

Université Claude Bernard - Lyon I

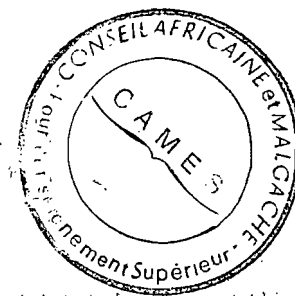
FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1985

N° 235

THESE

Présentée



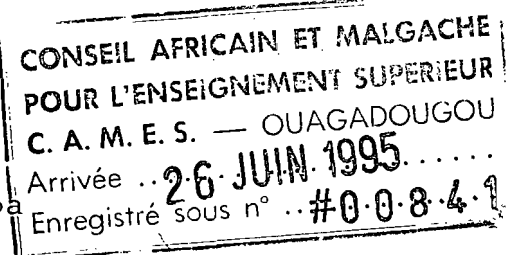
A L'UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - FACULTE DE PHARMACIE
et soutenue publiquement le 26 septembre 1985

pour le grade de DOCTEUR D'ETAT ES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

Par

Sébastien D. DANO

Né en 1954 à Brékoua-Gagnoa



.....

**DOSAGE PAR CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE
SUR COLONNE CAPILLAIRE DES CHLOROPHENOLS DANS
L'EAU.**

.....

Jury

MM P. Chambon
A. Rambaud
H. Pinatel
J. Vial
Mme Moissonnier

UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD LYON I

ADMINISTRATEUR PROVISOIRE : Professeur DUPUY

ADMINISTRATEURS PROVISOIRES ADJOINTS : Professeur R: MORNEX
Professeur J: CHANEL

SECRETAIRE GENERAL : Monsieur F. MARIANI

UNITES D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE DE L'UNIVERSITE

	(Grange-Blanche	Directeur	Professeur ZECH P.
	(Alexis-Carrel	Directeur	Professeur MORNEX R.
<u>MEDECINE</u>	(Lyon-Sud	Directeur	Professeur NORMAND J.
	(Lyon-Nord	Directeur	Madame le Professeur PINET A.
<u>BIOLOGIE HUMAINE</u>		Directeur	Professeur BRYON P.A.
<u>TECHNIQUES DE READAPTATION</u>		Directeur	Professeur EYSSETTE M.
<u>SCIENCES PHARMACEUTIQUES</u>		Directeur	Professeur BIZOLLON CH. A.
<u>SCIENCES ODONTOLOGIQUES</u>		Directeur	Professeur LABE G.
<u>INSTITUT REGIONAL D'EDUCATION</u>			
<u>PHYSIQUE ET SPORTIVE</u>		Directeur	Monsieur MILLON A.
<u>MATHEMATIQUES</u>		Directeur	Monsieur REDON R. Assistant
<u>PHYSIQUE</u>		Directeur	Professeur UZAN R.
<u>CHIMIE ET BIOCHIMIE</u>		Directeur	Madame VARAGNAT A. M.A.
<u>SCIENCES DE LA NATURE</u>		Directeur	Professeur ELMI S.
<u>SCIENCES PHYSIOLOGIQUES</u>		Directeur	Mademoiselle le Professeur WORBE J.F.
<u>I.U.T. N° 1</u>		Directeur	Professeur GIELLY J.
<u>I.U.T. N° 2</u>		Directeur	Professeur MICHEL P.
<u>OBSERVATOIRE</u>		Directeur	Monsieur MONNET G (Astronome titulaire)
<u>PHYSIQUE NUCLEAIRE</u>		Directeur	Professeur EL BAZ E.
<u>MECANIQUE</u>		Directeur	Professeur GAY B.

A M A F A M I L L E

FEU MON PERE

MA MERE

MES FRERES ET SOEURS

MA FEMME

MES ENFANTS : LAETITIA et OLIVIER

A M E S B E A U X P A R E N T S

A T O U S M E S A M I S

Je voudrais remercier ici tous mes aînés qui m'ont aidé matériellement et ou moralement à présenter ce travail.

Ce sont:

- Professeur BAMBA Moriféré : Doyen de la Faculté de Pharmacie
ABIDJAN
- Monsieur OLLO Gabriel : Pharmacien (Pharmacie Centrale)
ABIDJAN
- Docteur ADOU ESSOH : Inspecteur de Pharmacie
ABIDJAN
- Professeur YAPO A.E. : Laboratoire de Biochimie
Faculté de Pharmacie - ABIDJAN

A U P R È S I D E N T D U J U R Y

Monsieur le Professeur CHAMBON

Je ne sais comment vous remercier pour tout ce que vous avez fait et continuez de faire pour moi.

La disponibilité, la volonté, la sympathie et les encouragements que vous m'avez toujours manifestés font de vous un modèle.

Je vous prie d'accepter le témoignage de ma fidèle et respectueuse reconnaissance.

À U X M È M B R E S D U J U R Y

* Monsieur le Professeur RAMBAUD

La Côte d'Ivoire toute entière vous doit sa jeune Faculté de Pharmacie et moi; je vous dois personnellement ma discipline de Toxicologie car c'est vous qui m'avez orienté vers le Professeur CHAMBON, il y a aujourd'hui 5 ans.
Votre présence parmi mes Juges me comble de joie.

* Monsieur le Professeur PINATEL

Je ne suis pas le seul à reconnaître votre sympathie et votre enthousiasme. J'ai toujours bénéficié de votre concours et de vos conseils chaque fois que je me suis dirigé vers vous.
Permettez-moi de vous exprimer ici, toute ma reconnaissance.

* Monsieur le Docteur VIAL

Je suis heureux de vous compter parmi mes Juges et je vous prie de trouver ici le témoignage de ma profonde gratitude.

* Madame MOISSONNIER

Vous m'avez fait l'honneur de bien vouloir accepter de juger ce travail.

Soyez assurée de mon profond respect:

M A D A M E C H A M B O Ñ

Merci pour votre concours toujours précieux

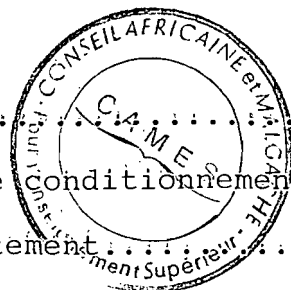
Au personnel du laboratoire

Je garderai toujours un excellent souvenir de ce laboratoire et de la bonne humeur qui le caractérise.

PLAN

PAGES

INTRODUCTION.....	1
PREMIERE PARTIE : CONNAISSANCES ACTUELLES SUR LES CHLOROPHENOLS	2
I - ORIGINES DES CHLOROPHENOLS.....	3
II-REPARTITION DES CHLOROPHENOLS DANS LA NATURE.....	5
II-1 Origines	5
II-1-1 A partir des usines de conditionnement de bois et des procédés de traitement.....	5
II-1-2 A partir des fluides pétrochimiques de forage.....	5
II-1-3 Lors de la chloration de l'eau.....	6
II-1-4 Lors de la fabrication des chlorophénols.....	7
II-1-5 Lors des incinérations.....	10
II-2 Présence des chlorophénols dans l'environnement:...	10
II-2-1 Le système aquatique.....	10
II-2-1-1 L'eau.....	10



IV-3 Pouvoir tératogène et cancérigène.....	25
IV-4 Toxicologie des chlorophénols dans les milieux aquatiques.....	26
IV-5 Mode d'action et métabolisme des chlorophénols..	27
IV-5-1 Mode d'action.....	27
IV-5-2 Métabolisme.....	28
V-ASPECTS REGLEMENTAIRES DES CHLOROPHENOLS DANS LES EAUX D'ALIMENTATION.....	31
V-1 Législations françaises et européennes.....	31
V-2 Législations étrangères.....	31
VI - METHODES D'ANALYSE DES CHLOROPHENOLS.....	33
VI-1 Introduction.....	33
VI-2 Analyse des chlorophénols dans l'eau.....	34
VI-3 Analyse des chlorophénols dans les milieux bio- logiques.....	44
VI-4 Analyse des chlorophénols dans les végétaux.....	53
VI-5 Analyse des chlorophénols dans le sol.....	56

VI-6 Analyse des chlorophénols dans l'air.....	58
VI-7 Analyse des chlorophénols dans les autres milieux	61
DEUXIEME PARTIE : MISE AU POINT	
ANALYTIQUE (TRAVAUX PERSONNELS)	65
INTRODUCTION.....	66
I-LA CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE.....	67
I-1 Définition.....	67
I-2 Colonne.....	67
I-2-1 La phase stationnaire.....	68
I-2-2 Le support.....	68
I-3 Détecteurs.....	68
I-3-1 Détecteur à ionisation de flamme.....	68
I-3-2 Détecteur à capture d'électrons.....	69
I-4 Analyse quantitative.....	69
I-5 Colonne capillaire.....	70
I-5-1 Généralités.....	70
I-5-2 Définition.....	70

I-5-3 Définition de la méthode "splitless".....	72
II-ESSAIS DE SEPARATION DES CHLOROPHENOLS EN CPG.....	75
II-1 Essais de séparation des chlorophénols en CPG colonne remplie avec détecteur à ionisation de flamme.....	75
II-1-1 Les chlorophénols non dérivés.....	75
II-1-2 Les chlorophénols dérivés.....	75
II-1-1-1 Préparation des échantillons.....	75
II-1-2-2 Les différentes phases de colonnes utilisées.....	77
II-1-2-2-1 Colonne QF1.....	77
II-1-2-2-2 Colonne SE30.....	78
II-1-2-2-3 DEGS.....	79
II-1-2-2-4 OV225.....	80
II-1-2-2-5 Mélange Carbowax 20M-SE30.....	81
II-2 Essais de séparation des chlorophénols en CPG capillaire avec détecteur à capture d'électrons.....	88
II-2-1 Essais de séparation des chlorophénols non dérivés.....	88
II-2-1-1 Séparation des produits sans pro- grammation de température	88
II-2-1-2 Essais de programmation de température	89
II-2-1-3 Etude de la limite de détection des chlorophénols non dérivés.....	94


II-2-2 Essais de séparation des chlorophénols après dérivation.....	96
II-2-2-1 Les dérivés acétylés.....	96
II-2-2-1-1 Séparation sur colonne méthyl- silicone réticulée.....	96
II-2-2-1-2 Séparation sur colonne OV17.....	96
II-2-2-2 Les dérivés pentafluorobenzoylés.....	100
II-2-2-2-1 Séparation sur la méthyl-silicone réticulée.....	100
II-2-2-2-2 Séparation sur OV351.....	104
II-2-2-2-3 Séparation sur Carbowax 20M.....	105
II-2-2-2-4 Séparation sur la méthyl-silicone non réticulée.....	105
II-2-2-2-5 Séparation sur OV17.....	105
II-2-3 Comparaison de quelques réactifs de dériva- tion.....	106
II-2-3-1 Dérivation par l'acide heptafluoro- butyrique.....	107
II-2-3-2 Dérivation par l'acide trifluoro- acétique.....	107
II-2-3-3 Dérivation par le chlorure de penta- fluorobenzoyle.....	107
II-2-3-4 Dérivation par le bromure de penta- fluorobenzyle.....	108
II-2-3-5 Dérivation par l'anhydride acétique..	108

II-2-3-6 Choix définitif du réactif de dériva- tion.....	111
III-DOSAGE DES CP DERIVES EN CPG.....	113
III-1 Les dérivés acétylés.....	113
III-1-1 Etude de l'acétylation en CPG sur colonne remplie avec détecteur à ionisation de flamme.....	113
III-1-1-1 Les paramètres étudiés en phase organique.....	113
III-1-1-1-1 Effet de la température.....	114
III-1-1-1-2 Stabilité des esters formés par acétylation lors de l'évaporation.....	114
III-1-1-1-3 Rôle du pH dans l'évaporation...	115
III-1-1-2 Paramètres étudiés en phase aqueuse..	115
III-1-1-2-1 Choix du tampon.....	116
III-1-1-2-2 Choix du volume d'anhydride acétique.....	117
III-1-2 Etude de l'acétylation en CPG capillaire ECD.....	119
III-1-2-1 Etude de quelques paramètres : volume de l'échantillon et anhydride acétique.....	120
III-1-3 Choix d'un étalon interne.....	125
III-1-3-1 Définition générale.....	125

III-1-3-2 Intérêt de l'étalon interne.....	125
III-1-3-3 Choix définitif de l'étalon interne..	126
III-1-3-4 Courbe d'étalonnage et facteur de réponse du 2,4,6-TBP.....	127
III-1-4 Etude du rendement d'extraction.....	132
III-1-4-1 Rendement d'extraction par rapport aux étalons de synthèse.....	133
III-1-4-1-1 Synthèse des chlorophénols acé- tylés.....	133
III-1-4-1-2 Extraction.....	135
III-1-4-2 Rendement d'extraction des produits étalons acétylés.....	137
III-1-4-2-1 Préparation de la solution étalon.....	137
III-1-4-2-2 Extraction.....	138
III-1-5 Etude de la sensibilité et limite de détec- tion de la méthode.....	140
III-1-6 Etude de la reproductibilité.....	142
III-2 Les dérivés pentafluorobenzoylés.....	144
III-2-1 Optimisation de quelques paramètres.....	145
III-2-1-1 La température.....	145
III-2-1-2 Le volume du PFB.....	146
III-2-1-3 Solvant d'extraction.....	147

III-2-2	Choix de l'étalon interne.....	150
III-2-3	Etude du rendement d'extraction.....	150
III-2-3-1	Rendement d'extraction par rapport à des étalons de synthèse.....	151
III-2-3-1-1	Synthèse des étalons pentafluoro- benzoylés.....	151
III-2-3-1-2	Extraction.....	151
III-2-3-2	Rendement d'extraction des produits étalons pentafluorobenzoylés.....	153
III-2-3-3	Sensibilité et limite de détection..	155
III-2-3-4	Reproductibilité.....	156
III-3	Récapitulation de la méthode de dérivation- extraction.....	158
III-4	Application de la méthode	159
III-4-1	Prélèvement effectué dans le canal de Vridi.....	159
III-4-2	Echantillons provenant des effluents d'usine.....	159
T R O I S I È M E P A R T I E : D I S C U S S I O N ..		162
I-SEPARATION DES CHLOROPHENOLS À L'ÉTAT DE DERIVÉS.....		163
I-1	Séparation sur colonne remplie.....	163
I-2	Séparation sur colonne capillaire.....	163

II-LÈS TECHNIQUES DE DERIVATION.....	164
III-ÉTALON INTERNE.....	166
IV-LA LIMITE DE DETECTION DE LA METHODE.....	168
V-APPORTS PERSONNELS.....	169
V-1 Séparation des chlorophénols.....	169
V-2 Concentration de l'extraction.....	169
V-3 Intérêt du borax.....	169
V-4 Le toluène.....	169
C O N C L U S I O N :.....	170
B I B L I O G R A P H I E.....	172
A N N E X E S.....	211
ANNEXE I : matériels et réactifs.....	212
ANNEXE II:abréviations.....	214
ANNEXE III : étalon interne sur colonne remplie.....	218
ANNEXE IV : application-suite	220



I N T R O D U C T I O N

INTRODUCTION.

L'utilisation des chlorophénols dans l'environnement provoque des contaminations au niveau des eaux d'alimentation dont ils altèrent le goût et la saveur pour les concentrations de l'ordre du ppb. Aussi, est-il souhaitable de disposer de méthodes d'analyses fiables ?

La première partie de notre étude sera consacrée aux connaissances actuelles des chlorophénols sous les aspects suivants : origines, répartition dans la nature, propriétés physico-chimiques, toxicologie et aspects réglementaires. Ensuite, nous passerons en revue les différentes méthodes d'analyses.

Dans la deuxième partie de notre travail, réservée aux travaux personnels, nous avons axé nos recherches dans l'optimisation des différentes techniques utilisées en chromatographie en phase gazeuse. Nous aurons pour but, une bonne séparation des différents chlorophénols en s'attachant à une limite de détection aussi basse que possible, se situant vers le $\mu\text{g/l}$.

Enfin dans la troisième partie de notre travail, nous aborderons l'intérêt de la méthodologie proposée.

CONNAISSANCES ACTUELLES
SUR LES CHLOROPHÉNOLS

I - ORIGINE DES CHLOROPHENOLS

Les sources d'élimination des chlorophénols sont liées à leur production, leur utilisation et à leur incorporation dans d'autres produits (ANONYME 1982). Les sources jusqu'à présent identifiées regroupent :

- la protection et la préservation du bois
- les usines de pâtes à papier
- les effluents des usines de traitement du bois.

Ils sont utilisés comme intermédiaires aussi bien pour les produits pharmaceutiques que pour les colorants, mais aussi et surtout utilisés comme pesticides, en particulier dans la conservation du bois (ANONYME 1972). Si les chlorophénols servent de base à la fabrication des pesticides, (le 2, 4-dichlorophénol et le 2, 4, 5-trichlorophénol sont utilisés dans la préparation de l'acide trichloro-2, 4, 5-phénoxyacétique ou 2, 4, 5-T) ils sont aussi le produit de dégradation de ces derniers, en l'occurrence, les organochlorés dont le lindane (PICOT 1983). D'après TRUHAUT et al. (1952 b) le pentachlorophénol possède une propriété antiseptique plus puissante que le phénol. Il a aussi un pouvoir fongicide, insecticide et herbicide qui explique son incorporation à certains pesticides comme le DDT et le 2, 4-D.

Extrait de la publication de LORES et al. (1981), le tableau 1 énumère les origines possibles des chlorophénols dans l'environnement.

Métabolite	Origine	Type de Pesticide
2-Chlorophénol	2, 4-D	Herbicide
3-Chlorophénol	PCP	Fongicide
4-Chlorophénol	Chloroxuron	Herbicide
2, 6-Dichlorophénol	Lindane	Insecticide
2, 4-Dichlorophénol	VC-13	Insecticide
	m-Dichlorobenzène	Fumigant
	2, 4-D	Herbicide
2, 3-Dichlorophénol	Lindane	Insecticide
	O-Dichlorobenzène	Fumigant
2, 5-Dichlorophénol	Lindane	Insecticide
	P-Dichlorobenzène	
	2, 4, 5-T	Herbicide
3, 4-Dichlorophénol	PCP	Fongicide
	O-Dichlorobenzène	Fumigant
	Diuron	Herbicide
3, 5-Dichlorophénol	Lindane	Insecticide
	PCP	Fongicide
2, 3, 4-Trichlorophénol	Lindane	Insecticide
2, 3, 5-Trichlorophénol	Lindane	Insecticide
	PCP	Fongicide
2, 3, 6-Trichlorophénol	Lindane	Insecticide
2, 4, 5-Trichlorophénol	Ronnel	Insecticide
	Tetrachlorvinphos	Insecticide
	Erbon	Herbicide
	2, 4, 5-T	Herbicide
	HCB	Fongicide
2, 4, 6-Trichlorophénol	Lindane	Insecticide
3, 4, 5-Trichlorophénol	Lindane	Insecticide
2, 3, 5, 6-Tétrachlorophénol	HCB	Fongicide
	PCP	
2, 3, 4, 6-Tétrachlorophénol	PCP (impureté)	Fongicide
	Lindane	Insecticide
2, 3, 4, 5-Tétrachlorophénol	PCP	Fongicide
	Lindane	Insecticide
	HCB	Fongicide
Pentachlorophénol	PCP	Fongicide
	Lindane	Insecticide
	HCB	Fongicide
	PCNB	Fongicide

Tableau 1 : ORIGINES POSSIBLES DES DIFFERENTS CHLOROPHENOLS
DANS L'ENVIRONNEMENT.

II - REPARTITION DES CHLOROPHENOLS DANS LA NATURE.

II-1 - Les origines:

Elles sont multiples et liées, en général, à leur usage.

II-1-1 - A partir des usines de conditionnement de bois et des procédés de traitement:

Dans ces usines, les chlorophénols sont utilisés comme Antimicrobiens ou agents de conservation si bien qu'il est tout à fait logique qu'il se produise des rejets d'une façon ou d'une autre, à plus ou moins long terme, (évacuations volontaires ou accidentelles, ruptures de canalisation, pannes mécaniques, défaillances dans le système de transport ou de stockage, etc...).

