cyclohexane. From left to right: emission wavelength λ_{em} = 400, 500, 550 and 600 nm.

4.3 La spectroscopie de fluorescence totale

On voit donc que les spectres d'émission et d'excitation classiques d'une huile brute sont la superposition de très nombreux signaux provenant des différents fluorophores. Leur interprétation est donc particulièrement difficile, d'autant qu'on ne peut pas édicter de règles simples pour le choix des longueurs d'onde d'excitation et d'émission. Cela relèverait de l'arbitraire et réduirait l'information disponible.

Cette restriction peut être levée en effectuant un spectre de fluorescence totale. Ceci consiste à enregistrer les spectres d'émission à différentes longueurs d'onde d'excitation, puis à collecter ces données sur un diagramme en 3 dimensions, où l'on porte à la fois la longueur d'onde d'émission, la longueur d'onde d'excitation et l'intensité de fluorescence. Puis les points d'égale intensité sont reliés entre eux comme on le ferait pour des courbes de niveau. On obtient alors une carte de relief très caractéristique de l'échantillon étudié. Cependant, il faut noter que la méthode est lente, laborieuse (elle nécessite entre 20 et 30 spectres d'émission) et que le spectre de fluorescence totale ne peut être obtenu sans le traitement informatique adéquat. Cette méthode est donc peu utilisée dans les mesures de routine qui visent à caractériser rapidement un échantillon.

4.4 La fluorescence par excitation synchrone

En fait, une autre méthode relativement peu employée en spectroscopie classique a permis d'adapter la technique à la complexité du milieu analysé. Il s'agit de la spectroscopie de fluorescence par excitation synchrone. Dans cette méthode, la longueur d'onde d'émission et la longueur d'onde d'excitation varient simultanément, tout en conservant entre elles un décalage constant, $\Delta\lambda$. Pratiquement, on choisit une longueur d'onde d'émission de départ supérieure de 3 à 5 nm à la longueur d'onde d'excitation. Puis les deux monochromateurs se mettent en route et défilent à la même vitesse. Les bandes passantes du spectrofluorimètre sont souvent choisies aussi petites que possible. Mais on peut aussi jouer sur le rapport des deux, en fixant par exemple une petite bande à l'excitation pour que la structure soit bien résolue et une bande plus importante à l'émission pour augmenter la sensibilité [13]. Le spectre obtenu dépend donc à la fois de

l'absorbance du fluorophore et de sa capacité à émettre à $\lambda_{ex} + \Delta\lambda$. Dans la situation de la figure 5a, les longueurs d'onde d'excitation et d'émission sont telles que le produit absorbe mais qu'il émet beaucoup plus loin dans le rouge. Réciproquement, dans la situation de la figure 5c, le produit pourrait émettre, mais il n'absorbe pas l'énergie d'excitation. Donc dans ces deux cas, le signal résultant est nul. Par contre, un signal est obtenu dans la situation de la figure 5b, car le produit absorbe à la longueur d'onde d'excitation choisie et la fluorescence est recueillie dans une zone où l'intensité d'émission est conséquente. Grossièrement, et compte tenu du fait que le décalage $\Delta\lambda$ est petit, le spectre de fluorescence par excitation synchrone correspond à la bande 0,0 du fluorophore, c'est-à-dire à la région où les spectres d'excitation et d'émission se superposent. Ainsi, la plupart des aromatiques peuvent être identifiés par la position du pic, même dans un mélange complexe. La figure 6 rassemble les spectres en excitation synchrone de différents échantillons dilués, correspondant à des pétroles bruts ou à des fractions de pétrole. Ces spectres montrent des pics bien distincts situés autour de 280 nm (benzène, toluène, *p*-crésol, méthylanisole, indole, etc.), 310 nm (naphtalène, méthylnaphtalène, acénaphène, etc.), 340-360 nm (phénanthrène, chrysène, pyrène, anthracène, etc.), 400 et 450 nm (benzo[a]pyrène, perylène, etc.).

La présence des pics atteste de la présence des espèces correspondantes dans l'échantillon mais ne fournit pas d'indication absolue quant à leur concentration. L'estimation peut être faussée parce que chaque espèce a sa propre efficacité de fluorescence et surtout parce que la hauteur relative des pics dépend fortement des conditions expérimentales. Les pics situés à gauche du spectre, correspondant aux aromatiques légers, apparaissent beaucoup plus faibles dans le cas d'un échantillon concentré, et réciproquement. Ceci s'explique par le fait que l'absorbance de l'échantillon est très élevée aux faibles longueurs d'onde, ce qui entraîne en fluorescence un important effet de filtre interne. D'autre part, il ne faut pas oublier que le transfert d'énergie, qui affecte surtout la fluorescence des aromatiques légers, augmente avec la concentration en fluorophores. En conséquence, on se trouve confronté à un problème de normalisation. Si l'objectif est de comparer entre eux divers échantillons, on peut choisir de travailler à une concentration donnée. Mais cette démarche n'a plus beaucoup de sens dès que les échantillons présentent une certaine hétérogénéité.