II-1-2 - A partir des fluides pétrochimiques de forage:

Les fluides de forage usagés contenant du Na-PCP et les déchets associés se retrouvent dans les bassins à boue. Très souvent, ces bassins sont inondés et cela entraîne la libération de produits toxiques dans les eaux de surface.

II-1-3 - Lors de la chloration de l'eau.

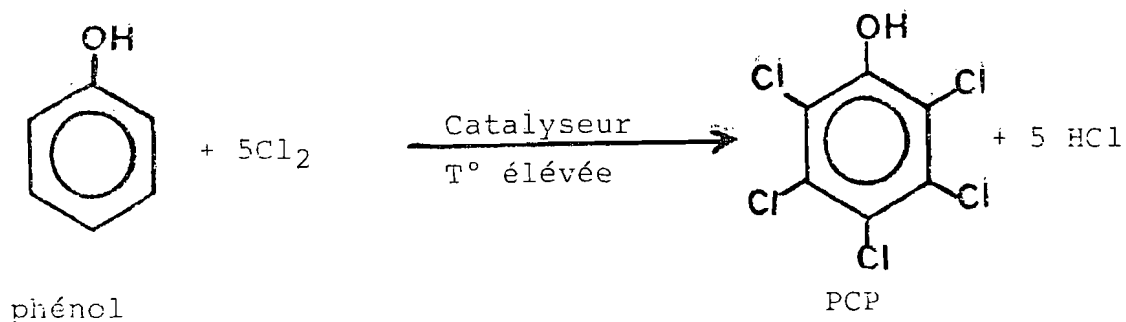
Le chlore est utilisé dans le traitement de l'eau potable, des eaux usées et de l'eau de piscine. D'après PIERCE (1978), cité par JONES (1981), l'interaction entre ce chlore et certaines molécules organiques présentes dans ce milieu peut donner des composés organiques halogénés:

Selon ARSENAULT (1976) rapporté par JONES (1981), la chloration municipale de l'eau potable peut entraîner la formation de chlorophénols.

11-1-4 - Lors de la fabrication des chlorophénols.

Les chlorophénols du commerce sont produits par chloration du phénol (JONES 1981):

Ex. : production du pentachlorophénol.



Nous noterons qu'à l'inverse, la dissociation du polychlorobiphényl, obtenu sous l'action de la chaleur à partir du PCP, peut entraîner la production des chlorophénols. (cf. fig. 1).

Toujours dans le cadre de la synthèse des chlorophénols, VON RUMKER et al. (1974) cités par JONES (1981) établissent le schéma de production des chlorophénols (fig. 2):

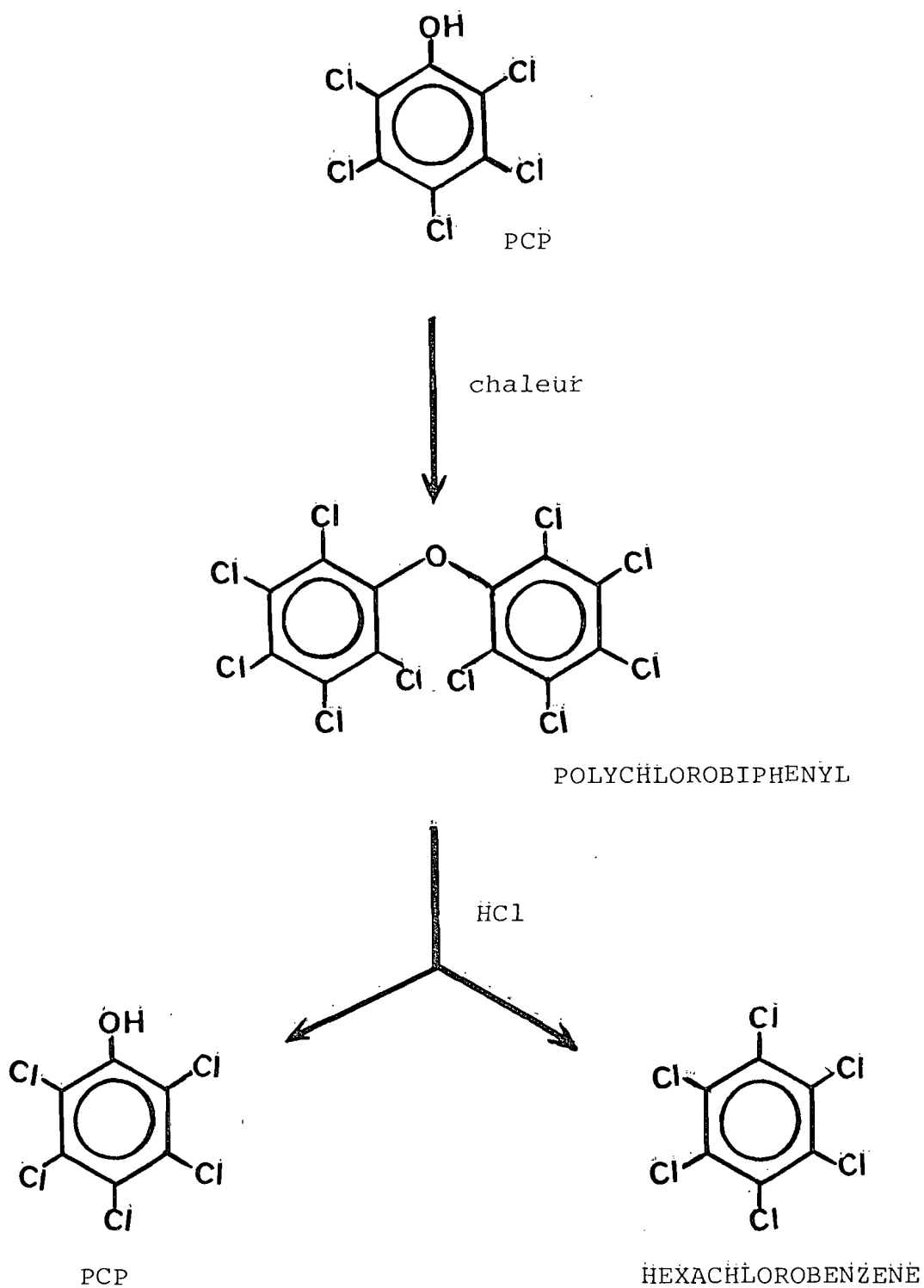


FIG. 1 : ACTION DE LA CHALEUR SUR LE PCP :

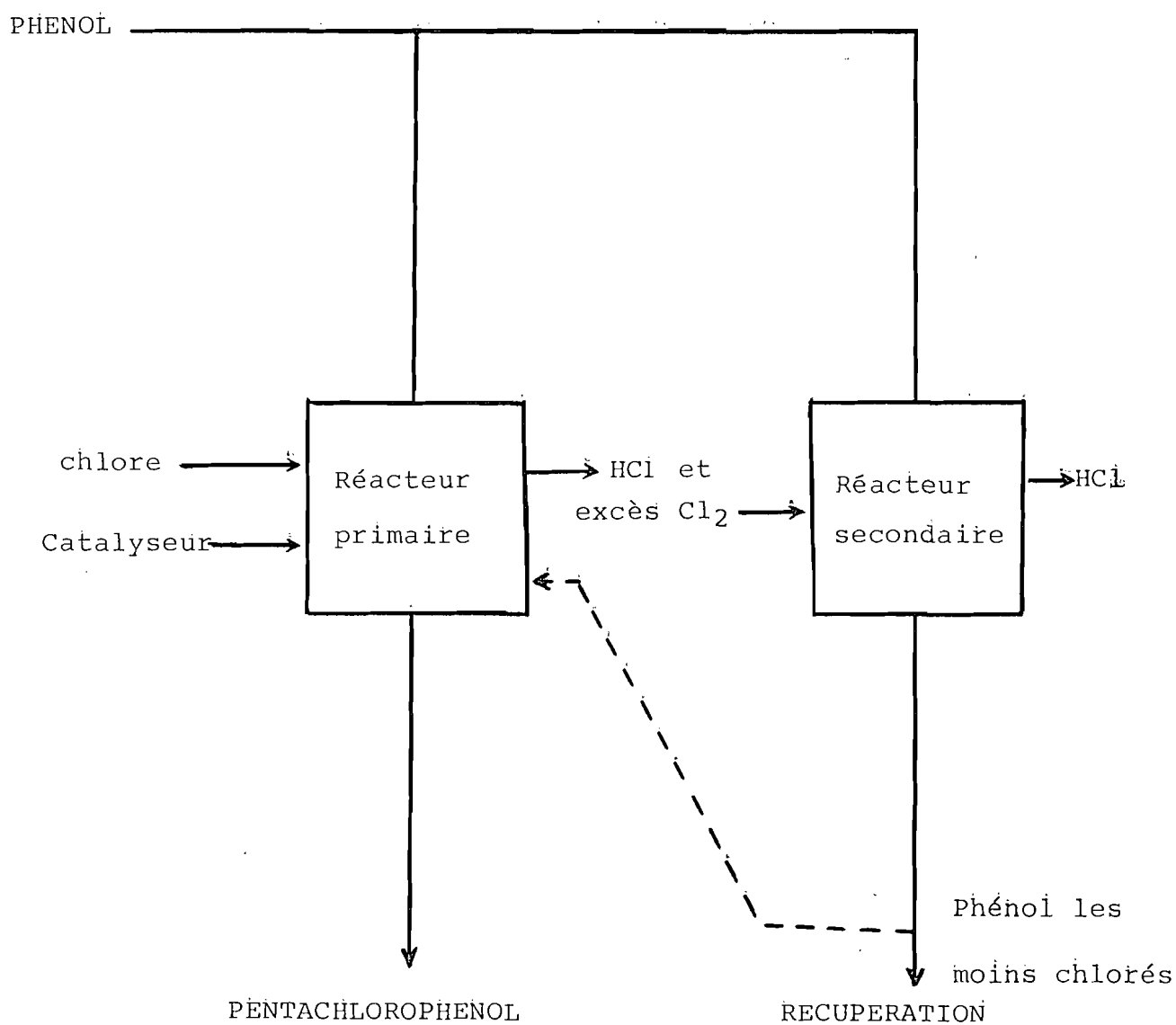


Fig. 2 : SCHEMA DE SYNTHESE DES CHLOROPHENOLS.

II-1-5 - Lors des incinérations.

D'après JONES (1981), une enquête réalisée par OLIE et al. en 1977; indique la libération de CP par les cheminées lors des incinérations des déchets municipaux:

II-2 - Présence des chlorophénols dans l'environnement.

Les données dont nous disposons viennent du Canada. On distingue deux grands systèmes : le système aquatique et le système terrestre.

II-2-1 - Le système aquatique.

II-2-1-1 - L'eau.

D'après JONES (1981), les études de ZITKO et CARSON (1969) sur l'effluent d'une usine de traitement de conservation du bois ont montré la présence de pentachlorophénol mais aussi du 2, 4, 5-TCP et du 2, 3, 4, 6-TCPP. Cette constatation se confirmera dans les données d'environnement du Canada en 1979, rapportées par JONES (1981) et qui résument bien les grands groupes de chlorophénols détectés aussi bien dans les sédiments que les eaux de surface et les effluents en Colombie Britannique.



II-2-1-2 - Les plantes aquatiques.

Les données à ce sujet sont assez mal connues ; seule l'étude de PIERCE et al. en 1977 montre la présence du PCP dans la litière des feuilles et la végétation le long d'un cours d'eau recevant les eaux de drainage d'une zone industrielle.

II-2-1-3 - Les animaux aquatiques:

Les analyses effectuées en 1978 par BACON et rapportées par JONES (1981), font état de la présence de 2, 4-DCP ; 2, 4 6-TCP et du PCP dans les échantillons de palourdes et de crevettes de sable à partir d'une eau recevant les effluents d'une usine de cellulose.

II-2-2 - Le système terrestre

II-2-2-1 - Le sol.

La présence des chlorophénols dans ces systèmes est étroitement liée à leur utilisation. Utilisés comme herbicides, les chlorophénols se retrouvent dans le sol.

II-2-2-2 - Les bois traités.

En 1974 en Angleterre, PARR et al. cités par JONES (1981), ont découvert la présence de 2, 3, 4, 6-TTCP et du PCP dans les copeaux de bois importés et utilisés comme litière d'un poulailler.

LEVIN et NIELSON (1977) ont montré la présence du tétra- et du penta-chlorophénol dans la poussière de bois d'une scierie suédoise. Les bois avaient été traités au préalable par du 2, 3, 4, 6-Tétrachlorophénate de Na à 2 % ; ce composé contient 10 % de 2, 4, 6-TCP, 70 % de 2, 3, 4, 6-TTCP et 20 % de PCP et des impuretés diverses.

II-2-2-3 - Les animaux:

Les animaux mis au contact avec du matériel contenant des chlorophénols sont généralement contaminés; tel a été le cas aux USA d'un troupeau de vaches logées dans une grange construite à partir de bois traité au PCP (JONES 1981).

Une élimination urinaire du TTCP et du PCP a été observée chez des travailleurs exposés aux concentrations atmosphériques de ces produits (BEVENUE et al. 1967); mais il est à noter que des traces ont été aussi observées chez les sujets non exposés; ce qui amènera SHAFIK et al. (1973) à conclure que "l'homme est exposé en permanence à de faibles concentrations de PCP dans son environnement".

II-2-2-4 - Les aliments:

La contamination des aliments par le chlorophénol est plus le fait d'un manque d'hygiène que de toute autre chose. Ex. : en 1977 au Canada, un wagon ayant servi au transport du PCP avait été utilisé par la suite pour le transport d'avoine et de céréales fourragères, ceci entraînant la contamination du bétail de destination (JONES 1981):

II-3 - Dégradation des chlorophénols:

Concernant la dégradation des chlorophénols, il serait judicieux d'énoncer ces observations de FREITER (1979) relatées par JONES (1981) :

- les chlorophénols sont plus stables dans l'environnement que le phénol de base ;
- plus le nombre d'atomes de chlore augmente, plus la décomposition diminue ;
- les composés contenant un chlore en méta (ex. : 3-CP et 2, 4, 5-TCP) sont plus persistants que ceux qui ne possèdent pas de chlore en position méta par rapport au groupe hydroxyle.

II-3-1 - Les différentes voies de dégradation.

Il existe plusieurs voies de dégradation possibles :

II-3-1-1 - La dégradation chimique dans l'eau et le sol.

Dans l'eau (eau de lac), la dégradation du PCP a donné lieu au pentachloroanisole, au 2, 3, 5, 6-TTCP et au 2, 3, 4, 5-TTCP (JONES 1981). Selon IDE et al. (1972), les produits de dégradation du PCP dans le sol seraient les suivants :

- 2, 3, 4, 5 ; 2, 3, 4, 6 ; 2, 3, 5, 6-TTCP ;
- 2, 3, 6 ; 2, 4, 6 ; 2, 3, 5 ; 2, 3, 4 et 2, 4, 5-TCP.

II-3-1-2 - Dégradation photochimique.

Sous l'effet de la lumière solaire, le Na-PCP donne lieu à des produits de dégradation assez complexes qu'il ne nous semble pas utile d'énumérer ici (Travaux de KUWAHARA et al. 1966 a, 1966 b, 1969).

Après irradiation UV à 253 nm, le PCP donne lieu à un seul produit de dégradation important, le 2, 3, 5, 6-TTCP (CROSBY et HAMADMAD 1971):

Par ailleurs, il semble qu'une forte quantité de Na-PCP conduise à la formation de OCDD (Octachlorodibenzo-p-dioxine) après irradiation en solution aqueuse (CROSBY et WONG 1976):

II-3-1-3 - Dégradation microbologique (JONES 1981).

Il semble que cette dégradation soit liée à la position des chlores sur le noyau aromatique des phénols. C'est ainsi que les phénols halogénés en position méta par rapport à l'hydroxyle seraient plus résistants que les autres, les champignons responsables de la pourriture du bois interviendraient dans la dégradation du PCP par l'intermédiaire de la tyrosinase et de la peroxydase (oxydases).

Il semblerait par ailleurs que l'augmentation de la chloration du noyau phénolique favoriserait une résistance à la bio-dégradation. En ce qui concerne les monochlorophénols, il semblerait que leur métabolisme nécessite une microflore spéciale ; c'est ainsi qu'ils seraient plus facilement éliminés en eau de surface polluée contenant ces micro-organismes qu'en eau usée et que de façon générale, la flore bactérienne capable de détruire les chlorophénols apparaîtrait plus rapidement dans les cours d'eau relativement propres à condition d'y déverser régulièrement les déchets contenant ces CP plutôt que par intermittence.

Au niveau du sol, des micro-organismes intervenant dans la dégradation du PCP ont été isolés. Nous nous contenterons simplement de les énumérer : *Pseudomonas*, *Rhodotorula glutinis* et *Rhodotorula minuta* qui sont des levures; le bacille KC-3 qui est un bacille gram - variable et dont le processus métabolique du PCP est représenté sur la fig. N° 3

Pour finir, notons aussi l'intervention des champignons dans le processus de biodégradation des CP, en l'occurrence le 2, 3, 4, 6-TTCP. Les champignons responsables seraient le *Scopulariopsis brevicaulis*, l'*Aspergillus sydowi* et des espèces non différenciées de *Penicillium* (CURTIS et al. 1972):

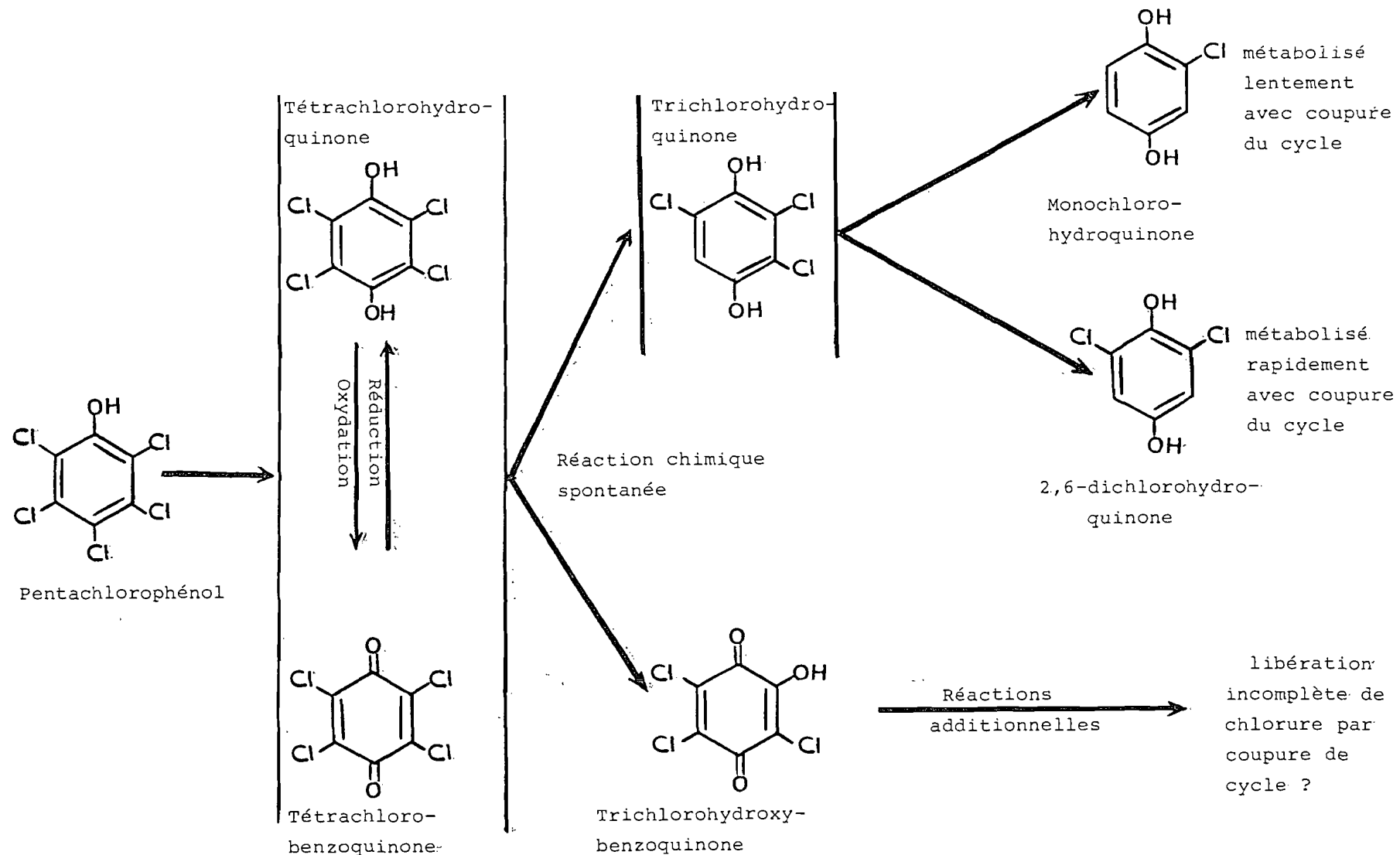


Fig. 3 : SCHEMA PROPOSE POUR LA BIODEGRADATION DU PCP PAR LA CULTURE BACTERIENNE KC-3 (REINER et al 1978) D'APRES JONES (1981).

III - PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES DES CHLOROPHENOLS

Selon LINDSTROM et NORDIN (1976) on distingue trois grands types de phénols chlorés prédominants ; il s'agit des chloroguaïcols (type I), chlorocatéchols (type II), et les chlorophénols (type III).

Les propriétés physico-chimiques de ces derniers seraient étroitement liées à leur comportement, leur activité biologique et leur persistance dans l'environnement (JONES 1981).

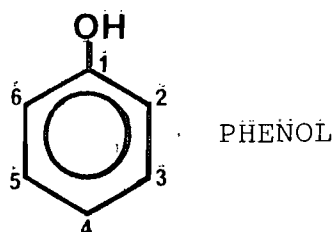
Les chlorophénols peuvent être répartis en cinq groupes en fonction du nombre de chlore de substitution. On distingue ainsi :

- les monochlorophénols (MCP)
- les dichlorophénols (DCP)
- les trichlorophénols (TCP)
- les tétrachlorophénols (TTCP)
- le pentachlorophénol (PCP)

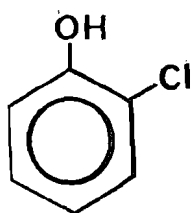
III-1 - Formules et chimie des chlorophénols.

(ANONYME 1982 ; LEE et CHAU 1983; HARGESHEIMER et COUTTS 1983).

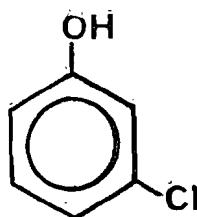
La formule de base est représentée par le phénol :



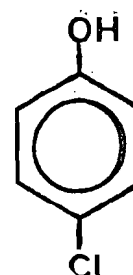
- Les monochlorophénols (MCP) : ils présentent 3 isomères :



ORTHO-CHLOROPHÉNOL
(2-CP)

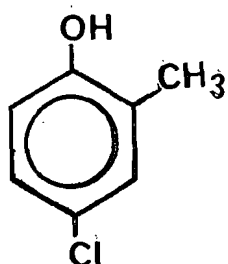


MÉTA-CHLOROPHÉNOL
(3-CP)



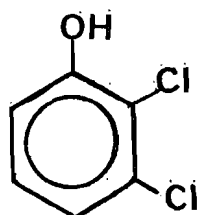
PARA-CHLOROPHÉNOL
(4-CP)

Dans le cadre de notre étude, nous leur avons ajouté le 4-chloro, 2-méthylphénol (4C2M) :

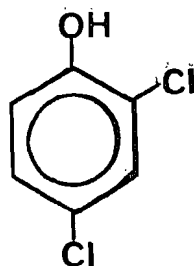


4C2M

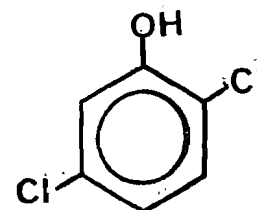
- les dichlorophénols (DCP) ils sont représentés par 6 isomères :



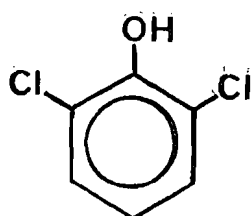
2,3-DCP



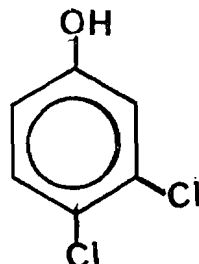
2,4-DCP



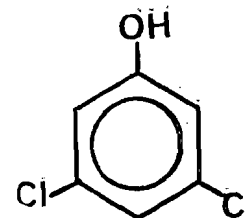
2,5-DCP



2,6-DCP

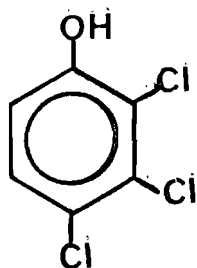


3,4-DCP

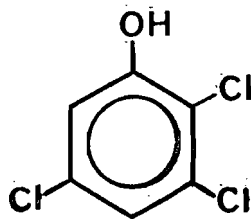


3,5-DCP

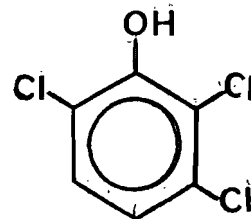
- les trichlorophénols (TCP) : ils sont constitués par 6 isomères :



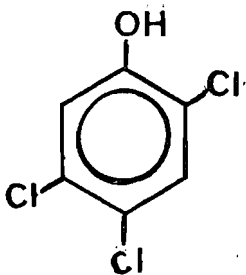
2,3,4-TCP



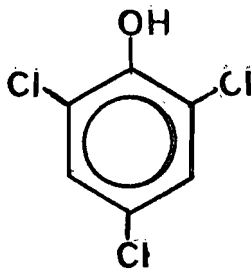
2,3,5-TCP



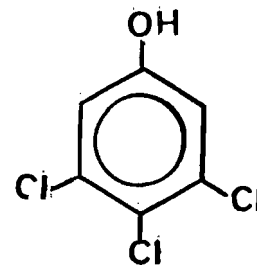
2,3,6-TCP



2,4,5-TCP

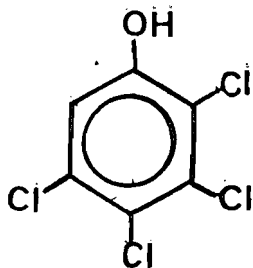


2,4,6-TCP

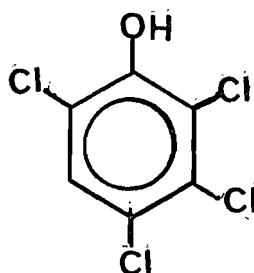


3,4,5-TCP

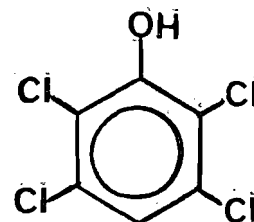
- les tétrachlorophénols TTCP : 3 isomères :



2,3,4,5-TTCP

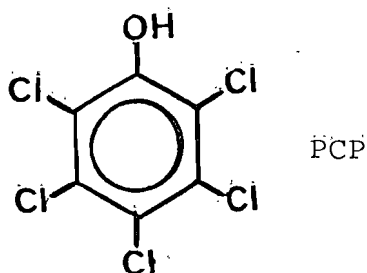


2,3,4,6-TTCP



2,3,5,6-TTCP

- le pentachlorophénol : un seul isomère :



Les halogénophénols en général se différencient par leur acidité plus élevée (ANONYME 1972) :

Selon JONES (1981) les chlorophénols présentent à peu près les mêmes réactions que le phénol. Il évoque à ce propos les réactions chimiques extraites de DOEDENS (1967), faisant état de deux réactions importantes ; il s'agit de la réaction des chlorophénoxydes de sodium avec les halogénures d'alkyle et la réaction des chlorophénates de sodium avec les autres aliphatiques halogénés. À cela, il faut ajouter les réactions suivantes :

- formation de sulfonates : sels de sodium de chlorophénols + chlorure aromatique de sulfonyle
- réactions de substitution :
 - nitration
 - alkylation
 - acétylation

réactions de condensation : chlorophénols + chlorures aromatiques de sulfonyles :

- synthèse des mono; di et triphosphates : chlorophénols
+ oxychlorure de
phosphore.
- formation de sels : chlorophénols + amines, etc....

III-2 - Propriétés physiques des chlorophénols:
(WEAST 1964-65, JONES 1981):

Le tableau N° 2 résume les propriétés physiques de la plupart des chlorophénols.

Composé	Application commerciale	Formule	Poids Moléculaire	Eb	F	Solubilité						Apparence
						Eau	Alcool	Ether	Acétone	Benzène	Autres	
2-CP	restreinte	C ₆ H ₅ ClO	128,56	175-6	8,7	v	-	s		v	-	liquide ambre clair
3-CP	-	"	"	213-6	32,8	s ^h	s	s		v	-	cristaux ?
4 CP	oui	"	"	219,75	43	s	v	v		v	alk s	aiguilles, cristaux de tout blanc à paille
4 C 2M	-	C ₆ H ₄ ClCH ₃ O	-	-	-	-	-	-		-	-	-
2,3-DCP	non	C ₆ H ₄ Cl ₂ O	163-163,1	206	57	-	s	s		-	-	(cristaux incolores ou solides, amorphes (jaunes)
2,4-DCP	oui	"	"	206	45	s	v	v		v	chl. v	-
2,5-DCP	non	"	"	211	59	s	v	v		v	-	-
2,6-DCP	-	"	"	219-220	68-69	-	v	v		-	-	-
3,4-DCP	-	"	"	253,5	68	-	-	-		-	-	-
3,5-DCP	-	"	"	233	68	s	v	-		-	-	-
2,3,4-TCP	-	C ₆ H ₃ Cl ₃ O	197,45-197,46	sublimation	83,5	-	s	s		-	alk s aas	-
2,3,5-TCP	-	"	"	248,5-249,5	62	s	s	s		-	-	-
236-TCP	-	"	"	272	58	s ^h	v	v		v	aas	-
245-TCP	oui	"	"	sublimation	66-67	s	s	-		-	oss	aiguilles incolores ou paillettes grises
246-TCP	-	"	"	246	68	s	v	v		-	-	cristaux incolores
345-TCP	non	"	"	271-277	101	-	-	-		-	- sv ^h	-
2345-TTCP	non	C ₆ H ₂ Cl ₄ O	231,98-231,91	sublimation	116	-	v	-		-	alk, MeOH v	masse bien claire
2346-TTCP	oui	"	"	150	69-70	i	v	-		-	chl, NaOH v	-
2356-TTCP	non	"	"	-	115	s	-	-		-	-	-
PCP	oui	C ₆ HCl ₅ O	266,34	309-310	191	s	v	v		-	lig s	paillettes incolores et cristaux sublimes en forme d'aiguilles

Tableau N° 2 : PROPRIETES PHYSIQUES DES CHLOROPHENOLS (D'après WEAST 1964-65 et JONES 1981).

Remarque : pour les valeurs légèrement différentes, nous avons préféré celles de WEAST (1964-65).

IV - TOXICOLOGIE DES CHLOROPHÉNOLS.

IV-1 - Toxicité aiguë.

Les expérimentations effectuées en laboratoire montrent que les chlorophénols dotés de propriétés herbicides, induisent un niveau normal de chlorose chez la lentille d'eau, de même qu'ils diminuent de moitié la croissance radiale de la moisissure *Trichoderma viridè*. Chez les animaux, l'absorption d'une forte quantité de PCP ou de son sel de sodium entraîne une intoxication aiguë, caractérisée par une hyperglycémie, une glycosurie, un hyperpéristaltisme, une augmentation puis une diminution de volume urinaire et une diminution rapide de la motricité. Les animaux succombent à la suite de collapsus et de mouvements convulsifs d'asphyxie. Il faut y ajouter les symptômes de vomissements, de tachycardie et de défécation fréquente (JONES 1981). Le tableau N° 3 suivant indique le niveau de toxicité de quelques chlorophénols:

Chlorophénols	Espèce	Sexe	Adm.	DL 50 ml/KG ou mg/KG	Référence
2-CP	rat	mâle	I.P.	230 mg	FARQUHARSON et al. 1958
3-CP	"	"	"	255	"
4-CP	"	"	"	281	"
2, 4-DCP	"	"	"	430	"
2, 6-DCP	"	"	"	390	"
2, 3, 6-TCP	"	"	"	308	"
2, 4, 5-TCP	"	"	"	355	"
2, 4, 6-TCP	"	"	"	276	"
3, 5, 5-TCP	"	"	"	372	"
2, 3, 4, 6-TTCP	"	"	"	130	"
PCP	"	"	"	56	"
Na-PCP	"	-	inhalation	11,7	HOBEN et al. 1976b

tableau N° 3 ; TOXICITE AIGUE DES CHLOROPHÉNOLS CHEZ LES RÂTS

Ces résultats montrent que la toxicité est fonction du taux de chloration .

Ex. : DL 50 du 2, 4 DCP = 430 mg.)
DL 50 du PCP = 56 mg.) I.P. (administration en

Le même phénomène a été observé chez la truite (HATTULA et al.1981a) et chez les vairons (PHIPPS et al. 1981, HOLCOMBE et al. 1982) bien que dans ce dernier cas, le nombre de chlorophénols étudiés soit restreint. La DL 50 du 2,3,4,6-TTCP chez le rat après administration orale est de: 360 mg/kg (HATTULA et al.1981 b). Chez la "Guppy", la dose létale varie entre 40 et 44 mg/kg (COLGAN et al.1982).

Il semblerait que les phénols les moins chlorés soient plus convulsivants que les plus chlorés (PCP ne provoque pas de convulsion).

Les examens histopathologiques montrent une atteinte des reins, du foie et de la rate par le PCP (JONES 1981). D'après KIMBROUGH et LINDNER (1975,1978), l'atteinte hépatique est accentuée avec le PCP impur (PCP technique).

Remarque :

En ce qui concerne le PCP, des cas mortels d'intoxications humaines ont été signalés dans une industrie du bois (TRUHAUT et al.1952 b) et dans une maternité de Saint-Louis (ARMSTRONG et al.1969). Tout récemment des cas d'intoxication à l'orthochlorophénol ont été signalés par NEEDHAM et al. (1980):

IV-2 - Toxicité chronique.

Elle se manifeste en général par des modifications pathologiques au niveau du foie et du rein (MC COLLISTER et al. 1961).

IV-3 - Pouvoir tératogène et cancérigène:

Le 2, 3, 4, 6-TTCP et le PCP se sont montrés plus foeto-toxiques ou embryotoxiques que tératogènes (HINKLE 1973; SCHWETZ et GEHRING 1973; SCHWETZ et al. 1974 a,b). Par contre, LARSEN (1975) d'après JONES (1981) signale un pouvoir légèrement tératogène du PCP; ce qui n'est pas de l'avis de COURTENEY (1976) cité par JONES (1981) pour avoir travaillé sur la même souche animale.

En ce qui concerne la cancérogénicité des chlorophénols; notons les résultats obtenus chez la souris albinos par BOUTWELL et BOSCH (1959) et rapportés par JONES (1981) :

- PCP et 2, 4, 6-TCP : pas d'anomalie
- 2, 4, 5-TCP et 3-CP : Papillomes
- 2, 4-DCP et 2-CP : Papillomes + Carcinomes.

A la suite des résultats négatifs des tests d'AMES, RASANEN et al (1977) se montrent sceptiques quant au pouvoir cancérigène ou mutagène des composés suivants :

- 2, 3 ; 2, 4 ; 2, 5 ; 3, 4 ; 3, 5-DCP
- 2, 3, 5 ; 2, 3, 6 ; 2, 4, 5 ; 2, 4, 6-TCP
- 2, 3, 4, 6-TTCP.

IV-4 - Toxicologie des chlorophénols dans les milieux aquatiques.

Ce chapitre revêt une importance considérable dans le cadre de notre étude, car longtemps utilisés dans l'environnement aquatique pour leur pouvoir molluscicide et algicide, les chlorophénols ont donné lieu à des effets secondaires qui ont d'ailleurs motivé notre travail.

Parmi ces effets secondaires, notons le mauvais goût et la mauvaise odeur conférés à l'eau de boisson (LEE et CHAU 1983). Par extension, les simples techniques de chloration des eaux produisent les mêmes effets, même à des quantités minimales ainsi que l'altération de la saveur des poissons et d'autres organismes présents dans ces eaux (JONES 1981). Les mélanges des produits de chloration du phénol sont aussi responsables des mêmes effets. Le processus de cette chloration est représenté sur la fig. N° 4 ci-dessous :

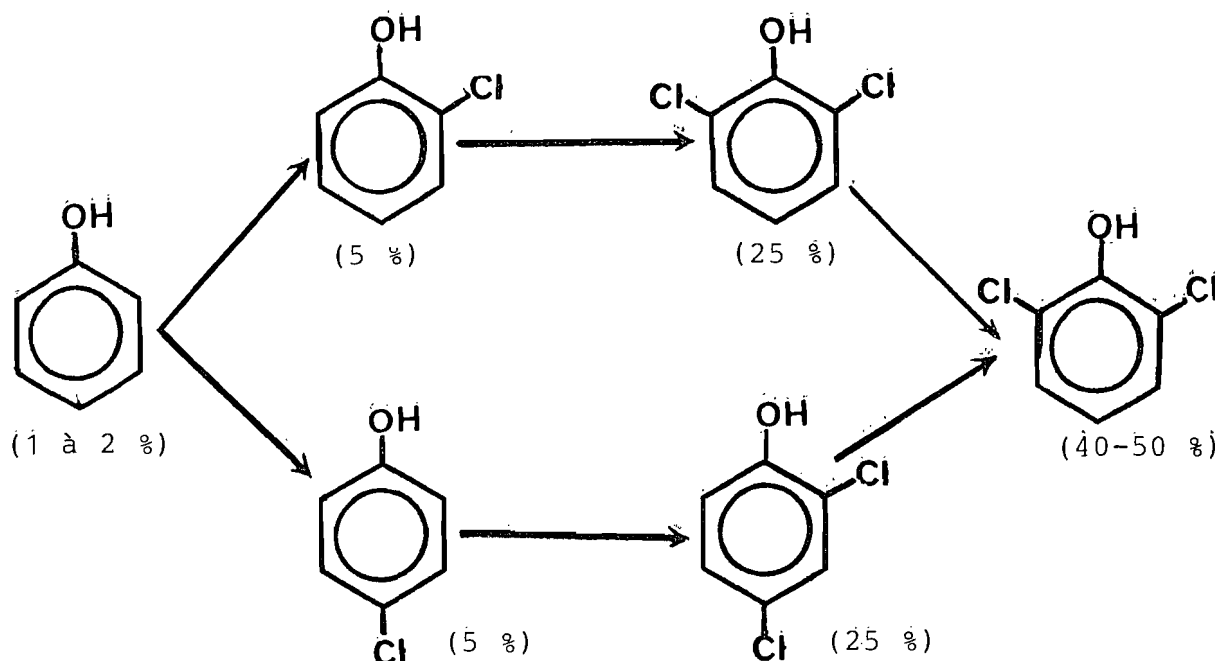


Fig. 4 : PROCESSUS DE CHLORATION DU PHÉNOL (BÜRSCHELL et al. 1959 rapporté par JONES 1981).

Coditions : Solution de phénol : 20 ppm, pH8

Chlore : 40 ppm

Chiffres entre parenthèses = quantités approxi-
matives présentes, après 18 H.

IV-5 - Mode d'action et métabolismes des chlorophénols.

VI-5-1 - Mode d'action.

Les mécanismes d'action des chlorophénols sont assez mal connus actuellement. L'action du PCP sur les systèmes enzymatiques se manifesterait par une altération du transfert d'électrons (VAN DAMK et al. cité par LEIGHTY et al. 1982) ce qui expliquerait sans doute son action découplante de la phosphorylation oxydative (SANGSTER et al. 1982; JACOBSON 1971 cité par LEIGHTY et al. 1982). Cette action découplante, qui se manifeste à faible dose, se transformerait en une action inhibitrice à forte concentration (FARQUHARSON et al. 1958; JONES 1981); les chlorophénols font partie des composés excrétés principalement sous forme inchangée ou sous forme conjuguée. Leur persistance dans le milieu biologique est fonction du degré de chloration de l'espèce exposée. Chez le poisson marin, l'accumulation du PCP est plus rapide que chez le poisson d'eau douce (TRUJILLO et al. 1982). D'après ARRHENIUS et al. 1977 a, b), le PCP s'accumulerait dans les microsomes. Par ailleurs, l'étude récente de LEIGHTY et al. (1982) montre que l'action du PCP se porte sur l'altération des propriétés des membranes lipidiques de la mitochondrie et des microsomes: Selon HOBEN et al. (1976c) et LIAO et OEHME (1981), le phénol et le PCP se lient aux protéines plasmatiques, notamment à l'albumine. LANDNER et al. (1977) notent la fixation des chlorophénols au niveau du foie et du muscle du poisson:

IV-5-2 - Métabolisme.