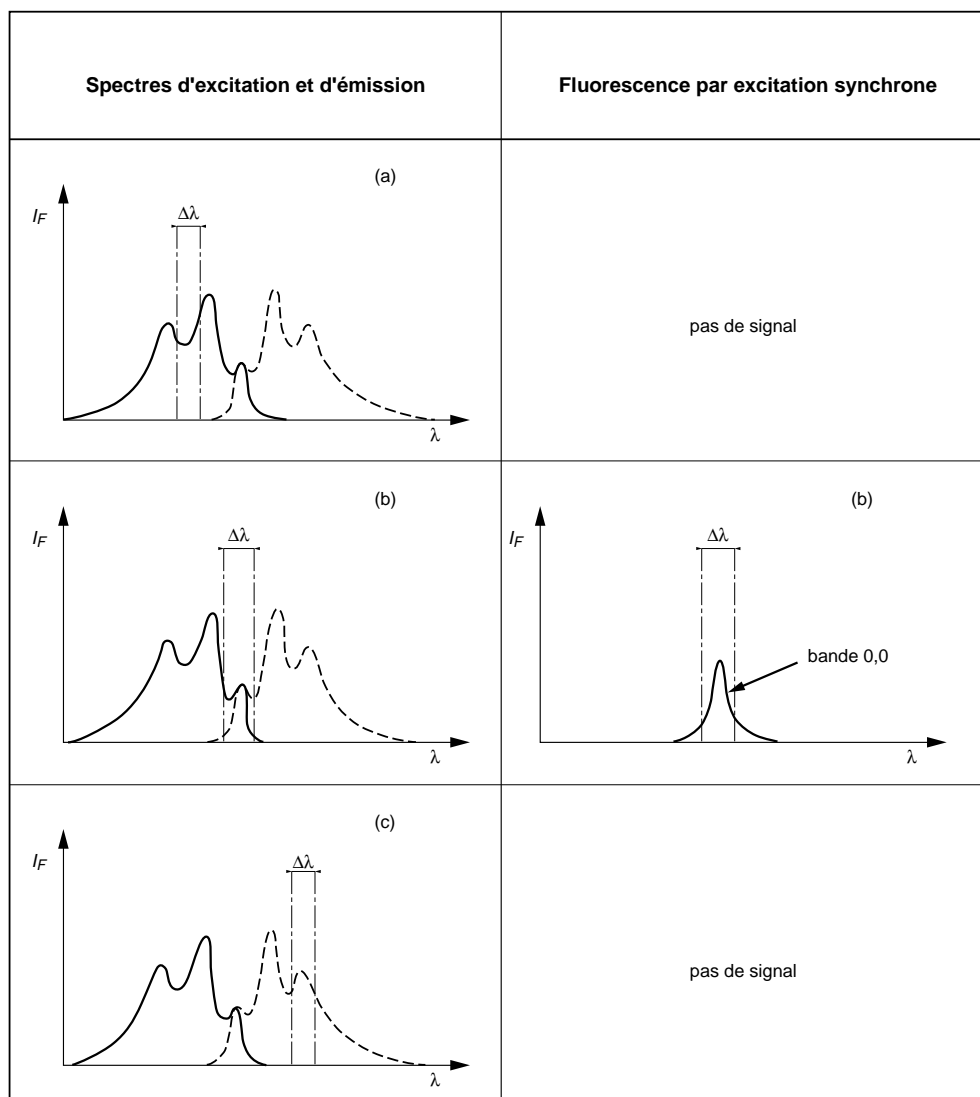


Figure 5

Principe de la fluorescence par excitation synchrone. À gauche, trait plein : spectre d'excitation ; trait discontinu : spectre d'émission. À droite : spectre d'excitation synchrone. $\Delta\lambda$ = décalage entre la longueur d'onde d'excitation et la longueur d'onde d'émission, utilisées en excitation synchrone.

Principle of synchronous excitation fluorescence. Left, continuous line: excitation spectrum; broken line: emission spectrum. Right: synchronous excitation spectrum. $\Delta\lambda$ = difference between excitation and emission wavelengths.

Dans l'exemple suivant, le but est d'étudier différentes fractions (aromatiques, résines et asphaltènes) provenant du même extrait total de roches de mer du Nord « IFP 151148 ». Ces fractions ont été séparées par HPLC et le solvant a été évaporé. On a réalisé la dilution de chaque échantillon à 0,04 g/L dans le cyclohexane. Les spectres de fluorescence par excitation synchrone obtenus sont rassemblés sur la figure 6a. Ils présentent des formes très différentes. Leur analyse directe conduit à dire que la fraction « aromatique » est

riche en composés comprenant de 1 à 4 noyaux, puisque le spectre est centré entre 280 et 380 nm. Au contraire, les résines comporteraient une grande quantité d'aromatiques lourds et pratiquement pas d'aromatiques légers, car elles montrent un massif intense entre 350 et 500 nm alors que les pics en-deçà de 320 nm sont très faibles. On retrouverait dans les asphaltènes une distribution des fluorophores beaucoup plus large.

En fait, il faut être conscient du fait que le choix arbitraire de la concentration peut biaiser une partie de

l'information. Il nous semble plus judicieux d'enregistrer les spectres correspondant à plusieurs concentrations et d'observer la forme globale de l'enveloppe ainsi obtenue. Ces spectres pris à différentes concentrations ont été réalisés pour les trois fractions (fig. 6b à 6d) ainsi que pour l'extrait total (fig. 6e). Dans tous les cas, plus la concentration est élevée, plus l'intensité des pics aux courtes longueurs d'onde est faible. Inversement, les massifs à grandes longueurs d'onde (à droite du spectre) deviennent plus importants quand la concentration s'élève. Ce mouvement est symbolisé par des flèches sur les figures. Des points isoémissifs très nets apparaissent.

Ils semblent d'autant plus déplacés vers les grandes longueurs d'onde que l'échantillon est riche en aromatiques lourds : 298 nm pour la fraction aromatique, 303 nm pour l'extrait total, 321 nm pour les résines et 328 nm pour les asphaltènes. On voit maintenant clairement que les aromatiques légers (pic à 280 nm) sont présents dans toutes les fractions, mais que la proportion relative des autres fluorophores varie fortement d'un échantillon à l'autre. La fraction « aromatique » est enrichie en hydrocarbures à deux noyaux (pic à 310 nm), alors que les hydrocarbures lourds y sont peu représentés. Par contre, ceux-ci occupent une place importante dans les autres échantillons.

De même, la comparaison entre l'extrait total « IFP 151148 » et l'huile brute « Statfjord Satellitene » (fig. 6e et 6f) montre bien que les spectres de fluorescence par excitation synchrone permettent un bon degré de différenciation entre les huiles. Ils sont en général mieux résolus que les spectres traditionnels quand l'échantillon est un mélange de fluorophores.

4.5 La durée de vie de fluorescence

C'est une estimation du temps moyen passé par la molécule dans son état excité avant de retomber à l'état fondamental. Chaque fluorophore dans un environnement donné possède une durée de vie qui lui est propre. Celle-ci constitue donc un paramètre intéressant, au même titre que la position du spectre ou son intensité. La mesure consiste à exciter l'échantillon à l'aide d'une impulsion lumineuse très brève, fournie par une lampe flash ou un laser, puis à suivre le déclin de l'intensité de fluorescence IF en fonction du temps t . Ce déclin peut souvent être décrit par une somme d'exponentielles :

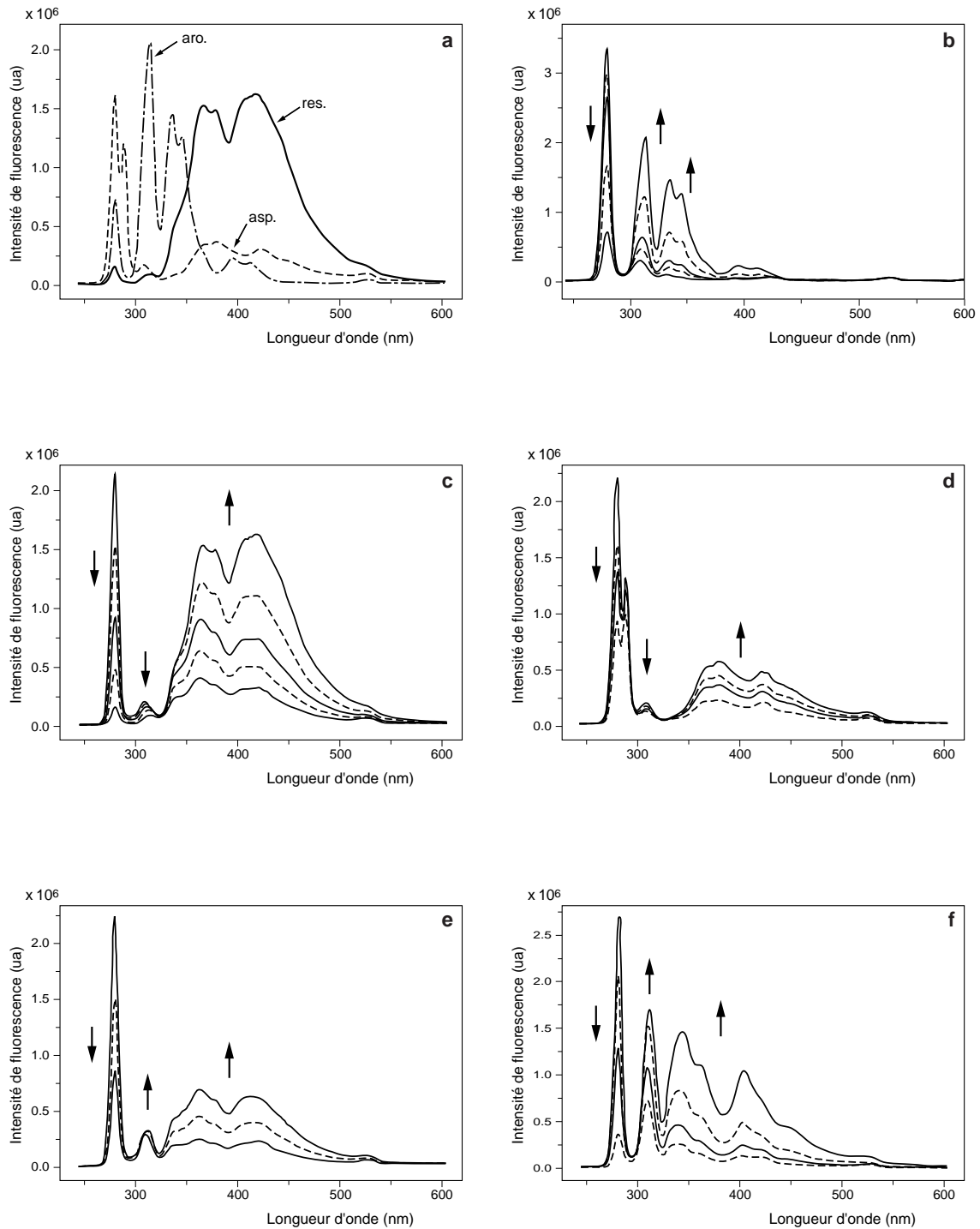
$$IF(t) = \sum_i \alpha_i e^{-t/\tau_i}$$

où α est le facteur préexponentiel, proportionnel à l'intensité du signal provenant des fluorophores de l'espèce i , et τ représente la durée de vie de ces molécules.

En d'autres termes, la durée de vie de fluorescence τ d'une substance est le temps requis pour que la concentration de l'espèce excitée ait diminué de $1/e$ de sa valeur originale. Les durées de vie de fluorescence ont été mesurées pour nos échantillons dilués dans le cyclohexane. On peut constater que le déclin peut être analysé de manière satisfaisante par la somme de trois exponentielles (fig. 7). Malgré leur diversité, les nombreux fluorophores présents en solution forment des populations relativement homogènes, centrées sur une durée de vie courte (de l'ordre de la nanoseconde), une durée de vie moyenne (entre 2 et 5 ns) et une plus longue (supérieure à 11 ns). Les facteurs préexponentiels montrent qu'une grande partie de la fluorescence est due aux espèces à courte ou moyenne durée de vie.

Bien que la durée de vie de nombreux fluorophores isolés soit disponible dans la littérature, ces données sont difficilement transposables dans le cas d'un mélange complexe. En effet, les durées de vie dépendent fortement des interactions entre molécules et par conséquent de la concentration de l'échantillon et de sa teneur en oxygène, qui agit comme inhibiteur. Elles varient également avec les longueurs d'onde d'excitation et d'émission utilisées (tableau 1), puisque le choix de celles-ci permet de sélectionner des fluorophores différents. L'interprétation des résultats au niveau d'un mélange reste donc délicate. Cependant, notre exemple montre que la mesure peut servir à caractériser rapidement un échantillon. Si on compare nos deux huiles brutes en fixant à 400 nm la longueur d'onde d'émission, on voit que les fluorophores se répartissent de manière assez semblable autour des trois durées de vie, mais que la durée de vie longue pour « Statfjord Satellitene » diffère significativement de celle trouvée pour l'extrait total « IFP 151148 ». Si on compare maintenant les résultats obtenus pour l'extrait total et ses différentes fractions, il est frappant de constater que la fraction aromatique sort nettement du lot, tant par la distribution des fluorophores que par la valeur des durées de vie, significativement allongées.

La fluorescence dynamique est une technique puissante, capable de fournir beaucoup d'informations sur un échantillon. Cependant, l'investissement est plus élevé que celui requis pour la fluorescence stationnaire et se justifie peut-être davantage pour une étude approfondie que pour une caractérisation de routine.