Les données dont nous disposons actuellement concernent le PCP et les TTCP.

Au niveau des organismes vivants aquatiques, le PCP subirait une glucuroconjugaison; de même qu'une sulfoconjugaison (GLICKMAN et al. 1977, JONES 1981).

Concernant le métabolisme des chlorophénols, nous pensons qu'il serait préférable de rapporter textuellement le résumé de DE BRUIN (1976) cité par JONES (1981):

"La plupart des composés donnent des réactions conjuguées directes, typiques du phénol. La conjugaison se limite généralement à un seul groupement OH dans le cas des phénols polyhydroxylés. L'hydroxylation aromatique constitue une réaction biologique mineure à laquelle sont soumis les phénols. L'introduction de substituants réactifs, comme COOH, NO₂ et -NH₂ permet au composé phénolique de suivre des voies métaboliques supplémentaires, même si la conjugaison demeure le mécanisme de transformation le plus favorable. Cependant, lorsque la fonction du phénol a un caractère acide assez prononcé (par exemple, les acides benzoïques mono- et dihydroxylés et le PCP) sa capacité de conjugaison est diminuée et l'élimination sous forme inchangée est accrue de façon équivalente. Ce phénomène est illustré par les phénols chlorés: A mesure que la substitution par le chlore augmente, les phénols deviennent plus acides (le pK diminue) et le degré de conjugaison se trouve réduit.

Le PCP, en plus d'être éliminé à l'état libre, donne du pentachlorophényl-p-glucuro conjugué, excrété comme métabolite mineur. Par ailleurs, le PCP entraîne la production de tétrachlorohydroquinone ; ces deux métabolites sont les seuls métabolites du PCP décelés jusqu'iciⁱⁱ. Mais à cela, il faut ajouter le phénomène de déchloration rapide du PCP, observée chez le rat, laquelle déchloration aboutit non seulement à la production de tétrachlorohydroquinone mais aussi à celle du trichloro-p-hydroquinone (fig. N° 5).

D'autres études ont montré que les produits de déchloration peuvent être les TTCP ; mais aussi le tétrachloro-p-benzoquinone. Parmi les isomères des TTCP, seul le 2, 3, 5, 6-TTCP semble subir un métabolisme pour donner le tétrachloro-p-hydroquinone excrété dans les urines (JONES 1981):

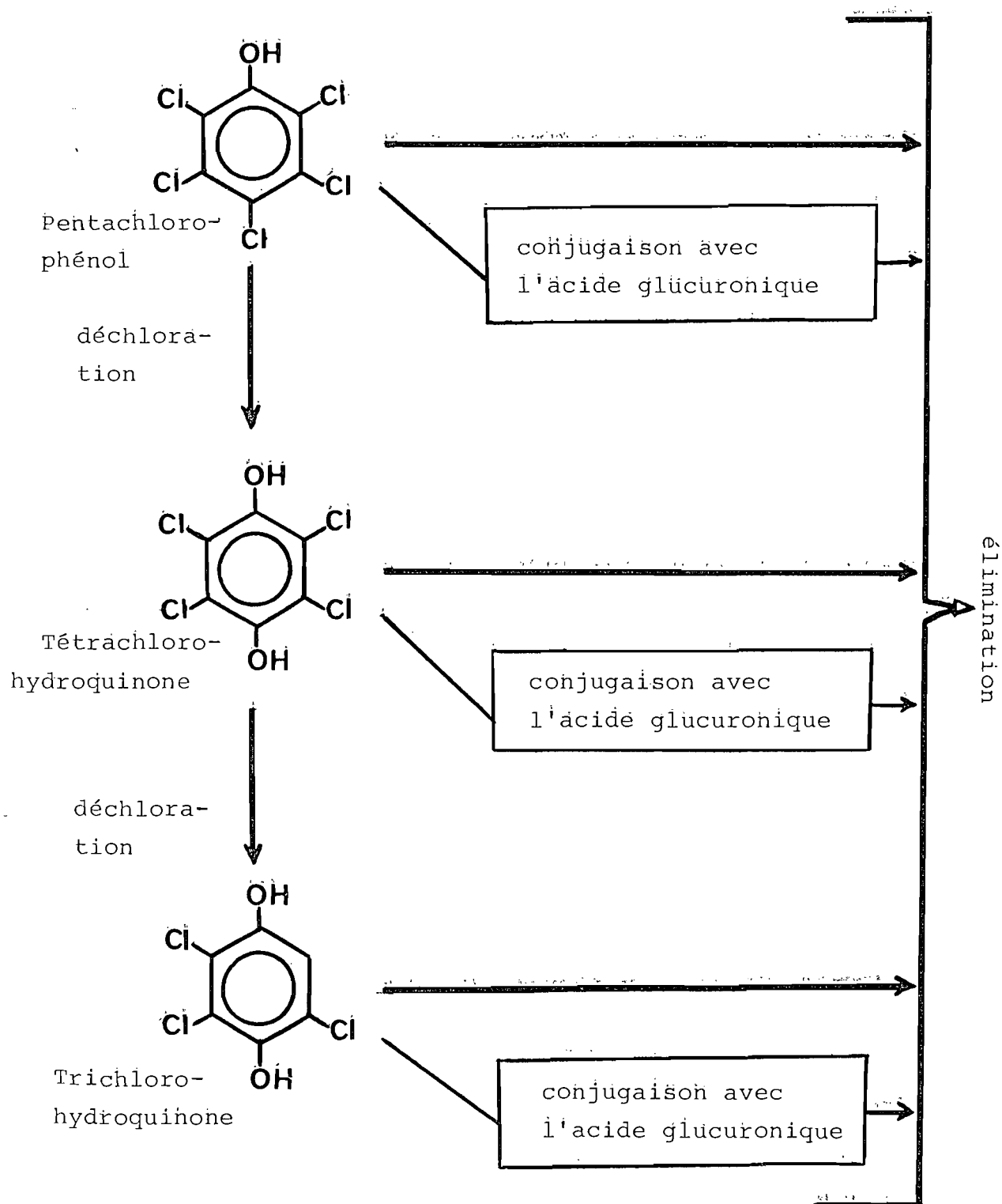


fig. N° 5 : PROCESSUS DU METABOLISME DU PCP CHEZ LE RAT
(AHLBORG 1977 rapportée par JONES 1981).

V - ASPECTS RÉGLEMENTAIRES DES CHLOROPHÉNOLS DANS LES EAUX D'ALIMENTATION.

V-1 - Législations françaises et européennes.

. En France, la teneur limite des phénols totaux dans les eaux potables est de 0 mg/l. (Communication du service de repression des fraudes).

: Au conseil des communautés européennes.

La directive du 15 juillet 1980 (SANTER 1980) fixe la teneur des phénols totaux dans les eaux de consommations humaines à 0,5 µg/l. Cette directive exclut les phénols naturels qui ne réagissent pas au chlore. Le taux du PCP est fixé à 0,5 µg/l dans le cadre des fongicides.

V-2 - Législations étrangères.

. En URSS, on distingue le phénol de chlorophénols: La teneur limite dans les eaux domestiques et d'alimentation s'établit comme suit (CHAMBON-MOUGENOT 1977) :

- phénol = 0,001 mg/l

- chlorophénols :

- dichlorophénols = 0,002 mg/l

- trichlorophénols = 0,0004 mg/l

- pentachlorophénol = 0,3 mg/l.

. A l'OMS, la teneur en phénols totaux est fixée entre 0,001 et 0,002 mg/l (CHAMBON-MOUGENOT 1977).

. Aux USA, parmi les polluants organiques prioritaires répertoriés par l'EPA (BISHOP 1980; LEE et CHAU 1983) figurent les chlorophénols suivants :

- Phénol
- Orthochlorophénol
- 2,4-Dichlorophénol
- 2, 4, 6-Trichlorophénol
- Pentachlorophénol.

Nous ne disposons pas de renseignements précis sur leur teneur dans les eaux domestiques ou d'alimentation. Seuls les phénols totaux sont limités à $1 \mu\text{g}/\text{l}$ (CHAMBON-MOUGENOT 1977).

. Au Canada, une commission mixte internationale a proposé une limite des composés phénoliques à $1 \mu\text{g}/\text{l}$ dans l'approvisionnement public en eau brute (JONES 1981).

VI - Méthodes d'analyse des chlorophénols.

VI-1 - Introduction.

Le phénol a servi de base dans l'analyse des chlorophénols. Déjà en 1915, FOLIN* permit la détection des phénols totaux par colorimétrie. Plusieurs méthodes ont été mises au point dans le but d'améliorer les analyses des phénols et de ses dérivés chlorés.

Les analyses spécifiques des chlorophénols ont réellement démarré dans les années 1968 avec ARGAUER et KAWAHRA grâce à l'utilisation de la chromatographie. Mais aujourd'hui encore, le problème des analyses des chlorophénols continue de se poser pour deux raisons essentielles :

- le problème de la séparation des différents chlorophénols au cours d'une seule et même analyse ;
- le besoin d'améliorer la sensibilité et la spécificité.

La plupart des méthodes déjà existantes sont rassemblées dans les tableaux 4 à 28 suivant les origines des milieux analysés.

* : cité par CHAMBON-MOUGENOT (1977).

VI-2 - ANALYSE DES CHLOROPHENOLS DANS L'EAU : (Tableaux 4 à 12).

TABLEAU N° 4

Référence	Produit	Technique d'extraction	Technique de dérivation	Technique de détection	Sensibilité en valeur absolue ou limite de détection
EMERSON 1943 *	phénols		4-aminoantipyrine	1ère méthode colorimétrique	une des méthodes officielles
HASKINS 1951	PCP	chloroforme en milieu alcalin	chlorure de bleu de méthylène	colorimétrie	1-100ppm
ABIGNENTE 1968 *	phénols	Extraction en milieu acide. distillation en présence d'acide phosphorique	Paranitraniline diazotée	Colorimètre	0,03 ppm
ALY 1968	phénol et chlorophénol	chloroforme	4-aminoantipyrine	CCM	sensibilité = 0,05 - 0,1 µg
ARGAEUR 1968	phénol MCP, DCP, TCP, TTCP	benzene	Anhydride chloro-acétique	CPG/ECD	0,01 ppm
KAWAHRA 1968	phénol MCP, DCP, Cresol	acétone en milieu alcalin	α-Bromo 2,3,4,5,6-pentafluorotoluène	CPG/ECD	néant
COHEN 1969	phénol, DCP, MCP, autres	hexane en milieu milieu alcalin	1-fluoro 2,4-dinitrobenzène	CPG/ECD	neant
WALLWORK 1969 *	phénols	passage sur colonne de charbon activé. élution par chloroforme	4-aminoantipyrine	CPG de préférence	néant

* :: cité par CHAMBON-MOUGENOT (1977).

TABLEAU N° 5

Référence	Produit	Technique d'extraction	Technique de dérivation	Technique de détection	Sensibilité en valeur absolue ou limite de détection
CHAMBON 1970	phénol et chlorophénol	chloroforme en milieu alcalin	4-aminoantipyrine	CCM	sensibilité : 1 µg
RÜDLING 1970	PCP	Hexane en milieu acide	Anhydride acétique	CPG/ECD MS	0,01 ppb
EHRSSON 1971	phénols	Benzène	Heptafluorobutyric anhydride	CPG/ ECD	sensibilité = 1 pg
MANCY 1971 *	phénols			Spectrométrie, I.R	-
BURNHAM 1972.	phénols et autres	passage sur XAD-2 ou XAD-7 élution par éther éthylique ou méthanol	sans	CPG/MS	néant.
GOLDEN 1972.	phénols, MCP, DCP et autres	Dichlorométhane-Hexane	α-Bromo pentafluorotoluène	CPG/ECD	sensibilité = 5 pg
SEIBER 1972	phénol, MCP, DCP, TCP, PCP crésols, autres	Dichlorométhane en milieu acide	2,6-dinitro 4-trifluorométhylphényl. (DNT)	CPG/ECD.	néant
BHATIA 1973	phénol et autres	solution aqueuse	sans	HPLC/UV 254nm	ppm
COOPER 1973	phénol et autres	methyl isobutyl ketone	trimethylchlorosilane	CPG/FID	0,1 ppm
JOHNSON 1973	pesticides phénol en général	Acétone en milieu alcalin puis iso-octane	Bromure de pentafluorobenzyle	CPG/ECD	néant

* : cité par CHAMBON-MOUGENOT (1977).

TABLEAU N° 6

Référence	Produit	Technique d'extraction	Technique de dérivation	Technique de détection	Sensibilité en valeur absolue ou limite de détection
CHAU et COBURN 1974	PCP	extraction par benzène purification et réextraction par hexane	Anhydride acétique	CPG/ECD	0,01 ppb
RENBURG 1974	TCP, TTCP, PCP	passage sur colonne échangeuse Elution par méthanol puis benzène	Diazométhane	CPG/ECG	0,001-0,1 ppb
CHRISWELL 1975	MCP, TCP, PCP	passage sur résine échangeuse d'anion, acétone	sans	CPG/FID	ppb - ppm
FOUNTAINÉ 1975	TCP	solution aqueuse	sans	Spectro UV 320nm	2 ppb
SONNEBORN 1975*	Phénol	Distillation, concentration, extraction par chloroforme	4-aminoantipyrine	Colorimétrie à 460 nm	5 ppb
FOUNTAINÉ 1976	PCP	Extraction par chloroforme en milieu acide concentration	sans	Spectro uv	néant
KRIJGSMANN 1977	CP : 19 CP et autres	Toluène-hexane	Anhydride acétique	CPG capillaire/ ECD	1 pg pour PCP

* : cité par CHAMBON-MOUGENOT 1977.

TABLEAU N° 7

Référence	Produit	Technique d'extraction	Technique de dérivation	Technique de détection	Sensibilité en valeur absolue ou limite de détection
PIERCE 1977	PCP	Benzène en milieu acide	Diazométhane ou Diazoéthane	CPG/ECD MS	néant
FREUDENTHAL 1978	CP et autres	Identification	sans	CPG/MS	néant
LAMPARSKI 1978	phénol, MCP, DCP, TCP crésol	Benzène en milieu acide	Heptafluoro-butyle imidazole (HFBI)	CPG/ECD	10 à 20 ppb
RODIER 1978a.	PCP	Distillation en milieu alcalin extraction par chloroforme en milieu acide	Sulfate de cu + pyridine	colorimétrie 450 nm	0,5 ppm
RODIER 1978b	phénols	Distillation en milieu acide	réactif de MILLON (mercure + acide nitrique)	Colorimétrie	0,5 ppm.
		Paranitraniline	sur l'échantillon	Colorimétrie	0,05 ppm.
		4-aminoantipyrine	sur l'échantillon	Colorimétrie 510 nm	0,05 ppm
		Tétrachlorure de carbone et thiosulfate de sodium	Bromure bromate	Infra. rouge	néant
		Ether éthylique en milieu alcalin	2,6-dibromoquinone chloroimide	Colorimétrie 625 nm	0,01 - 2 ppm

TABLEAU N° 8

Référence	Produit	Technique d'extraction	Technique de dérivation	Technique de détection	Sensibilité en valeur absolue ou limite de détection
RODIER 1978c	2-CP, 4-CP 2, 6-DCP	Ether de pétrole en milieu acide puis hydroxyde d'ammonium	4-aminoantipyrine	Colorimétrie	néant
SORENSEN 1978	CP	Extraction en milieu alcalin et acide	Diazométhane	CPG capillaire/ ECD	1 ppb
ARMENTROUT 1979	CP	Résine échangeuse cations	sans	HPLC phase inversée détecteur électrochimique	1 ppb
COUTTS 1979	2, 4-DCP, phénol crésol, naphtol	Dichlorométhane	Anhydride acétique	CPG/ECD	8 - 40 ppb
FAAS 1979	PCP	Ether éthylique purification sur florisil	Diazométhane	CPG/ECD, HPLC uv 254 nm	2 ppb
ANONYME 1979	CP	Dichlorométhane en milieu acide concentration	sans	CPG/FID	2 - 10 ppb

TABLEAU N° 9

Référence	Produit	Technique d'extraction	Technique de dérivation	Technique de détection	Sensibilité en valeur absolue ou limite de détection
ANONYME 1979	CP	Dichlorométhane en milieu acide puis concentration	Bromure de pentafluorobenzyle	CPG/ECD	10 ppb
HUSSAIN 1979	DCP, TCP, TTCP, phénol crésol	solution chloroformique	sans	HPLC. 254 nm.	néant
LYNCH 1979	phénol ou PCP	Injection directe ou passage en colonne Sep-Pak	sans	HLPC 360 ou 280 nm	1 ppm
RAGHAVAN 1979	phénol et hydroxyphénols	solution standard	sans	HLPC phase inversée. 280 nm	10 ppb
WEGMAN 1979	MCP, DCP, TCP, TTCP, PCP	Toluène puis Ether de pétrole	Anhydride acétique	CPG capillaire/ECD	0,01 - 2ppb
BISHOP 1980	CP	Extrait organique acide	sans	CPG/MS	25 ppb
GIAM 1980	PCP	éther de pétrole/éther éthylique en milieu acide puis acétonitrile	sans	HPLC	ppb
GOLDBERG 1980	MCP, DCP TCP, TTCP	Dichlorométhane	Héxaméthyl-disilazane (HMDS)	CPG/FID	1 ppb

TABLEAU N° 10

Référence	Produit	Technique d'extraction	Technique de dérivation	Technique de détection	Sensibilité en valeur absolue ou limite de détection
MORGAGE 1980	CP	Dichlorométhane en milieu acide	Diazoéthane	CPG/ECD	0,3 à 8,1 ppm
MATHEW 1981	CP dont DCP TCP, PCP	Dichlorométhane puis concentration	Anhydride acétique	CPG/FID	0,5 ppb
OTSØN 1981	MCP, DCP TCP, autres CP	Héxane	sans	CPG/ECD	≤ 5 ppb
REALINI 1981	MCP, DCP, TCP, PCP	Dichlorométhane en milieu acide	sans	HPLC	ng
RENBORG et LINDSTROM 1981	DCP, TCP, PCP, TTCP et autres	Acétone	Anhydride acétique	CPG capillaire/ECD	néant
RENBORG 1981	phénol, DCP et autres	Héxane en milieu alcalin	Chlorure de pentafluorobenzoyle (PFB)	CPG capillaire/ECD/MS	néant

TABLEAU N° 11

Référence	Produit	Technique d'extraction	Technique de dérivation	Technique de détection	Sensibilité en valeur absolue ou limite de détection
RENNIE 1982	phénol	Distillation puis extraction finale par Hexane	Bromation = solution de Bromure - bromate	CPG/ECD	0,1 ppb
SHOUP 1982	phénol et PCP	Injection directe après extraction par Hexane	sans	HPLC à détecteur électrochimique	0,1-10 ppb
ABRAHAMSSON 1983	DCP-TCP TTCP	hexane en milieu alcalin	anhydride acétique	CPG/ECD	1-2 ppt
BLO 1983	phénol MCP DCP, TCP, autres	Chloroforme en présence de hexacyonoferrate de K	4-aminoantipyrine	HPLC en phase inversée U.V. 480 nm	ppb-ppm
BUCKMAN 1983	CP	Chloroforme	Méthylbenzothiazolinone hydrazone (MBTH)	Colorimétrie	0,1 ppb
FOLKE 1983	MCP-DCP-TCP et autres	hexane-éther éthylique en milieu acide puis hexane en milieu alcalin	-chlorure de pentafluorobenzoyl -anhydride acétique	CPG/ECD	0,05 ppb