Les flèches indiquent l'évolution du spectre quand la concentration de l'échantillon augmente
 Arrows indicate the evolution of the spectrum when increasing the sample concentration

Figure 6

Spectres de fluorescence par excitation synchrone d'échantillons dilués dans le cyclohexane. $\Delta\lambda = 3 \text{ nm}$. $BP_{em} = BP_{ex} = 2 \text{ nm}$.

Synchronous excitation fluorescence spectra of samples diluted in cyclohexane. $\Delta\lambda = 3 \text{ nm}$. $BP_{em} = BP_{ex} = 2 \text{ nm}$.

Légende ci-contre.

Caption: see opposite page.

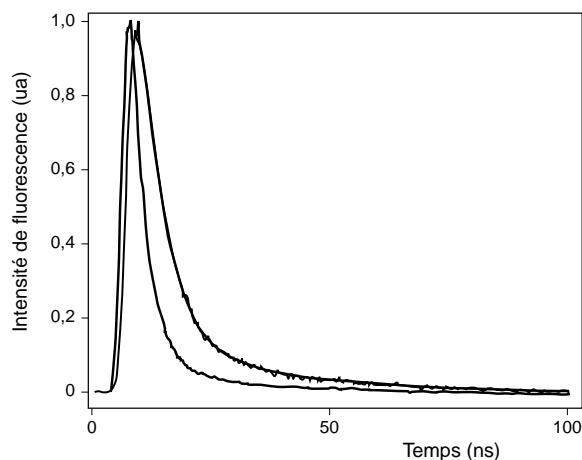


Figure 7

Mesure des durées de vie pour l'extrait total « IFP 151148 », 4×10^{-2} g/L dans le cyclohexane. La courbe à gauche du spectre est le déclin obtenu par diffusion du solvant à $\lambda_{em} = 337$ nm, caractéristique de la lampe. La courbe la plus à droite représente le déclin de fluorescence de l'échantillon, convolué par le spectre de la lampe. Le traitement mathématique de la courbe expérimentale a été effectué à l'aide de trois exponentielles, donnant un excellent ajustement ($\chi^2 = 0,979$). $\lambda_{ex} = 337$ nm. $\lambda_{em} = 500$ nm.

Lifetimes measurement for the North Sea rock extract "IFP 151148", 4×10^{-2} g/L in cyclohexane. The curve at the left side is the lamp temporal profile, obtained by solvent scattering at $\lambda_{em} = 337$ nm. The curve at the right side is the sample decay, convoluted by the lamp profile. Mathematical analysis of the experimental curve was performed using three exponentials, which lead to an excellent fit ($\chi^2 = 0.979$). $\lambda_{ex} = 337$ nm. $\lambda_{em} = 500$ nm.

TABLEAU 1

Facteur préexponentiel α et durée de vie t obtenus pour différents échantillons en solution dans le cyclohexane (4×10^{-2} g/L). $\lambda_{ex} = 337$ nm
a : le meilleur ajustement est obtenu par le traitement avec deux exponentielles

*Pre-exponential α and fluorescence lifetime t obtained for different samples diluted in cyclohexane (4×10^{-2} g/L). $\lambda_{ex} = 337$ nm
a: the best fit was obtained with a two-exponentials analysis*

	$\lambda_{em} = 400$ nm		$\lambda_{em} = 500$ nm	
	α	τ	α	τ
Huile brute « Statfjord Satellitene »	0,74 0,24 0,02	1,2 2,4 15,6	0,92 0,07 0,01	1,0 5,1 14,8
Extrait total « IFP 151148 »	0,69 0,28 0,03	1,0 2,8 11,3	0,65 0,33 0,02	1,1 3,5 15,8
Aromatiques « IFP 151148 »	0,87 0,09 0,04	1,2 5,2 17,5	0,73 0,23 0,04	0,8 1,4 23,1
Résines « IFP 151148 »	0,60 0,39 0,01	1,0 1,5 11,4	0,38 0,59 0,03	0,9 1,8 11,3
Asphaltènes « IFP 151148 »	0,67 0,31 0,02	0,8 3,3 12,6	a 0,94 0,06	a 2,7 11,7

- 6a) Fractions tirées de l'extrait de roches de mer du Nord « IFP 151148 ». Les aromatiques (aro.) et les résines (res.) sont obtenus par chromatographie en phase liquide de l'extrait désasphalté, les asphaltènes (asp.) sont obtenus par précipitation à l'heptane. Concentration : 0,04 g/L.
- 6b) Fraction aromatique de l'extrait de roches de mer du Nord « IFP 151148 ». Concentrations en g/L, de haut en bas à 350 nm : 4×10^{-2} ; 2×10^{-2} ; $8,2 \times 10^{-3}$; $3,6 \times 10^{-3}$; 2×10^{-4} .
- 6c) Fraction résines de l'extrait de roches de mer du Nord « IFP 151148 ». Concentrations en g/L, de haut en bas à 350 nm : 4×10^{-2} ; $2,5 \times 10^{-2}$; $1,6 \times 10^{-2}$; 9×10^{-3} ; $4,6 \times 10^{-3}$.
- 6d) Fraction asphaltènes de l'extrait de roches de mer du Nord « IFP 151148 ». Concentrations en g/L, de haut en bas à 350 nm : $7,5 \times 10^{-2}$; 5×10^{-2} ; 4×10^{-2} ; $2,2 \times 10^{-2}$.
- 6e) Extrait de roches de mer du Nord « IFP 151148 » (roches broyées dans le dichlorométhane). Concentrations en g/L, de haut en bas à 350 nm : 4×10^{-2} ; $2,3 \times 10^{-2}$; 1×10^{-2} .
- 6f) Huile brute de mer du Nord « Statfjord Satellitene ». Concentrations en g/L, de haut en bas à 350 nm : $1,7 \times 10^{-1}$; 7×10^{-2} ; 4×10^{-2} ; 2×10^{-2} .
- 6a) Fractions issued from a North Sea rock extract "IFP 151148". Aromatic compounds (aro.) and resins (res.) were obtained by high performance liquid chromatography of the deasphalted extract. Asphaltenes (asp.) were precipitated with heptane. Concentration: 0.04 g/L.
- 6b) Aromatic fraction from the North Sea rock extract "IFP 151148". Concentrations in g/L, from top to bottom at 350 nm: 4×10^{-2} ; 2×10^{-2} ; 8.2×10^{-3} ; 3.6×10^{-3} ; 2×10^{-4} .
- 6c) Resins from the North Sea rock extract "IFP 151148". Concentrations in g/L, from top to bottom at 350 nm: 4×10^{-2} ; 2.5×10^{-2} ; 1.6×10^{-2} ; 9×10^{-3} ; 4.6×10^{-3} .
- 6d) Asphaltenes from the North Sea rock extract "IFP 151148". Concentrations in g/L, from top to bottom at 350 nm: 7.5×10^{-2} ; 5×10^{-2} ; 4×10^{-2} ; 2.2×10^{-2} .
- 6e) North Sea rock extract "IFP 151148" (from rocks ground in dichloromethane). Concentrations in g/L, from top to bottom at 350 nm: 4×10^{-2} ; 2.3×10^{-2} ; 1×10^{-2} .
- 6f) North Sea crude oil "Statfjord Satellitene". Concentrations in g/L, from top to bottom at 350 nm: 1.7×10^{-1} ; 7×10^{-2} ; 4×10^{-2} ; 2×10^{-2} .

5 APPLICATIONS DE LA SPECTROSCOPIE DE FLUORESCENCE

5.1 La détection de la pollution

Dans les années 1970, la pollution des mers par les huiles brutes s'est notablement aggravée et l'opinion publique a pris conscience du problème à travers quelques événements très médiatisés, comme le naufrage de l'*Amoco Cadiz*. Mais en dépit de leur côté spectaculaire, les accidents ne sont à l'origine que d'une petite proportion du pétrole effectivement déversé dans la mer. La source majeure de pollution, qui affecte sérieusement l'écologie du milieu marin, provient en effet du relargage chronique, délibéré et illégal de résidus de cargaison par les pétroliers. Toutefois, les statistiques montrent que ces derniers ne sont pratiquement jamais poursuivis en justice. La législation actuelle est impuissante à agir si le rejet n'est pas détecté et caractérisé comme provenant d'une source donnée. Il y a donc une demande croissante pour un système de détection et de caractérisation efficace. La spectroscopie de fluorescence s'est révélée utile dans les deux domaines [11, 12, 14-16].

En ce qui concerne la détection, la spectroscopie de fluorescence peut être utilisée à des niveaux divers. La détection peut se faire à distance : un laser génère un faisceau lumineux tandis que le signal de fluorescence émis est recueilli et analysé [17] et [19]. Des simulations effectuées au laboratoire montrent que l'épaisseur du film de pétrole peut être calculée à partir de l'intensité de la fluorescence émise [17, 20, 21]. Quand des films très minces (de l'ordre de 0,01 μm) sont mesurés, la limitation provient du bruit de fond provenant de différentes matières organiques fluorescentes dissoutes dans l'eau de mer [17] et [22]. La détection à distance peut être utilisée pour distinguer entre différents types d'huiles, mais une caractérisation fine ne peut se faire actuellement qu'à travers l'analyse d'un échantillon [23] et [28]. On cherche aussi à mesurer la contamination des eaux douces et des sols. De manière générale, lasers et fibres optiques sont de plus en plus utilisés [29] et [36].

Les techniques de fluorescence sont particulièrement attractives dans ce domaine pour les raisons suivantes [11] et [12] :

- l'émission provient essentiellement des composants aromatiques de l'huile. Ces derniers sont non seulement très stables, mais ils sont généralement plus

toxiques que les produits saturés, et par conséquent peuvent avoir un impact plus important sur l'environnement ;

- le seuil de détection peut être de 10^{-7} à 10^{-8} mol/L. La technique peut donc être appliquée à des petits échantillons ou à des échantillons très dilués ;
- l'utilisation directe d'échantillons aqueux est possible, ce qui permet d'éviter de fastidieuses étapes d'extraction.

L'altération des pétroles relargués est un processus complexe, qui dépend de facteurs tels que la composition chimique de l'huile, la température de l'air et de l'eau, éventuellement le brassage par les vagues et la photo-oxydation due à la lumière ambiante. La modification des fluorophores induit des changements significatifs des spectres de fluorescence conventionnels qui peuvent être utilisés pour mesurer le degré de vieillissement [37] et [38]. Cependant, les spectres de fluorescence totale [39] et [40] et ceux de fluorescence par excitation synchrone [13, 39, 41] fournissent davantage d'information sur la nature des aromatiques affectés. Des modèles mathématiques ont été développés afin de pouvoir comparer des échantillons de pétrole prélevés sur le site pollué, avec d'autres artificiellement vieillis en laboratoire [42].

Combinée à relativement peu de techniques analytiques complémentaires, la spectroscopie de fluorescence par excitation synchrone fournit des indications suffisamment fiables pour que ces arguments soient recevables devant une cour de justice. La technique devrait être intégrée dans les procédures analytiques de routine utilisées pour identifier les sources de pollution.

5.2 La caractérisation rapide des bruts et la classification des pétroles

On peut considérer que le problème de la pollution n'est qu'un cas particulier et que l'obtention d'une « empreinte digitale » permettant d'identifier une huile brute ou un dérivé du pétrole est d'un intérêt général pour des applications très variées. Les spectres d'émission et d'excitation ont été utilisés à cet effet et les résultats obtenus par différents auteurs ont été amplement discutés dans la revue de Frank [10]. Malgré sa lourdeur, la fluorescence totale a donné des résultats intéressants [10] permettant même de faire une corrélation entre la position du spectre et le degré de maturation thermique de l'huile brute [43].

En ce qui concerne la méthode de fluorescence par excitation synchrone, elle a été introduite dans ce domaine par Lloyd [44] afin de caractériser des traces de dérivés du pétrole trouvées en criminologie. La même technique a été utilisée plus tard pour identifier des échantillons d'essence et de gazole, montrant un haut degré de corrélation entre les échantillons testés et certaines références [45]. Elle a même été appliquée avec succès pour retrouver l'origine de lubrifiants formulés à partir de dérivés du pétrole et utilisés dans le cas d'agressions sexuelles [46] ! Ces exemples, non exhaustifs, permettent d'illustrer la fiabilité de cette méthode, qui a été amplement utilisée pour caractériser des huiles brutes ou raffinées [13, 47-49].