TABLEAU N° 12

Référence	Produit	technique d'extraction	technique de dérivation	technique de détection	sensibilité en valeur absolue ou limite de détection
KORHONEN 1983	CP	Acétylation par la méthode de RENBERG et LINDSTROM (1981)		CPG capillaire FID MS	néant
LEE H-B. 1984a	CP	Ether de pétrole purification sur colonne de silice	Anhydride acétique	CPG capillaire/ECD /MS	0,1-100 ppb
LEE H-B. 1984 b	CP	Dichlorométhane en milieu acide puis toluène-hexane	Bromure de pentafluorobenzyle	"	0,1 ppb
LEE H-B. 1985	CP	Ether de pétrole purification sur colonne de silice	Anhydride chloroacétique	"	0,1-100 ppb

VI-3 - ANALYSES DES CHLOROPHENOLS DANS LES MÍLIEUX BIOLOGIQUES
(TABLEAUX 13 à 20)

TABLEAU N° 13

Référence	Produit	Technique d'extraction	Technique de dérivation	Technique de détection	Sensibilité en valeur absolue ou limite de détection
DEICHMANN* 1942	phénols totaux	Acidification préalable extraction par solv. organique ou distillation	Acide sulfanilique	Colorimétrie	
TRUHAUT 1952 _a	PCP	Entraînement à la vapeur après acidification	sans	Argentimétrie	néant
ABIGNENTE* 1968	phénols totaux	"	4-aminoantipyrine	Photométrie	30 ppb
BEVENUE 1968	PCP (sang)	Hydrolyse acide, extraction par Benzène.	Diazométhane	CPG/ECD CCM	20 ppb
BARTHEL 1969	PCP (sang, urine)	Benzène en milieu acide	sans	CPG/ECD /MS	Sensibilité : 0,02-0,1 ng

TABLEAU N° 14

Référence	Produit	Technique d'extraction	Technique de dérivation	Technique de détection	Sensibilité en valeur absolue ou limite de détection
DESOILLE 1969	phénols totaux urines	Hydrolyse acide extraction par acétate d'éthyle	sans	CPG/détecteur non précisé	néant
RUDLING 1970	PCP (poisson)	Extraction par hexane en milieu acide	Anhydride acétique	CPG/ECD puis vérification par CPG/MS	néant
HEISTAND 1972	phénols totaux urines	Acidification extraction ou distillation	4-aminoantipyrine	Colorimétrie	néant
RIVERS 1972	PCP (sang, urine)	Benzène en milieu acide	Diazométhane	CPG/détecteur non précisé	0,01 ppm

TABLEAU N° 15

Référence	Produit	Technique d'extraction	Technique de dérivation	Technique de détection	Sensibilité en valeur absolue ou limite de détection
SHAFIK 1973	PCP, hexachlorophène (tissu adipeux)	Extraction puis purification sur colonne de Silice	Diazométhane	CPG/ECD	5 ppb
DIRMIKIS 1974	MCP, phénol crésol, autres (urine)	Ether éthylique milieu acide puis chloroforme	Triméthylchlorosilane	CPG/FID	néant
RENBERG 1974	TCP, TTCP, PCP (poisson)	Hexane/acétone, purification sur résine	Diazométhane	CPG/ECD	0,1 ppb
CLARK ^{**} 1975	DCP, TCP (foie, muscle, rein)	1) Acidification puis distillation 2) Hydrolyse alcaline puis distillation après acidification : purification	Triméthylchlorosilane (triméthylsilyl)		0,02 ppm pour 2, 4-DCP 0,01 ppm pour 2, 4, 5-TCP

** : d'après ANONYME 1982.

TABLEAU N° 16

Référence	Produit	Technique d'extraction	Technique de dérivation	Technique de détection	Sensibilité en valeur absolue ou limite de détection
FARRINGTON 1976	TCP, TTCP, PCP (chair de poulet)	Hydrolyse acide distillation, pentane	2,4-dinitro-1 fluorobenzène	CPG/ECD	0,002-0,005 ppm
HOBEN 1976 _a	PCP (plasma, urine, tissu)	milieu acide, Benzène ou hexane, purification sur florisil	Diazométhane	CPG/ECD	20 ppb
GLICKMAN 1977	PCP, (poisson)	non précisé	sans	CPG/ECD CCM	néant
PIERCE 1977	PCP (poisson)	Acidification, extraction par benzène	Diazométhane	CPG/ECD MS	néant
ERNEY 1978	PCP (lait)	milieu acide, benzène	Anhydride acétique	CPG/ECD	5 ppb

TABLEAU N° 17

Référence	Produit	Technique d'extraction	Technique de dérivation	Technique de détection	Sensibilité en valeur absolue ou limite de détection
MAKITA 1978	phénol, DCP, DCP, MCP, autres (urine)	Digestion acide, extraction par éther éthylique	10, isobutyloxy-carbonyl	CPG/FID	néant
EDGERTON et al. 1979	TTCP, PCP (urine)	Hydrolyse acide, extraction, purification	Diazométhane	CPG/ECD	1 ppb
EDGERTON et MOSEMAN 1979	PCP (urine)	Hydrolyse acide, extraction, purification sur colonne d'alumine	Diazométhane	CPG/ECD	ppb
FAAS et MORE 1979	PCP (poisson, tissu)	milieu acide, éther purification sur florisil	Diazométhane	CPG/ECD, HLPC UV, 254 nm	5 ppm
FIRESTONE 1979	PCP (lait)	Hexane/isopropanol en milieu acide purification	Diazométhane	CPG/ECD	néant

TABLEAU N° 18

Référence	Produit	Technique d'extraction	Technique de dérivation	Technique de détection	Sensibilité en valeur absolue ou limite de détection
OHE 1979	PCP (tissu adipeux)	Hexane	Anhydride acétique	CPG/ECD	Sensibilité = 2,5 pg
BORSETTI 1980	PCP (lait)	Hexane/propanol en milieu acide purification	- Injection sans dérivation	CPG/ECD	4 ppm
	PCP (sang)	Hexane en milieu acide purification	- Diazométhane pour confirmation	CPG/ECD	10 ppb
EDGERTON et al. 1980	CP (urine)	Acidification puis purification sur XAD ₄ résine. Elution par propanol/Hexane	sans	CPG/ECD	1-50 ppb
KUEHL 1980	PCP (urine)	Distillation après acidification ou gel de perméation	Silylation par TRI-SIL-BSA	CPG/MS	néant

TABLEAU N° 19

Référence	Produit	Technique d'extraction	Technique de dérivation	Technique de détection	Sensibilité en valeur absolue ou limite de détection
LAMPARSKI 1980	CP et Chlorobenzène (matrices biologiques)	Digestion en milieu acide extraction par hexane-benzène	Diazométhane	CPG/ECD	10-15 ppb
MORGADE 1980	CP (sang)	Dichlorométhane en milieu acide	Diazométhane	CPG/ECD	0,03-0,7 ppm
	CP (tissu adipeux)	Hexane en milieu alcalin puis Ether éthylique en milieu acide	Diazométhane	CPG/ECD	0,14-4,6 ppm
MURRAY 1980	PCP (tissu)	extraction acétone/acétonitrile puis hexane en milieu alcalin puis acide	Diazométhane	CPG/ECD	néant
NEEDHAM 1980	OCP (serum)	Benzène en milieu alcalin puis chloroforme en milieu acide	sans	HLPC phase inversée UV 280 nm	50 ppb
BALDWIN 1981	phénol ((urine)	extraction en milieu acide	sans	CPG/FID	néant

TABLEAU N° 20

Référence	Produit	Technique d'extraction	Technique de dérivation	Technique de détection	Sensibilité en valeur absolue ou limite de détection
LORES 1981	CP (urine)	Digestion acide puis passage sur résine XAD ₄ . Elution par propanol-hexane	sans	CPG/ECD HLPC avec détecteur électrochimique	ppb
SACKAMAUEROVA- VENINGEROVA 1981	DCP, TCP, (viande, foie)	Distillation après acidification puis extraction par toluène	Iodure de méthyle ou diazométhane	CPG/ECD directe ou CPG/ECD après dérivation	0, 01 ppm
SIQUIERA 1981	PCP (urine)	Digestion acide Extraction par benzène	Anhydride acétique	CPG/ECD	10 pg
HARGESHEIMER 1983	Phénols et chlorophénols (urines)	Hydrolyse acide Extraction par Dichlorométhane	Anhydride acétique ou Anhydride propionique	CPG/ECD ou FID CPG/MS	néant

VI-4 - ANALYSES DES CHLOROPHENOLS DANS LES VEGETAUX
(TABLEAUX N° 21 et 22)

TABLEAU N° 21

Référence	Produit	Technique d'extraction	Technique de dérivation	Technique de détection	Sensibilité en valeur absolue ou limite de détection
CSERJESI 1972**	PCP (I. Virgatum)	Acétone, distillation, purification	Diazométhane Triméthylchlorosilane	CPG/ECD Colorimétrie	
VAN LANGEVELD 1975	PCP (jouets peints)	Acétone	Chlorure de dansyl	CPG/FID CCM	1 ppm 4 ppm
LINDSTROM 1976	DCP, TCP (pâte de bois)	Ether éthylique	Diazométhane	CPG/capillaire /ECD, FID, MS	néant
BRUNS 1977**	TTCP, PCP (pomme de terre, carotte)	Différents solv. d'extraction avec ou sans dérivation	Diazométhane	CPG/ECD	4 ppb
LEVIN 1977	TTCP, PCP (poussière de bois)	Ether	Diazométhane	CPG/ECD CCM	néant
MAYBURY 1980**	PCP (graines aliments secs)	Acétonitrile-eau puis purification	Diazométhane	CPG/ECD	

** : d'après ANONYME 1982.

TABLEAU N° 22

Référence	Produit	Technique d'extraction	Technique de dérivation	Technique de détection	Sensibilité en valeur absolue ou limite de détection.
Mc KAGUE 1981	DCP, TCP et autres (pâtes de bois)	passage sur XAD ₂ puis élution par Ether éthylique	Heptafluorobutyrique anhydre et triméthylamine	CPG/ECD	néant
Mc DONALD 1984	TTCP, PCP (bois)	Colonne échangeuse d'anion Elution par acide acétique dans méthanol	sans	HLPC phase inversée UV 230 nm	néant

VI-5 - ANALYSE DES CHLOROPHENOLS DANS LE SOL

(TABLEAU N°23)

TABLEAU N° 23

Référence	Produit	Technique d'extraction	Technique de dérivation	Technique de détection	Sensibilité en valeur absolue ou limite de détection
STARK 1969**	PCP	Extraction en milieu neutre	Diazométhane	CPG/ECD	0,5 ppb
RENBURG 1974	TCP, TTCP, PCP	Extraction, purification sur résine	Diazométhane	CPG/ECD	0,1 ppb

** : d'après ANONYME 1982.

VI-6 - ANALYSE DES CHLOROPHENOLS DANS L'AIR

(TABLEAUX N° 24 à 25)

TABLEAU N° 24

Référence	Produit	Technique d'extraction	Technique de dérivation	Technique de détection	Sensibilité en valeur absolue ou limite de détection
SMITH 1959*	phénols totaux	passage sur charbon activé élution par le benzène		Colorimétrie	
STANLEY 1965*	phénols totaux	solution alcaline de l'échantillon		Colorimétrie	
LAHMANN 1966*	phénols totaux	solution alcaline de l'échantillon		Colorimétrie	
JOSKO 1969*	phénols totaux	solution alcaline de l'échantillon		Colorimétrie	
MANITA 1969*	phénols totaux	solution alcaline de l'échantillon		Spectre UV directe après alcalinisation	

* : d'après CHAMBON-MOUGENOT 1977.

TABLEAU N° 25

Référence	Produit	Technique d'extraction	Technique de dérivation	Technique de détection	Sensibilité en valeur absolue ou limite de détection
SMITH 1970 (*)	phénols totaux	solution alcaline de l'échantillon	4-aminoantipyrine	Colorimétrie	
ORLAVSKAYA (*) 1971	phénols totaux	solution alcaline de l'échantillon		Colorimétrie	
SCHAFFERNICHT (*) 1974	phénols totaux	solution alcaline de l'échantillon		Colorimétrie	
GROMIEC. 1976 **	PCP	Elution par Ether éthylique, concentration, oxydation par acide sulfochromique	Acide sulfochromique	Argentimétrie	
HOBEN 1976 _a	PCP	solution alcaline de l'échantillon	Diazométhane	CPG/ECD	20 ppb
LEVIN 1976 (*)	phénols totaux	passage sur charbon activé puis élution par benzène		Colorimétrie	
HAGEMANN 1978 (*)	phénol			passage de l'air sur colonne de Tenax.	

(*) : d'après CHAMBON-MOUGENOT 1981.

** : d'après ANONYME 1982.

VI-7 - ANALYSES DES CHLOROPHENOLS DANS LES AUTRES MILIEUX

(TABLEAUX N° 26 à 28)

TABLEAU N° 26

Référence	Produit	Technique d'extraction	Technique de dérivation	Technique de détection	Sensibilité en valeur absolue ou limite de détection
SKELLY 1961	CP	Résine échangeuse d'anions	sans	Spectro UV	néant
KOLLOFF 1963	MCP ,DCP,TCP TTCP,PCP	solution benzénique	sans	CPG/ECD	néant
KUSHNIR 1970	phenol et autres	solution acétonique puis acétate d'éthyle	paranitraniline	CCM CPG/FID	néant
RESS 1970	MCP, DCP, TCP,TTCP, PCP	Solution standard	sans	CPG/ECD	néant
DI CORCIA 1973	Chlorophénols dt phénol crésol, DCP	Etude de la séparation	sans	CPG/FID	néant
FREI 1973 b	MCP,DCP,TCP, PCP	solution acétonique	chlorure de dansyl	CCM	néant
BRADY 1974	phenol et autres	solution standard	sans	CPG/FID	néant
FOUNTAINÉ 1975	PCP	Solution standard	sans	Spectro UV 320 nm	néant
FRANCIS 1978	phénol, MCP crésol et autres	Solution standard dans toluène	Pentafluorophényldiméthylsilyl (flophèmesyl)	CPG/ECD	néant

TABLEAU N° 27

Référence	Produit	Technique d'extraction	Technique de dérivation	Technique de détection	Sensibilité en valeur absolue ou limite de détection
EICEMANS 1980	MCP, TCP	Solution standard dans dichlorométhane. Essais sur différentes colonnes	sans	CPG/FID	néant
LEHTNON 1980	phénol, crésol et autres	Solution aqueuse éthanolique extraite par l'héxane	1 fluoro, 2, 4-triéthylamine	CPG capillaire/ECD	0,01-0,09 ng
LEE D.P. 1982	MCP, DCP, TCP, TTCP, PCP	Solution standard dans acétonitrile	sans	HLPC phase inversée UV 210 nm	néant
LEPRI 1982	Chloro, bromo et alkyl phénols	Solution standard	Dioxyde d'azote + vapeur d'ammoniac	HPTLC	néant
Mc LEOD 1982	MCP, DCP, TCP, TTCP, PCP	Solution standard	sans	HPLC phase inversée UV 254 nm	néant
AKERBLOM 1983	CP et autres	Solution standard	sans	HLPC phase inversée détecteur électrochimique couplé à UV 280 nm	néant

TABLEAU N° 28

Référence	Produit	Technique d'extraction	Technique de dérivation	Technique de détection	Sensibilité en valeur absolue ou limite de détection
KNUUTINEN 1983	CP	Solution standard	Anhydride acétique	CPG capillaire /FID (SE 30 = 25 m)	néant
LEE H-B.1983	Chlorophénol et autres	Solution acétonique de phénol en milieu alcalin. Evaporation puis Hexane	Bromure de Pentafluorobenzyle	CPG capillaire/ECD	Sensibilité 0, 5-5 pg
ONO 1983	DCP	non précisé		CPG/FID	néant
SHAHWAN. 1983	CP et autres	Solution méthanol-eau ou solution acétonitrile-eau	sans	HLPC. phase inversée. UV 254 ou 280 nm	néant

M I S E A U P O I N T A N A L Y T I Q U E

(T R A V A U X P E R S O N N E L S)

INTRODUCTION.

La large utilisation des chlorophénols dans l'environnement entraîne des contaminations au niveau des eaux d'alimentation et en raison des faibles concentrations pouvant donner lieu à des modifications du goût et d'odeur (de l'ordre de quelques ppb) (JONES 1981 , LEE et CHAU 1983) ; il est nécessaire d'avoir les moyens analytiques adéquats.

Le but essentiel de ce travail est de parfaire la séparation des chlorophénols, d'en améliorer la sensibilité et la spécificité par l'utilisation de réactifs de dérivation adéquats, mais d'en simplifier la technique d'extraction. La présence d'un étalon interne permettra de corriger les variations éventuelles de la réponse du détecteur ou les erreurs de manipulation.

Les expérimentations se feront par chromatographie phase gazeuse d'une part sur la colonne remplie avec détecteur à ionisation de flamme et d'autre part, sur colonne capillaire avec détecteur à capture d'électrons.

I - LA CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE.

Nous nous contenterons ici de donner des généralités sur cette méthode d'analyse, mais seule la chromatographie capillaire en mode "Splitless" fera l'objet de plus amples descriptions.

I-1 - Définition.

La chromatographie est une méthode physique de séparation où les composants à séparer sont répartis entre deux phases : la phase stationnaire et la phase mobile. On parle de chromatographie en phase gazeuse lorsque la phase mobile est un gaz. La CPG est donc une variable des méthodes chromatographiques.

I-2 - Colonne. (PREVOT 1968, RAMOND 1977).

Elle permet la séparation complète des différents constituants d'un échantillon. Elle est caractérisée par sa bonne résolution (écart entre les pics) et par son efficacité (exprimée en nombre de plateaux théoriques).

On distingue deux types de colonnes : les colonnes garnies ou colonnes remplies et les colonnes capillaires.

Les colonnes garnies ont un diamètre de 3 à 6 mm pour une longueur ne dépassant pas généralement 6 m au risque d'entraîner des pertes excessives de la charge de la colonne.

Quant aux colonnes capillaires, elles ont un diamètre compris entre 0,1 et 1,5 mm avec une longueur pouvant atteindre 100 m.

I-2-1 - La phase stationnaire.

Son choix est fonction de sa sélectivité vis-à-vis de l'échantillon.

I-2-2 - Le support.

Il a pour rôle de maintenir la phase stationnaire sur une surface importante.

I-3 - Détecteurs.

On distingue plusieurs types de détecteurs dont le détecteur à ionisation de flamme et le détecteur à capture d'électrons utilisés pour notre étude.

I-3-1 - Détecteur à ionisation de flamme.

Principe : en sortie de colonne, de l'hydrogène est ajouté à l'effluent qui brûle ensuite en présence d'air ou d'oxygène. Cette flamme produit des ions dont la quantité est augmentée considérablement en présence d'un composé ; ce courant d'ions est alors collecté par une électrode portée à un potentiel d'environ 300 V. Il est ensuite amplifié et enregistré. Il présente les propriétés suivantes :

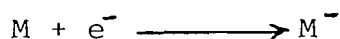
- grande sensibilité aux composés organiques
- insensible aux variations de température
- volume intérieur pratiquement nul
- temps de réponse extrêmement faible
- grand domaine de linéarité.

Ce détecteur sera utilisé pour notre étude sur colonne remplie.

I-3-2 - Détecteur à capture d'électrons.

Découvert en 1957 par LOVELOCK, le détecteur à capture d'électrons est doté d'une grande sélectivité qui justifie son utilisation pour l'analyse de mélanges complexes, mais aujourd'hui, d'énormes progrès technologiques ont permis son utilisation en routine.

Principe : son principe est fondé sur la propriété de certaines molécules de pouvoir capturer des électrons et former ainsi un ion moléculaire négatif :



ceci entraîne la disparition d'électrons libres, donc la diminution de l'intensité dont l'enregistrement permet de détecter la présence d'un composé.

Les électrons sont émis par une source radioactive (tritium ou nickel 63).

Ce détecteur sera utilisé pour notre étude en CPG capillaire.

I-4 - Analyse quantitative.

Il s'agit ici de quantifier le pic obtenu, après que les conditions opératoires aient été remplies. Cela fait appel à plusieurs types de calculs dont la méthode manuelle par triangulation ou la méthode par intégration électronique. Nous avons utilisé ces deux méthodes.

I-5 - Colonnes capillaires.