Il faut noter que les durées de vie [21] et [50] et les spectres d'émission résolus dans le temps [51] donnent aussi une signature intéressante de l'échantillon. Comme pour les autres méthodes, un effort récent est fourni pour développer l'observation à distance [52].

5.3 L'information pour l'exploration et le forage

Les pétrologistes utilisent la spectroscopie de fluorescence, et en particulier la microscopie de fluorescence, depuis plus de 60 ans [53]. Les roches mères contiennent des macéraux qui peuvent être observés sur une coupe avec un microscope à fluorescence. Le type de sédiments organiques et le degré de diagenèse sont déterminés à partir de la couleur, de l'intensité et des variations du signal de fluorescence [53-63]. Récemment, la méthode de la fluorescence par excitation synchrone a été adaptée à la microscopie, améliorant considérablement la résolution du signal obtenu [64].

Plus simplement, on peut réaliser les spectres de fluorescence aux affleurements au-dessus des réservoirs afin d'en tirer des indications sur l'opportunité d'effectuer un forage. En effet, la fluorescence peut détecter dans un échantillon de sol prélevé en surface les fluorophores caractéristiques de l'huile présente dans le sous-sol. La technique mesure la présence d'hydrocarbures aromatiques polycycliques qui sont résistants à la dégradation microbienne et qui, avec le temps, parviennent à la surface [63-67]. Il est aussi très classique d'analyser des boues ou des échantillons prélevés au cours des forages [68]. Mais depuis quelques années, on cherche à détecter *in situ* la fluorescence à l'aide

d'un pénétromètre équipé d'un système de fibres optiques reliées à un laser [69] et [70].

Dans le cas des forages horizontaux et des réservoirs autoproduitifs, il est primordial de savoir si l'huile va couler spontanément du puits. La spectroscopie de fluorescence a été utilisée à cet effet par Calhoun [71] en complément de la diaggraphie sonique et de résistivité. Elle a permis d'identifier l'huile mobile dans les roches-réservoirs et de faire ainsi la différence entre les zones productives et les zones épuisées. L'échantillon utilisé est alors un fragment de roche prélevé au cours du forage. Comme nous l'avons vu plus haut, la fluorescence par excitation synchrone identifie les aromatiques. Chaque huile a une signature unique due à son origine. Au contraire, les roches-réservoirs épuisées donnent des spectres relativement proches, ressemblant généralement à une courbe douce culminant autour de 410 nm. Pour savoir quelle est la quantité d'huile mobile dans la roche-réservoir, on compare le spectre de l'échantillon avec celui de la roche épuisée (fig. 8).

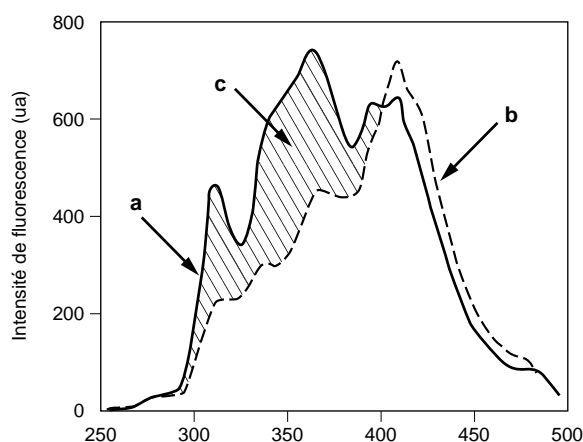


Figure 8

Spectres de fluorescence par excitation synchrone. En trait plein (a) : roche productive ; en trait discontinu (b) : roche épuisée ; hachuré (c) : huile mobile. D'après [71].

Synchronous excitation fluorescence spectra. Continuous line (a): productive source rock; broken line (b): exhausted source rock; hachured (c): movable oil. From [71].

La différence entre les spectres donne une bonne estimation de la quantité d'huile disponible, qui est reliée à la présence ou à l'absence des aromatiques légers à 1, 3 et 4 cycles. Cette technique est facile à mettre en œuvre, peu onéreuse et peut être appliquée à l'analyse d'échantillons au cours du forage pour décider de collecter ou non le pétrole. Elle peut également être

utilisée pour les réservoirs traditionnels quand il s'agit d'estimer la quantité de fraction légère par rapport à la fraction lourde dans une boue.

5.4 L'analyse fine des constituants du pétrole

La nécessité d'obtenir des informations détaillées et précises sur la composition du pétrole est liée à un renforcement du contrôle de la qualité des bruts et des produits dérivés, et au besoin de réduire les risques de pollution. La spectroscopie de fluorescence s'est révélée fort utile pour approcher la structure de différents constituants mal connus du pétrole. Prenons comme exemple celui de la détermination de la structure des asphaltènes.

Les asphaltènes, qui constituent la fraction la plus lourde des huiles brutes, ont une grande importance économique. Leur présence accroît les difficultés de production, de transport et de raffinage des bruts. D'un autre côté, associés aux résines, ils sont largement utilisés dans les revêtements des chaussées et le calfatage. Cependant, la structure chimique exacte des asphaltènes n'est toujours pas définie, quoiqu'une meilleure compréhension de cette dernière permettrait probablement de pallier les inconvénients liés à leur présence et d'accroître leur domaine d'utilisation.

Des asphaltènes isolés ont été examinés par Ralston *et al.* à l'aide de la spectroscopie de fluorescence stationnaire et dynamique [72]. Cette étude a montré que les asphaltènes contiennent peu d'aromatiques légers à 1, 2 ou 3 cycles. Le spectre d'émission correspond à des molécules plus lourdes, comportant entre 4 et 10 cycles accolés. À partir d'une estimation du poids moléculaire moyen, il a été établi que chaque molécule d'asphaltène comporte au plus deux sous-unités aromatiques.

6 MESURES BASÉES SUR L'EMPLOI DE RÉACTIFS FLUOROGÉNIQUES

Jusqu'à présent, nous nous sommes intéressés au cas où la spectroscopie de fluorescence détecte les fluorophores présents dans le pétrole. Or, on peut avoir besoin de doser des molécules qui n'émettent pas naturellement. On utilise alors des réactifs spécifiques qui, en présence de ces molécules, conduisent à un dérivé fluorescent.