I-5-1 - Généralités. (RAMOND 1977).

Depuis une quinzaine d'années, les laboratoires utilisent les colonnes capillaires à cause de leur efficacité. Elles sont donc souhaitées pour l'étude de la séparation des composés aussi complexes que les chlorophénols.

I-5-2 - Définition.

Les colonnes capillaires se présentent comme des tubes de grande longueur et de faible diamètre (< à 1 mm) HERILIER (1980).

En général, elles ne contiennent que la phase stationnaire (pas de support), déposée sous forme d'un film mince sur la paroi intérieure du tube (RAMOND 1977) fig. N° 6

Ce sont les colonnes capillaires classiques que l'on appelle aussi colonnes de GOLAY ; colonnes à tube ouvert ; WCOT (wall coated open tubular) ; COT (classical open tubular) HERILIER (1980).

Depuis quelques années, on trouve des colonnes garnies intérieurement d'un support de très faible granulométrie ; il s'agit des colonnes SCOT (support coated open tubular) et les PLOT (porous layer open tubular). (RAMOND 1977, HERILIER 1980) fig. N° 7.

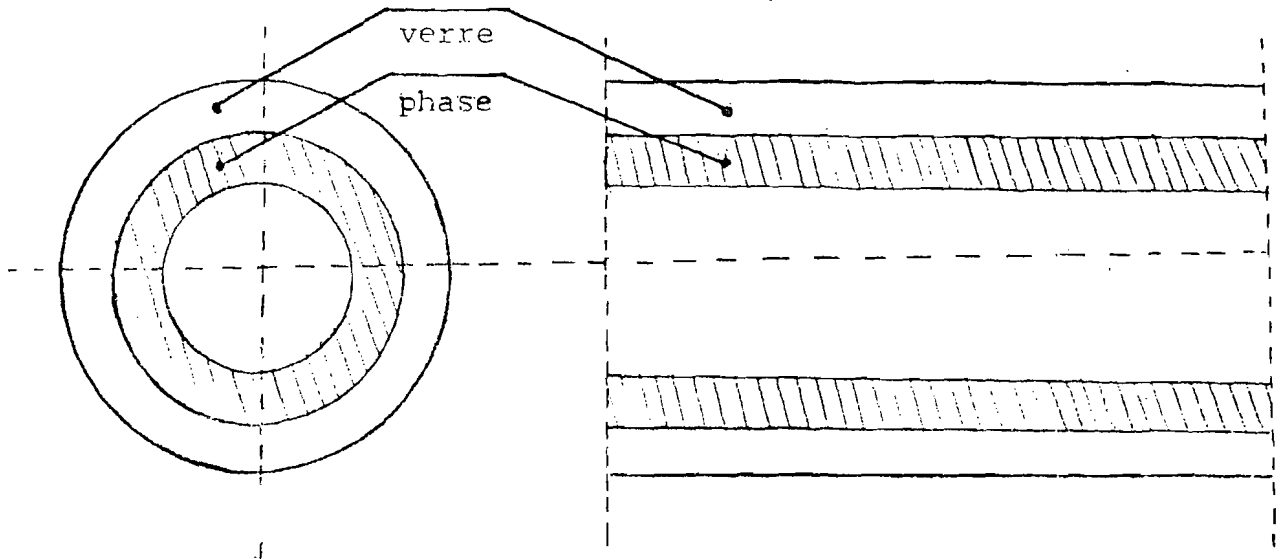


FIG. 6 : COUPE D'UNE COLONNE CAPILLAIRE EN L'ABSENCE DE SUPPORT

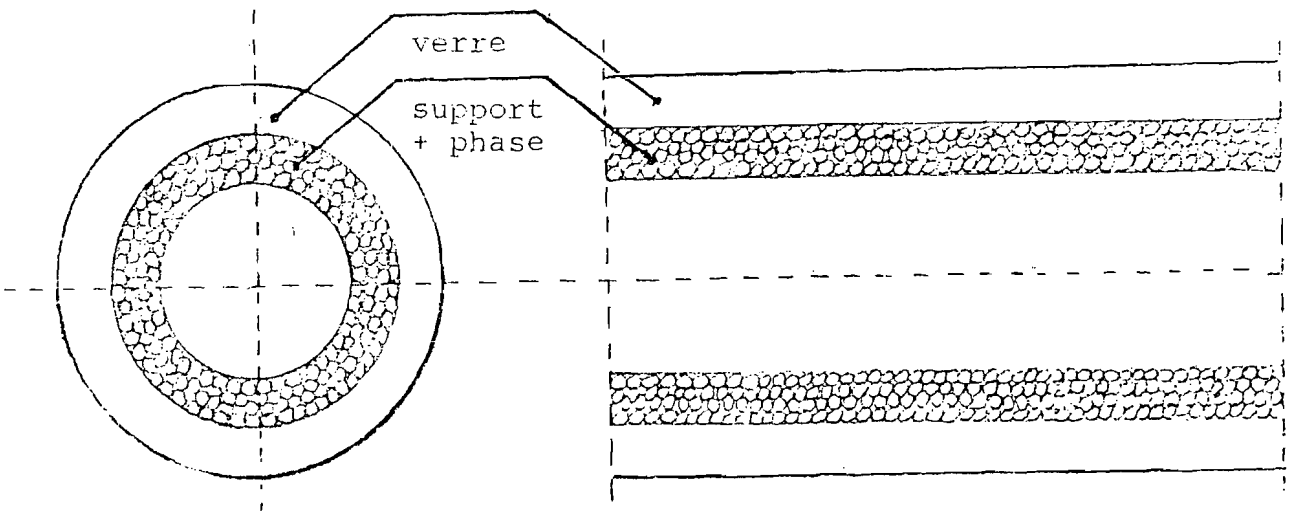


FIG. 7 : COUPE D'UNE COLONNE CAPILLAIRE EN PRESENCE DE SUPPORT

I-5-3 - Définition de la méthode "splitless".

C'est une méthode utilisée pour injecter de très faibles volumes d'échantillon (0,5 à 3 μ l) dans une colonne capillaire.

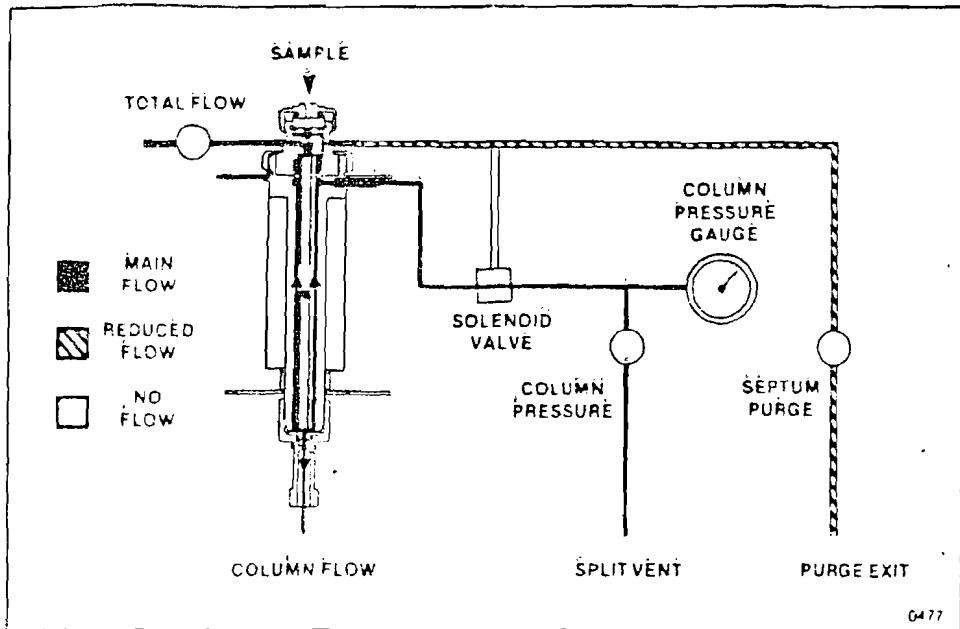
Son principe consiste à envoyer sur la colonne la totalité de l'échantillon (injection sans déviation par opposition à injection avec division ou split), mais en effectuant une concentration préalable en tête de colonne. Les vapeurs de solvant résiduel à l'intérieur de l'injecteur sont chassées tout de suite après l'injection pour éviter les traînées de pics ; ce qui oblige en général à opérer en fonction du point d'ébullition de chaque solvant.

Exemple :

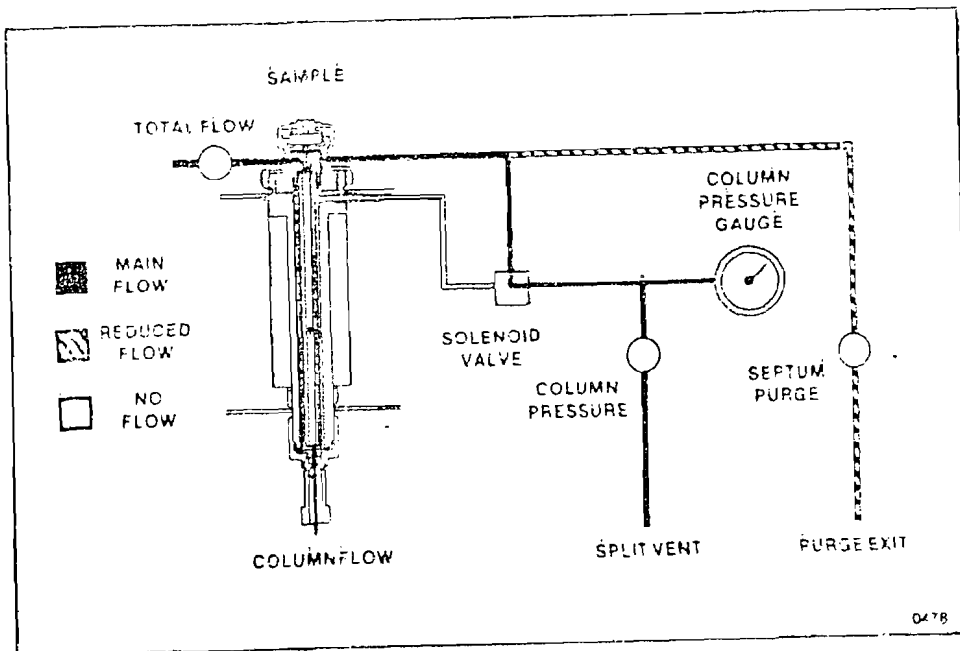
<u>Solvants</u>	<u>Eb</u>	<u>Température initiale recommandée</u>
Ether éthylique	35°C	10 - 25°C
Pentane	36°C	10 - 25°C
Dichlorométhane	40°C	10 - 30°C
Sulfure de Carbone	46°C	10 - 35°C
Chloroforme	61°C	25 - 50°C
Hexane	69°C	40 - 60°C
Isooctane	99°C	70 - 90°C

mécanisme de la méthode splitless

Le débit de purge de l'injecteur passe à travers puis autour de celui-ci pour chasser le solvant résiduel et les impuretés. Lorsque le bouton de "splitless" est allumé, une vanne interne bloque le débit de purge de l'injecteur (le gaz suit un autre chemin mais sort toujours par "split vent". À ce moment-là, l'échantillon injecté est totalement entraîné dans la colonne ; ceci dure en général 40 à 60 sec. puis l'écoulement se normalise. Ce phénomène permet de balayer et de chasser de l'injecteur, les vapeurs de solvant résiduel en évitant ainsi leur interférence sur les premiers pics élués. (Voir schéma explicatif. (fig. N° 8



Normal Splitless Mode Flow Pattern



Splitless Mode Flow Pattern at Injection

FIG. 8 SCHEMA EXPLICATIF DE LA FICHE TECHNIQUE
(HEWLETT PACKARD)

II - ESSAIS DE SEPARATION DES CHLOROPHENOLS EN CPG.

C'est à partir des années 1968 que différents auteurs se sont intéressés à l'analyse des chlorophénols en chromatographie phase gazeuse. Ils se sont de plus en plus tournés vers la séparation des différents isomères, vu la multiplicité des colonnes déjà utilisées. Selon EDGERTON et MOSEMAN (1980), parmi les différentes phases des colonnes utilisées, la DGS (double support-bonded DEGS) serait la meilleure en séparant 11 composés sur les 19 chlorophénols retenus ; malheureusement, la durée d'analyse est assez longue (34 mn).

LEE et CHAU (1983) ont rapporté une bonne séparation des chlorophénols sur colonne 3 % OV₁, mais les temps de rétention sont trop voisins (ex. : 6 à 9 sec d'écart).

II-1 - Essais de séparation des CP en CPG colonnes remplies avec détecteur à ionisation de flamme.

II-1-1 - Les chlorophénols non dérivés.

Nous les étudierons en CPG capillaire .

II-1-2 - Les chlorophénols dérivés.

II-1-2-1 - Préparation des échantillons.

Nous nous sommes inspirés de la technique d'acylation des diols (BLAU et KING 1977) :

4 ml de solution étherée[⊕] de phénol et chlorophénols
+ 0,5 ml d'un mélange extemporané de pyridine (1 ml) et
d'Anhydride acétique (1 ml).

Le mélange est chauffé à 100°C pendant 20 mn puis
analysé par CPG.

⊕ Après un essai préliminaire sur les différents sol-
vants organiques, nous avons retenu l'éther de pétrole pour
son faible temps de rétention et son utilisation relativement
aisée.

II-1-2-2 - Les différentes phases de colonnes utilisées.

II-1-2-2-1 - Colonne_QF₁.

Conditions chromatographiques :

colonne : 2 m de long et 3 mm de diamètre

Température d'injection = 175°C ; température du four : 130°C

Température de détection = 235°C

Débit d'azote = 1 Atm

Débit d'hydrogène = 0,5 Atm

Débit d'air = 1,5 Atm

Résultats : c.f. tableau : N° 29

Produit acétylés	Temps de rétention en mn
2-CP	2'3
3-CP	2'4
4-CP	2'4
4-C2M	3'2
2, 3-DCP	4'0
2,4-DCP	3'2
2, 5-DCP	3'3
2, 6-DCP	3'0
3, 4-DCP	4'1
3, 5-DCP	3'3
2, 3, 4-TCP	6'5
2, 3, 5-TCP	5'1
2, 4, 5-TCP	5'2
2, 4, 6-TCP	3'9
3, 4, 5-TCP	6'8

TABLEAU N° 29 : TEMPS DE RETENTION DES CP ACETYLES SUR QF₁

La plupart des produits sortent en même temps, ainsi nous avons obtenu au total 5 composés réellement séparés sur 14 c.f. fig. N° 9

II-1-2-2-2 - Colonne SE30.

Conditions chromatographiques :

Colonne : SE30 4 % sur chromosorb BG 80/100 mesh

Longueur = 2 m

Diamètre = 3 mm

Température d'injection : 165°C ; température du four
130°C

Température de détection : 240°C

Azote = 1 Atm

Hydrogène = 0,5 Atm

Air = 1,5 Atm.

Résultats : c.f. tableau : N° 30

Produits acetylés	Temps de rétention en mn
2-CP	2'5
3-CP	2'8
4-CP	2'8
4-C2M	3'0
2, 3-DCP	4'4
2, 4-DCP	4'0
2, 5-DCP	3'9
2, 6-DCP	3'6
3, 4-DCP	4'8
3, 5-DCP	4'3
2, 3, 4-TCP	8'0
2, 3, 5-TCP	6'8
2, 4, 5-TCP	6'8
2, 4, 6-TCP	5'4
3, 4, 5-TCP	8'4

TABLEAU N° 30: TEMPS DE RETENTION DES CP ACETYLES SUR SE30.

Nous avons obtenu 9 séparations sur 14 produits, c.f. fig. N° 10 . La modification des conditions de température n'a apporté aucune amélioration.

Pourtant, WEGMAN et HOFSTEE(1979) cités par JONES (1981); préconisent la séparation de 15 chlorophénols sur 19 sur SE30 à 130°C.

II-1-2-2-3 - DEGS.

Conditions chromatographiques : colonne DEGS 4 % sur chromosorb WAW, DMCS.

Longueur = 2 m
 Diamètre = 3 mm
 Température d'injection : 110°C ; température du four : 120°C
 Température de détection : 210°C
 Azote = 1 Atm
 Hydrogène = 0,5 Atm
 Air = 1,5 Atm.
 Résultats : cf. tableau N° 31

Produits acetylés	Temps de rétention en mn
2-CP	3'0
3-CP	3'4
4-CP	3'6
4-C2M	5'2
2, 3-DCP	8'0
2, 4-DCP	5'7
2, 5-DCP	5'8
2, 6-DCP	5'4
3, 5-DCP	5'4
3, 4-DCP	8'8
2, 3, 4-TCP	8'0
2, 3, 5-TCP	10'3
2, 4, 5-TCP	11'0
2, 4, 6-TCP	6'8
3, 4, 5-TCP	-

TABLEAU N° 31 : TEMPS DE RETENTION DES CP ACETYLES SUR DEGS.

Le DEGS a permis 9 séparations sur 13 composés (fig. N° 11), le 3, 4, 5-TCP n'étant pas comptabilisé.

II-1-2-2-4 OV_225.

Conditions CPG : OV 225 2 % sur chromosorb W_{HP}
80-100 mesh

Longueur = 2 m

Diamètre = 3 mm

Température d'injection : 250°C ; température du four
100-200°C (2°C/mn)

Température de détection : 300°C

Azote = 8 ml/mn

Hydrogène = 5 ml/mn

Air = 10 ml/mn

Résultats = c.f. tableau : N° 32

Produits acetylés	Temps de rétention en mn
2-CP	4'5
3-CP	5'3
4-CP	6'3
4-C2M	7'3
2, 3-DCP	10'0
2, 4-DCP	8'2
2, 5-DCP	-
2, 6-DCP	7'6
3, 4-DCP	10'7
3, 5-DCP	8'0
2, 3, 4-TCP	16'2
2, 3, 5-TCP	12'9
2, 4, 5-TCP	13'3
2, 4, 6-TCP	9'9
3, 4, 5-TCP	16'3

TABLEAU N° 32 : TEMPS DE RETENTION DES CP ACETYLES SUR OV 225.

10 composés sur 13 ont pu être séparés : (fig. N° 12).

II-1-2-2-5 - Mélange Carbowax 20M - SE30.

Conditions CPG : Carbowax 20M 8 % + SE30 2 % sur
chromosorb WAW

Longueur = 2 m diamètre : 3mm

Température d'injection : 180°C ; température du four :
150°C

Température de détection : 270°C

Azote = 2,6 Atm

Hydrogène = 1,5 Atm

Air = 1 Atm.

Résultats : c.f. tableau : N° 33

Produits acétylés	Temps de rétention en mn
2-CP	4'5
3-CP	5'0
4-CP	5'4
4-C2M	6'2
2, 3-DCP	10'3
2, 4-DCP	8'0
2, 5-DCP	8'0
2, 6-DCP	7'6
3, 4-DCP	11'0
3, 5-DCP	7'5
2, 3, 4-TCP	19'0
2, 3, 5-TCP	12'2
2, 4, 5-TCP	13'2
2, 4, 6-TCP	9'2
3, 4, 5-TCP	18'1

TABLEAU N° 33: TEMPS DE RETENTION DES CP ACETYLES SUR UN
MELANGE DE CARBOWAX 20M - SE30.

Tous les produits monochlorés ont pu être séparés.
Ce mélange a permis la séparation de 12 composés sur 14 :
(fig. N° 13).

CONCLUSION.

De toutes les colonnes essayées, nous pouvons conclure que seul le mélange Carbowax 20M - SE30 a permis un maximum de séparations des isomères des chlorophénols.

Nous nous sommes intéressés aux phénols les moins chlorés pour la simple raison que lors des essais préliminaires, ils ont été les plus difficiles à séparer, mais aussi et surtout, parce qu'ils sont les responsables du mauvais goût et de la mauvaise odeur de l'eau de boisson lors des contaminations (RODIER 1978 C).

- LEGENDE
- 1 : 2-CP
 - 2 : 3-CP
 - 3 : 4-CP
 - 4 : 2,4-DCP
 - 5 : 2,5-DCP
 - 6 : 2,6-DCP
 - 7 : 3,5-DCP
 - 8 : 2,3-DCP
 - 9 : 3,4-DCP ; 9' : 2,4,6-TCP
 - 10 : 2,3,5-TCP
 - 11 : 2,4,5-TCP
 - 12 : 2,3,4-TCP
 - 13 : 3,4,5-TCP

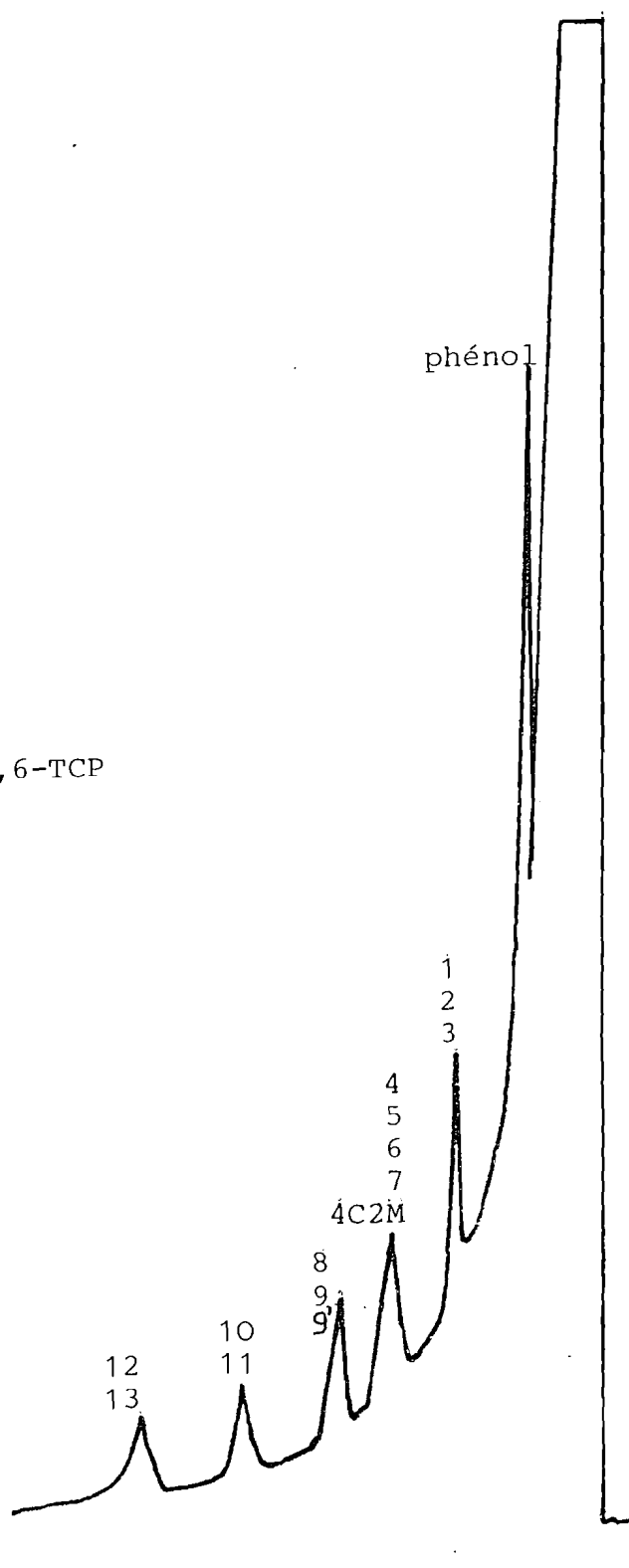


FIG. 9 : CHROMATOGRAMME DES CP ACETYLES SUR QF1

- LEGENDE
- 1 : 2-CP
 - 2 : 3-CP
 - 3 : 4-CP
 - 4 : 2,4-DCP
 - 5 : 2,5-DCP
 - 6 : 2,6-DCP
 - 7 : 2,3-DCP
 - 8 : 3,5-DCP
 - 9 : 3,4-DCP
 - 10 : 2,4,6-TCP
 - 11 : 2,3,5-TCP
 - 12 : 2,4,5-TCP
 - 13 : 2,3,4-TCP
 - 14 : 3,4,5-TCP

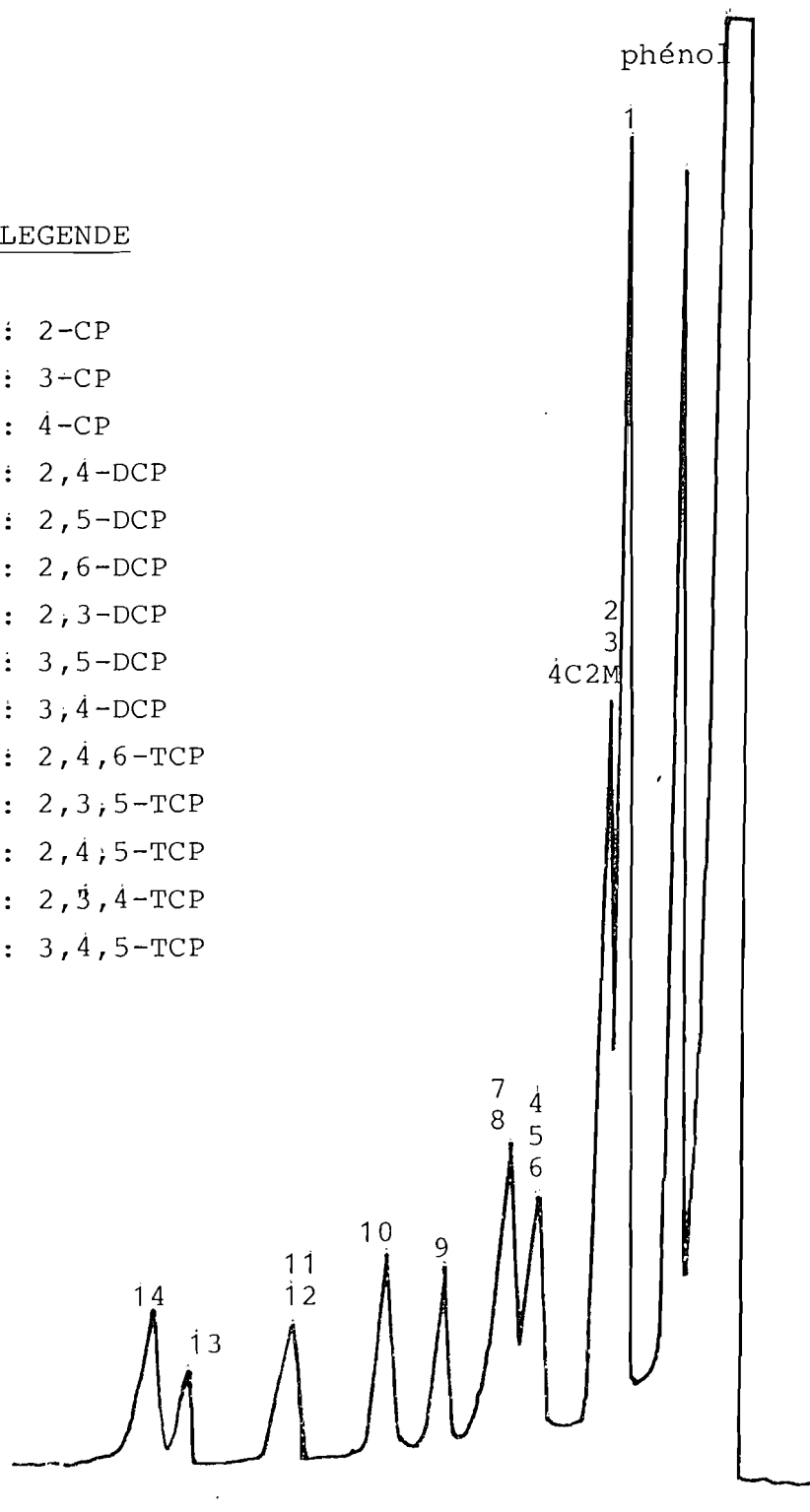


FIG. 10: CHROMATOGRAMME DES CP ACETYLES SUR SE-30

LEGENDE

- 1 : 2-CP
- 2 : 3-CP
- 3 : 4-CP
- 4 : 2,6-DCP
- 5 : 3,5-DCP
- 6 : 2,5-DCP
- 7 : 2,4-DCP
- 8 : 2,4,6-TCP
- 9 : 2,3-DCP
- 10 : 2,3,4-TCP
- 11 : 3,4-DCP
- 12 : 2,3,5-TCP
- 13 : 2,4,5-TCP

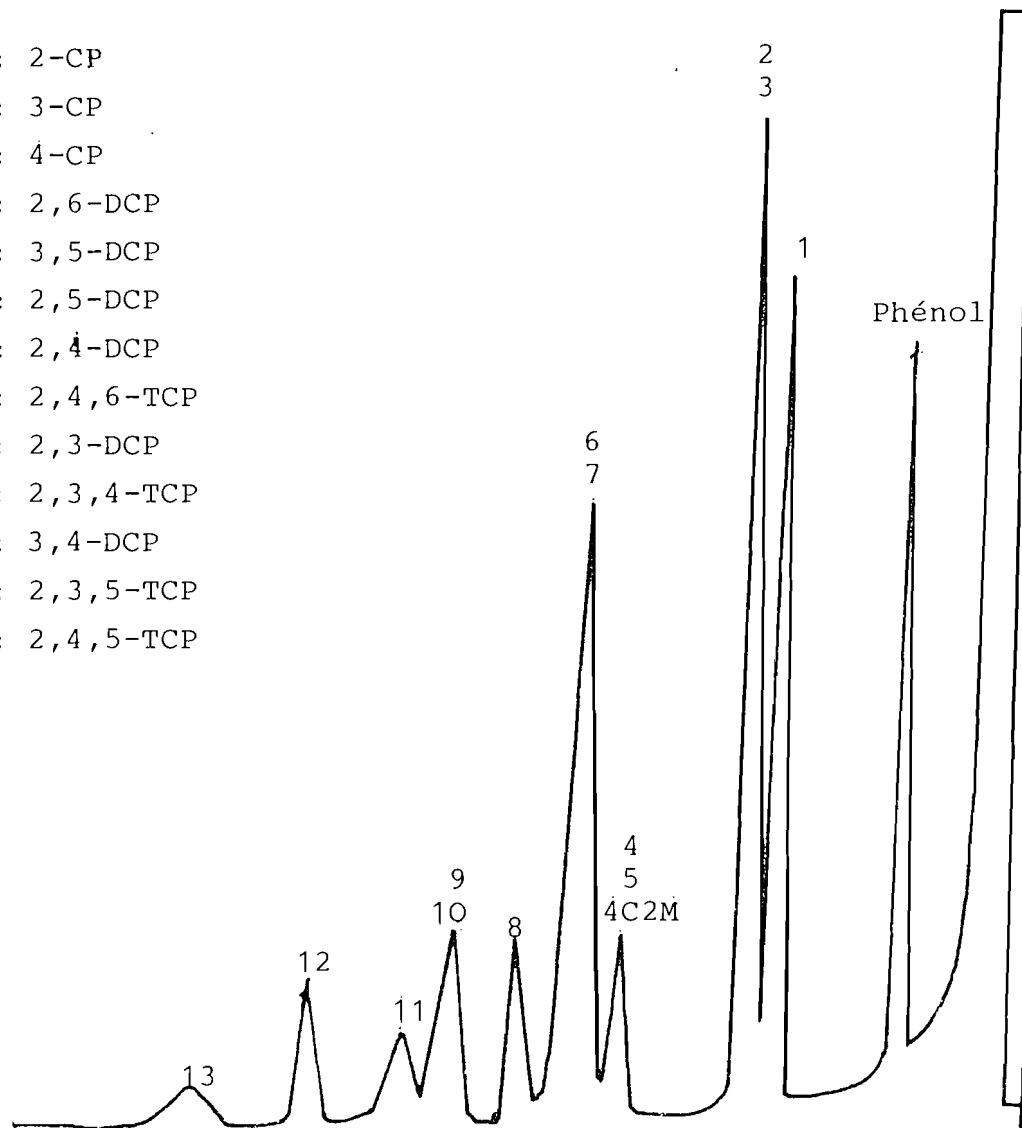
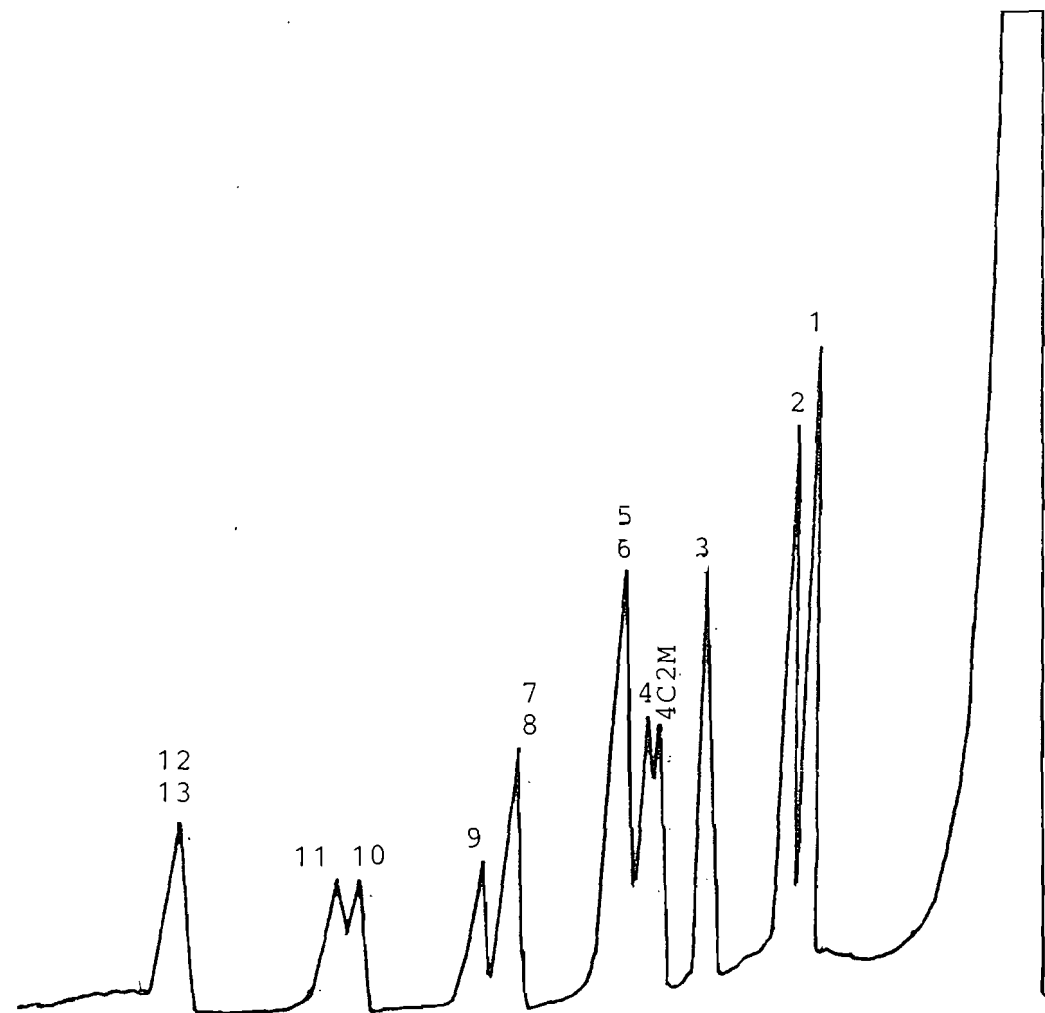


FIG. 11 : CHROMATOGRAMME DES CP ACETYLES SUR DEGS



LEGENDE

- 1 : 2-CP
- 2 : 3-CP
- 3 : 4-CP
- 4 : 2,6-DCP
- 5 : 2,4-DCP
- 6 : 3,5-DCP
- 7 : 2,3-DCP
- 8 : 2,4,6-TCP
- 9 : 3,4-DCP
- 10 : 2,3,5-TCP
- 11 : 2,4,5-TCP
- 12 : 2,3,4-TCP
- 13 : 3,4,5-TCP

FIG. 12 : CHROMATOGRAMME DES CP ACETYLES SUR OV 225

LEGENDE

- 1 : 2-CP
- 2 : 3-CP
- 3 : 4-CP
- 4 : 2,6-DCP
- 5 : 3,5-DCP
- 6 : 2,4-DCP
- 7 : 2,5-DCP
- 8 : 2,4,6-TCP
- 9 : 2,3-DCP
- 10 : 3,4-DCP
- 11 : 2,3,5-TCP
- 12 : 2,4,5-TCP
- 13 : 3,4,5-TCP
- 14 : 2,3,4-TCP

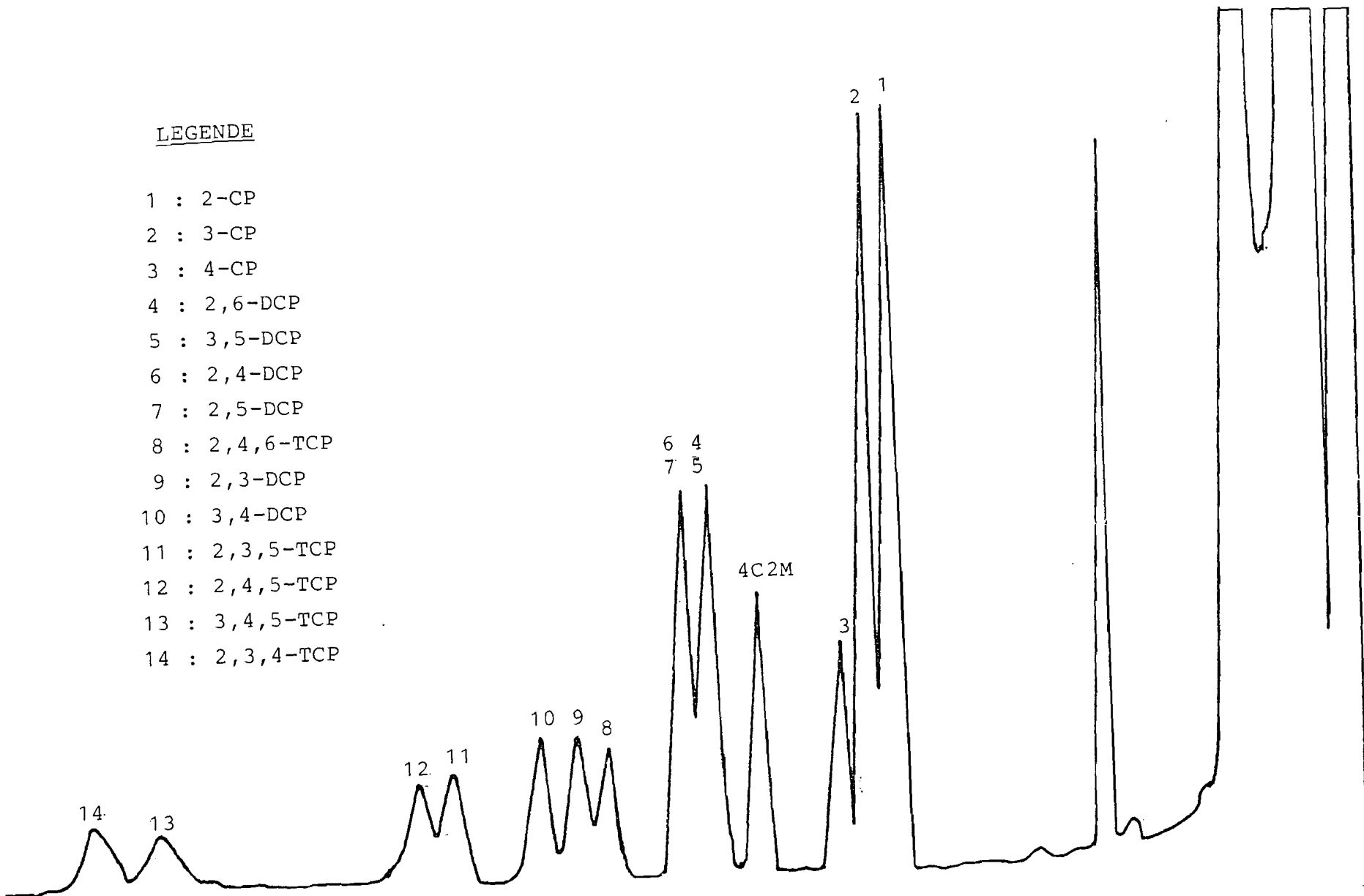


FIG. 13 : CHROMATOGRAMME DES CP ACETYLES SUR CARBOWAX 20M-SE30

II-2 - Essais de séparation des CP en CPG capillaire avec détecteur à capture d'électrons.