Les molécules fonctionnalisées, comme les dérivés polaires comportant des atomes de soufre, d'azote ou d'oxygène, se prêtent en général très bien à ces dosages. Mais en pratique, les spécialistes du pétrole n'utilisent jamais la fluorimétrie pour doser ces substances dans les bruts, car l'autofluorescence de l'échantillon gêne considérablement la mesure.

Dans le domaine de l'analyse des traces de minéraux, le problème de l'autofluorescence peut être circonvenu par la minéralisation préalable de l'échantillon, qui supprime toutes les molécules organiques susceptibles de fluorescer [73]. De manière surprenante, car la spectroscopie de fluorescence est l'une des méthodes les plus sensibles pour l'analyse des ions, nous avons trouvé dans la littérature très peu de références concernant le pétrole. La spectroscopie d'émission a été utilisée avec succès par Salinas *et al.* pour déterminer le contenu en vanadium de quelques huiles brutes [74].

Ce métal, que l'on retrouve en quantités importantes dans certains pétroles, est responsable de la corrosion des unités de raffinage et de l'empoisonnement des catalyseurs de craquage. C'est aussi une bonne indication de l'origine d'un brut et du degré de raffinage. La méthode fluorimétrique utilisée est basée sur l'oxydation d'un colorant par les ions vanadate en milieu acide. La limite de détection est de 5 µg/L, ce qui représente un accroissement important de sensibilité par rapport aux méthodes basées sur la spectroscopie d'absorption. De plus, le réactif n'étant pas un agent chélatant, les interférences dues aux autres ions sont minimisées. Une méthode analogue a récemment été automatisée [75].

CONCLUSION

La spectroscopie de fluorescence est en général réservée à l'étude de milieux comportant un très petit nombre d'espèces fluorescentes. *A priori*, son application aux techniques du pétrole paraît paradoxale. Nous avons essayé de montrer ici que des mélanges extrêmement complexes de fluorophores, comme ceux que l'on trouve dans les huiles brutes et dans les grandes fractions qui en dérivent, peuvent être analysés par fluorescence et donner lieu à un comportement systématique.

De toute évidence, les technologies du pétrole ont beaucoup à gagner avec la sensibilité et l'efficacité de ce moyen d'analyse, dont le champ d'application s'élar-

git d'année en année. Réciproquement, la spectroscopie de fluorescence a dû s'adapter à la complexité de son objet d'étude, ce qui a débouché sur la mise au point de nouvelles méthodes, en particulier l'excitation synchrone.

REMERCIEMENTS

Nous remercions Madame Isabelle Kowalewski de l'*Institut français du pétrole*, qui nous a gracieusement fourni les extraits de roches de mer du Nord et dont les remarques ont permis d'améliorer significativement le manuscrit.

RÉFÉRENCES

- 1 Ungerer P. et Durand B. (1987) *Bull. Soc. Géol. France*, 8, 1343.
- 2 Pelet R. (1985) *Bull. Soc. Géol. France*, 8, 1075.
- 3 Ramaswamy V. (1981) *J. Sci. Ind. Res.*, 40, 584.
- 4 Wang X. et Mullins O.C. (1994) *Appl. Spectr.*, 48, 977.
- 5 Downare T.D. et Mullins O.C. (1995) *Appl. Spectrosc.*, 49, 754.
- 6 Zhu Y. and Mullins O.C. (1992) *Energy and Fuels*, 6, 545.
- 7 Sheu E.Y., Storm D.A., et De Tar M.M. (1991) *Non-Cryst. Sol.*, 131, 341.
- 8 Loehmannsroeben H.G., Kauffmann C. et Roch T. (1997) *Proc. SPIE-Int. Soc. Opt. Eng.*, 3107, 305.
- 9 Ralston C.Y., Wu X. et Mullins O.C. (1996) *Appl. Spectrosc.*, 50, 1563.
- 10 Frank U. (1978) *Toxicol. Environ. Chem. Rev.*, 2, 163 et réf. citées.
- 11 Soutar I. (1983) *Anal. Proc.*, 20, 19.
- 12 John P. et Soutar I. (1981) *Chem. Br.*, 17, 278.
- 13 Taylor T.A. et Patterson H.H. (1987) *Anal. Chem.*, 59, 2180.
- 14 Eastwood, D.L. (1981) *Modern Fluorescence Spectroscopy*, édité par E.L. Wehry, Plenum Press, New York, 4, 251.
- 15 Eastwood, D.L., Fortier S.H. et Hendrick M.S. (1979) *Am. Lab.* (Fairfield, Conn.), 10, 45.
- 16 Freegarde M., Hatchard C.G. et Parker C.A. (1971) *Laboratory Practice*, 20, 35.
- 17 Burlamacchi P., Cecchi G., Mazzinghi P. et Pantani L. (1983) *Appl. Opt.*, 22, 48.
- 18 Luther J. (1982) *Lasersondierung des meers*, in *Opto-electronik in der Technik*, édité par W. Waidelich, Springer, Berlin.
- 19 Hoge F.E. et Swift R.N. (1980) *Appl. Opt.*, 19, 3269.
- 20 Visser H. (1979) *Appl. Opt.*, 18, 1746.
- 21 Fantasia J.F., Hard T.M. et Ingraio H.C. (1972) *Inst. environ. sci., Tech. Meet., Proc.*, 18, 342.
- 22 Taer A.D., Patsayeva S.V., Fadeev V.V. et Yuzhakov V.I. (1994) *Vestn. Mosk. Univ., Ser. 3: Fiz., Astron.*, 35, 51. CA 121: 212339.
- 23 Picer M. et Picer N. (1992) *Chemosphere*, 24, 1825 et réf. citées.
- 24 Picer M. et Picer N. (1993) *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 50, 802.
- 25 Picer M. et Hocenski V. (1994) *Water Res.*, 28, 619.
- 26 De Domenico L., Crisafi E., Magazzu G., Puglisi A. et La Rosa A. (1994) *Mar. Pollut. Bull.*, 28, 587.
- 27 Soerstroem S.E. (1985) *Oil Petrochem. Pollut.*, 2, 125.
- 28 Keizer P.D. et Gordon D.C. (1973) *J. Fish. Res. Board Can.*, 30, 1039.
- 29 Moise N., Vasile A. et Pascu M.L. (1995) *Proc. SPIE-Int. Soc. Opt. Eng.*, 2461, 636.
- 30 Filippova E.M., Chubarov V.V. et Fadeev V.V. (1993) *Can. J. Appl. Spectrosc.*, 38, 139.
- 31 Schade W. et Bublitz J. (1992) *Inst. Phys. Conf. Ser.*, 128, 317.
- 32 Zhu Y. et Ma J. (1992) *Proc. SPIE-Int. Soc. Opt. Eng.*, 1637, 285.
- 33 Zaburnyagin V.P. et Yarovoi P.N. (1988) *Zh. Prikl. Spektrosk.*, 48, 819.
- 34 Bhatia K.S., Makdisi Y. et Gyuk I. (1985) *Arabian J. Sci. Eng.*, 10, 131.
- 35 Van Benthem M.H., Mitchell B.C., Gillispie G.D. et Germain R.W. St. (1996) *Proc. SPIE-Int. Soc. Opt. Eng.*, 2835, 167.
- 36 Loehmannsroeben H.G. et Roch T. (1996) *Proc. SPIE-Int. Soc. Opt. Eng.*, 2835, 128.
- 37 Literathy P., Morel G. et Al-Bloushi A. (1991) *Water Sci. Technol.*, 23, 507.
- 38 Karyakin A.V. et Galkin A.V. (1995) *J. Anal. Chem.* (Trad. de Zh. Anal. Khim.), 50, 1078.
- 39 Gordon D.C., Keizer P.D., Hardstaff W.R. et Aldous D.G. (1976) *Anal. Chem.*, 59, 2187.
- 40 Hornig A.W. (1974) *Natl. Bur. Stand. (US)*, Spec. Publ., 409, 135.
- 41 Wakeham S.G. (1977) *Environ. Sci. Technol.*, 11, 272.
- 42 Killeen T.J., Eastwood D.L. et Hendrick M.S. (1981) *Talanta*, 28, 1.
- 43 Liu S. et Li L. (1986) *Shiyou Kantan Yu Kaifa*, 13, 24. CA 105: 175448.
- 44 Lloyd J.B.F. (1971) *J. Forensic Sci. Soc.*, 11, 83.
- 45 Alexander J., Mashak G., Kapitan N. et Siegel J.A. (1987) *J. Forensic Sci.*, 32, 72.
- 46 Gugel J. et Siegel J.A. (1988) *J. Forensic Sci.*, 33, 1405.
- 47 Files L.A., Moore M., Kerkhoff M.J. et Winefordner J.D. (1987) *Microchem. J.*, 35, 305.
- 48 Vo-Dinh T., Gammage R.B. et Martinez P.R. (1981) *Anal. Chem.*, 53, 253.
- 49 Tsuzuki N., Chaki K. et Yamamura M. (1991) *Sekiyu Gijutsu Kyokaiishi*, 56, 254. CA 117: 93308.
- 50 Abu-Zeid M.E., Bhatia K.S., Marafi M.A., Makdisi Y.Y. et Amer M.F. (1987) *Environ. Pollut.*, 46, 197.
- 51 Mc Gown L.B. et Kreiss D.S. (1988) *Proc. SPIE-Int. Soc. Opt. Eng.*, 910, 73.
- 52 Quinn M.F., Al-Otaibi A.S., Abdullah A., Sethi P.S., Al-Bahrani F. et Alameddine O. (1995) *Instrum. Sci. Technol.*, 23, 201.
- 53 Teichmuller M. et Wolf M. (1977) *J. Microsc.*, 109, 49.

- 54 Wilkins R. W. T., Wilmshurst J. R., Hladky G., Ellacott M. V. et Buckingham C.P. (1994) *Org. Geochem.*, 22, 191.
- 55 Stasiuk L.D. (1994) *Mar. Pet. Geol.*, 11, 219.
- 56 Xiao X. (1991) *Prog. Nat. Sci.*, 1, 240.
- 57 Xiao X., Liu D. et Fu J. (1992) *Chin. Sci. Bull.*, 37, 1012.
- 58 Michelsen J.K. et Khorasani G.K. (1990) *Org. Geochem.*, 15, 179.
- 59 Paslawski P. et Polonski R. (1986) *Tech. Poszukiwan Geol.*, 25, 36.
- 60 Rana D.P., Misra P.K., Sharma S., Khanna R.C. et Thomas N.J. (1995) *Proc. Int. Pet. Conf. Exhib., 1st*, 2, 183.
- 61 Wu Q. et Hou J. (1996) *Fenxi Huaxue*, 24, 436. CA 124: 321012.
- 62 Veld H., Wilkins R.W.T., Xiao X. et Buckingham C.P. (1997) *Org. Geochem.*, 26, 247.
- 63 Khorasani G.K. (1987) *Org. Geochem.*, 11, 157.
- 64 Kihle J. (1995) *Org. Geochem.*, 23, 1029.
- 65 Calhoun G.G. et Burrows R. (1992) *Oil Gas J.*, 90, 96.
- 66 Zhang X. (1995) *Guilin Gongxueyuan Xuebao*, 15, 171. CA 123: 117710.
- 67 Wang H., Zhu Y., Zhang L. et Wu D. (1985) *Kexue Tongbao* (Foreign Lang. Ed.), 30, 1276.
- 68 Reyes M.V. (1994) *SPE Form. Eval.*, 9, 300.
- 69 Davis W.M., Cespedes E.R., Lee T.L., Powell J.F. et Goodson R.A. (1997) *Environ. Geol.* (Berlin) 29, 228.
- 70 Knowles D.S. and Kertesz J. (1996) *Proc. SPIE-Int. Soc. Opt. Eng.*, 2835, 228.
- 71 Calhoun G.G. (1995) *Oil Gas J.*, 93, 39.
- 72 Ralston C.Y., Mitra-Kirtley S. et Mullins O.C. (1996) *Energy and Fuels*, 10, 623.
- 73 Tripkovic M., Todorovic M. et Mioc U. (1983) *Tr. Anal. Chem.*, 2, 18.
- 74 Salinas F., Munos de la pena A., Munoz de la pena F. et Duran Meras I. (1988) *Analyst*, 113, 987.
- 75 Forteza R., Oms M.T., Cardenas J. et Cerda V. (1990) *Analisis*, 18, 491.

Manuscrit définitif reçu en février 1998