II-2-1 - Essais de séparation des chlorophénols non dérivés.

Pour nos expériences, nous avons choisi arbitrairement un représentant de chaque groupe de chlorophénols :

- 2-CP pour les monochlorophénols
- 2, 4-DCP pour les dichlorophénols
- 2, 3, 4-TCP pour les trichlorophénols
- 2, 3, 4, 5-TTCP pour les tétrachlorophénols.

Conditions chromatographiques :

- colonne : métylsilicone réticulée 12 m de long
- diamètre : 0,2 mm
- débit de la colonne : 60 ml/mn
- split vent : 30 ml/mn
- purge : 2 ml/mn
- psi : 6
- "valvetime" : 0,5 mn
- température d'injection : 250°C
- température de détection : 300°C.

II-2-1-1 - Séparation des produits sans programmation de température.

Lorsqu'on utilise une température de colonne de 200°C, les produits sortent en même temps que l'Ether de pétrole (solvant).

A 100°C, les pics obtenus sont très larges rappelant la CPG sur colonne remplie. Nous sommes ici confrontés au problème de la quasi-proximité de la température d'ébullition des différents chlorophénols. Notre appareil étant doté d'une programmation de température, nous mettons à profit cette faculté.

II-2-1-2 - Essai de programmation de température.

Les conditions chromatographiques sont restées les mêmes que précédemment, mais la température de la colonne a été modifiée : température initiale : 100°C ; puis programmation à 10°C/mn.

Les temps de rétention sont les suivants :

- 2-CP : 2'62
- 2, 4-DCP : 4'38
- 2, 3, 4-TCP : 4'52
- 2, 3, 4, 5-TTCP : 6'62.

Les pics obtenus n'étant pas bien résolus, nous essayerons de varier la programmation, mais cette fois en travaillant sur un seul produit, l'ortho-chlorophénol (2-CP).

Température initiale : 100°C

10°C/mn : pic mal résolu

20°C/mn : pic amélioré

28°C/mn : meilleur pic, mais très rapproché du pic de solvant.

Température initiale : 90°C

20°C/mn : résultat identique à
20°C/mn dans le cas
précédent, avec un pic
un peu plus éloigné
du solvant.

Nous retiendrons la programmation suivante :

Température initiale : 100°C pendant 1 mn puis pro-
grammation à 20°C/mn.

Son application aux chlorophénols donne les temps de
rétention rassemblés dans le tableau N° 34

Produits	Temps de rétention en mn
2-CP	1'63
3-CP	1'69
4-CP	-
4-C2M	1'91
2, 3-DCP	1'64
2, 4-DCP	1'59
2, 5-DCP	1'60
2, 6-DCP	1'65
3, 4-DCP	3'36
3, 5-DCP	3'30
2, 3, 4-TCP	2'79
2, 3, 5-TCP	2'71
2, 3, 6-TCP	2'81
2, 4, 5-TCP	2'77
2, 4, 6-TCP	2'55
3, 4, 5-TCP	4'66
2, 3, 4, 5-TTCP	4'
2, 3, 5, 6-TTCP	3'87
PCP	5'15

TABLEAU N° 34 : TEMPS DE RETENTION DES CP NON DERIVES EN PROGRAMMATION DE TEMPERATURE

100°C (1mn) $\xrightarrow{20^\circ\text{C/mn}}$ 250°C

Les temps de rétention ont été obtenues après injection individuelle des chlorophénols. Par contre, l'injection du mélange ne permet pas plus de 9 séparations. Aussi, observons-nous des pics étroits au début (monochlorophénols), puis des pics de plus en plus larges. En variant la température, nous avons observé une amélioration des pics des tétra et pentachlorophénols aux environs de 202°C. Aussi, nous nous proposons d'essayer une programmation de température initiale plus basse.

Expérience :

Toutes les conditions chromatographiques restent inchangées sauf la température de la colonne.

Température initiale : 40°C pendant 2 mn
puis 40°C/mn jusqu'à 200°C
(température finale).

Résultats : c.f. tableau : N° 35

Produits	Temps de rétention en mn
2-CP	3'16
3-CP	4'24
4-CP	4'28
4-C2M	4'84
2, 3-DCP	4'27
2, 4-DCP	4'20
2, 5-DCP	4'20
2, 6-DCP	4'28
3, 4-DCP	5'42
3, 5-DCP	5'15
2, 3, 4-TCP	5'01
2, 3, 5-TCP	4'92
2, 3, 6-TCP	5'06
2, 4, 5-TCP	5'07
2, 4, 6-TCP	5'59
3, 4, 5-TCP	6'1
2, 3, 4, 5-TTCP	5'67
2, 3, 5, 6-TTCP	5'58
PCP	6'21

TABLEAU N° 35 : TEMPS DE RETENTION DES CP NON DERIVES EN PROGRAMMATION DE TEMPERATURE =
 40° C (2mn) $\xrightarrow{40^{\circ}\text{C/mn}}$ 200° C.

Nous remarquons dans ce résultat que les temps de rétention de la plupart des produits sont très rapprochés, voire identiques. Nous essayerons donc une programmation peu élevée pour certains d'entre eux :

4-CP	et 2, 3-DCP	;	4-C2M	et 2, 3, 5-TCP
(4'28	(4'27)		(4'84)	(4'92)

Même en baissant la programmation jusqu'à 10°C/mn, la séparation de ces composés n'est toujours pas possible.

Les chlorophénols non dérivés étant mal résolus sur colonne capillaire, nous essayerons les produits dérivés. Mais avant tout, il serait peut-être souhaitable de déterminer la limite de détection de ces produits ; ce qui pourrait éventuellement nous aider dans le cadre de la dérivation.

II-2-1-3 - Etude de la limite de détection des chlorophénols non dérivés.

Les produits ont été dilués dans un mélange eau-acétone (1-1) ; les produits les mieux séparés ont été injectés en mélange et le reste, individuellement.

Conditions chromatographiques sont toujours identiques avec une température de colonne = 40°C (2 mn) $\xrightarrow{40^\circ\text{C/mn}}$ 200°C

La limite de détection retenue : 3 fois le bruit de fond ; le volume d'échantillon injecté : 0,5 µl.

Enregistreur : Att. : 1

Les résultats sont regroupés dans le tableau N° 36 .

Produits	Limite de détection mg/l
2-CP	50
3-CP	39
4-CP	10
2, 3-DCP	0,25
2, 4-DCP	0,5
2, 5-DCP	0,5
2, 6-DCP	0,5
3, 4-DCP	0,8
3, 5-DCP	0,4
2, 3, 4-TCP	0,08
2, 3, 5-TCP	0,1
2, 3, 6-TCP	0,1
2, 4, 5-TCP	0,08
2, 4, 6-TCP	0,25
3, 4, 5-TCP	0,3
2, 3, 4, 5-TTCP	0,1
2, 3, 5, 6-TTCP	2,5
PCP	4

TABLEAU N° 36 : LIMITE DE DETECTION DES CHLOROPHENOLS NON DERIVES.

La limite de détection varie entre 80 µg et 50 mg/l. On remarque que la réponse du détecteur est fonction du nombre de chlore de substitution, avec une exception cependant pour le 2, 3, 5, 6-TTCP et le PCP.

II-2-2 - Essais de séparation des CP après dérivation.

II-2-2-1 - Les dérivés acétylés.

II-2-2-1-1 - Séparation sur colonne méthyl-
silicone réticulée.

Les études ont été réalisées dans les mêmes conditions chromatographiques que pour les CP non dérivés avec les programmations suivantes :

Température initiale : 100°C (1 mn) $\xrightarrow{10^\circ\text{C/mn}}$ 200°C
(température finale)
ou bien 80°C (1 mn) $\xrightarrow{10^\circ\text{C/mn}}$ 200°C (température finale)

Les résultats sont rassemblés dans le tableau N° 37 voir (fig. N° 14).

COMMENTAIRE.

Nous avons obtenu 17 séparations sur les 18 chlorophénols étudiés.

L'étalon interne (2, 4, 6-tribromophénol acétylé) sort avant le PCP.

II-2-2-1-2 - Séparation sur colonne OV17.

C'est une colonne de 25 m de long 0,23 mm de diamètre.

Conditions chromatographiques :

Température d'injection : 250°C

Température de détection : 300°C

"Split vent" : 30 ml/mn

Purge : 2 ml/mn

Psi : 15

"Valve time" : 0,50 mn

Programmation de la température du four :

80°C (1 mn) $\xrightarrow{10^\circ\text{C/mn}}$ 270°C

Résultat : il n'a pas été possible de séparer :

- 2, 4 et 2, 5-DCP
- 2, 3, 6 et 2, 4, 5-TCP
- 2, 3, 4 et 3, 4, 5-TCP.

Chlorophénols acétylés	Temps de rétention en mn	
	100°C (1') $\xrightarrow{10^\circ\text{C}/\text{mn}}$ 200°C	80°C (1') $\xrightarrow{10^\circ\text{C}/\text{mn}}$ 200°C
2-CP	3'37	4'65
3-CP	3'46	5'03
4-CP	3'56	5'12
		3 séparations
2, 3-DCP	5'13	6'92
2, 4-DCP	4'79	6'54
2, 5-DCP	4'77	6'54
2, 6-DCP	4'51	6'22
3, 4-DCP	5'47	7'29
3, 5-DCP	4'99	6'78
		5 séparations
2, 3, 4-TCP	7'12	9'05
2, 3, 5-TCP	6'59	8'49
2, 3, 6-TCP	6'42	8'30
2, 4, 5-TCP	6'65	8'56
	séparation totale	séparation totale
2, 4, 6-TCP	5'95	7'80
3, 4, 5-TCP	7'35	9'27
2, 3, 4, 5-TTCP	8'84	10'80
2, 3, 5, 6-TTCP	8'11	10'05
PCP	10'22	12'19
	séparation totale	séparation totale
2, 4, 6-TBP	9'16	11'14

TABLEAU N° 37: TEMPS DE RETENTION DES CP ACETYLES SUR METHYLSILICONE RETICULEE.

LEGENDE

- | | |
|----------------|---------------------------------|
| 1 : 2-CP | 11 : 2,3,6-TCP |
| 2 : 3-CP | 12 : 2,3,5-TCP |
| 3 : 4-CP | 13 : 2,4,5-TCP |
| 4 : 2,6-DCP | 14 : 2,3,4-TCP |
| 5 : 2,4-DCP | 15 : 3,4,5-TCP |
| 6 : 2,5-DCP | 16 : 2,3,5,6-TTCP |
| 7 : 3,5-DCP | 17 : 2,3,4,5-TTCP |
| 8 : 2,3-DCP | 18 : 2,4,6-TBP (étalon interne) |
| 9 : 3,4-DCP | 19 : PCP |
| 10 : 2,4,6-TCP | |

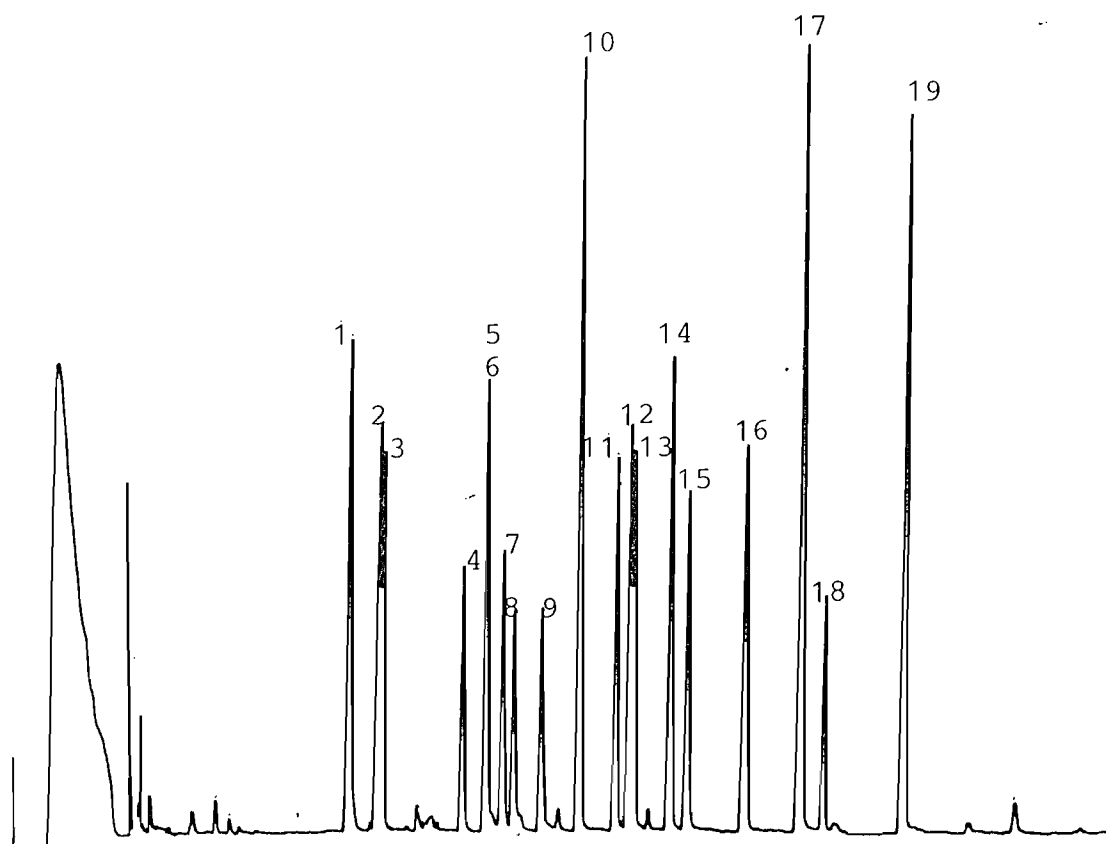


FIG. 14 : CHROMATOGRAMME DES CP ACETYLES SUR METHYL-
SILICONE RETICULEE

II-2-2-2 - Les dérivés pentafluorobenzoylés.

II-2-2-2-1 - Séparation sur la méthyl silicone
reticulée.

Les conditions chromatographiques sont restées les mêmes que pour les produits acétylés. La programmation est de :

100°C (1 mn) $\xrightarrow{10^\circ\text{C}/\text{mn}}$ 250°C (Température finale)
(Température initiale)

Les résultats sont regroupés dans le tableau N° 38 .

COMMENTAIRE.

Nous avons obtenu 13 séparations sur les 18 chloro-phénols les mêmes que pour les dérivés acétylés. Ici, nous avons pu repérer le phénol et le 4-chloro-2 méthyl-phénol contrairement aux dérivés acétylés.

(cf. fig. N° 15).

En définitif, nous observons une mauvaise séparation par rapport aux dérivés acétylés notamment les dichlorophénols. L'ordre de sortie de 2,3,5-et 2,3,6-TCP est inversé par rapport aux dérivés acétylés.

Produits	Dérivés PFB Temps de rétention
Phénol 2-CP 3-CP 4-CP 4-C2M	6'49 8'35 8'46 séparation totale 8'57 9'47
2,3-DCP 2,4-DCP 2,5-DCP 2,6-DCP 3,4-DCP 3,5-DCP	10'25 9'96 9'99 3 séparations 9'96 10'49 9'95
2, 3, 4-TCP 2, 3, 5-TCP 2, 3, 6-TCP 2, 4, 5-TCP 2, 4, 6-TCP 3, 4, 5-TCP	12'08 11'58 11'68 11'63 4 séparations 11'22 12'11
2, 3, 4, 5-TTCP 2, 3, 5, 6-TTCP PCP 2, 4, 6-TBP	13'50 13'06 Séparation totale 14'93 14'03

TABLEAU N° 38 : TEMPS DE RETENTION DES CP PENTAFLUOROBENZOYLES SUR METHYLSILICONE RETICULEE.

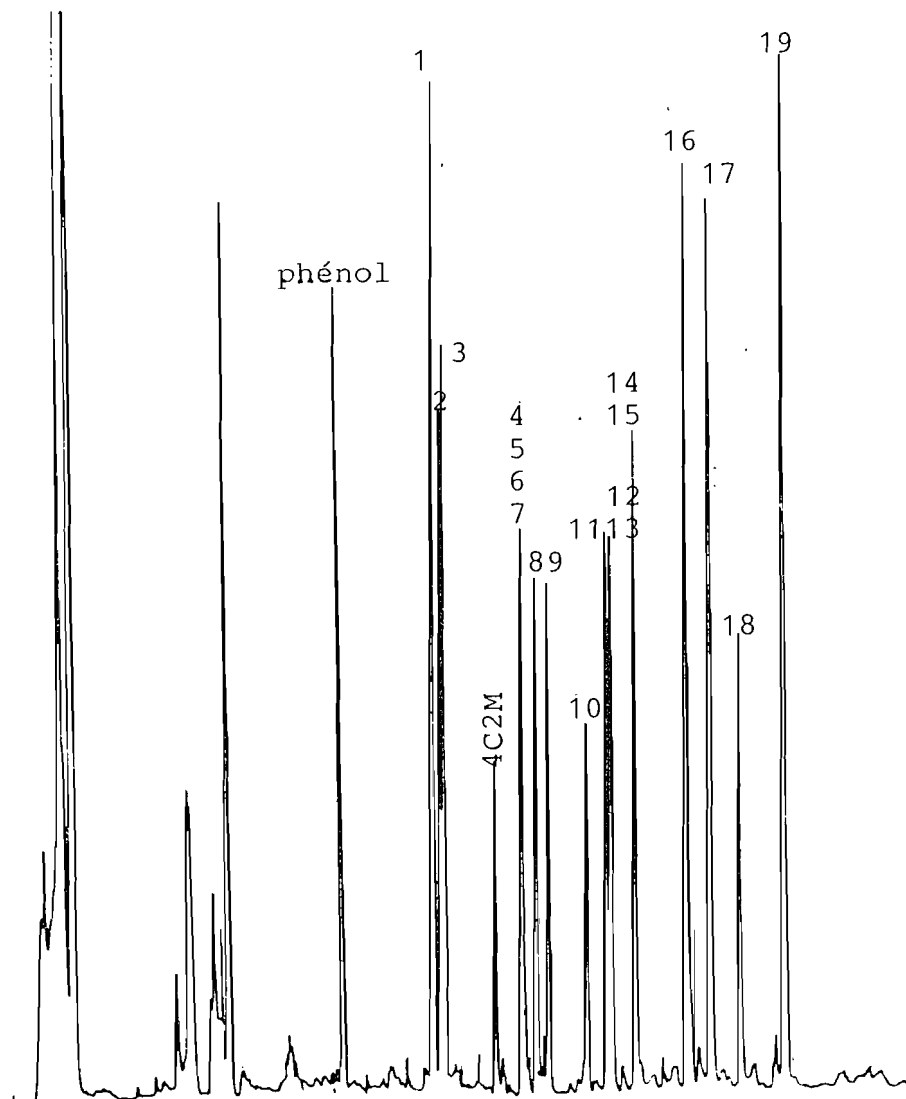


FIG. 15 : CHROMATOGRAMME DES CP PENTAFLUOROBENZOYLES
SUR METHYLSILICONE RETICULEE

LEGENDE

1 : 2-CP	7 : 3,5-DCP	13 : 2,3,6-TCP	19 : PCP
2 : 3-CP	8 : 2,3-DCP	14 : 2,3,4-TCP	
3 : 4-CP	9 : 3,4-DCP	15 : 3,4,5-TCP	
4 : 2,6-DCP	10 : 2,4,6-TCP	16 : 2,3,5,6-TTCP	
5 : 2,4-DCP	11 : 2,3,5-TCP	17 : 2,3,4,5-TTCP	
6 : 2,5-DCP	12 : 2,4,5-TCP	18 : 2,4,6-TBP (étalon interne)	

Remarque : Après avoir repéré les températures de sortie des différents isomères, nous avons tenté de réaliser des programmations de température par paliers afin d'améliorer la séparation (Fig. N°16).

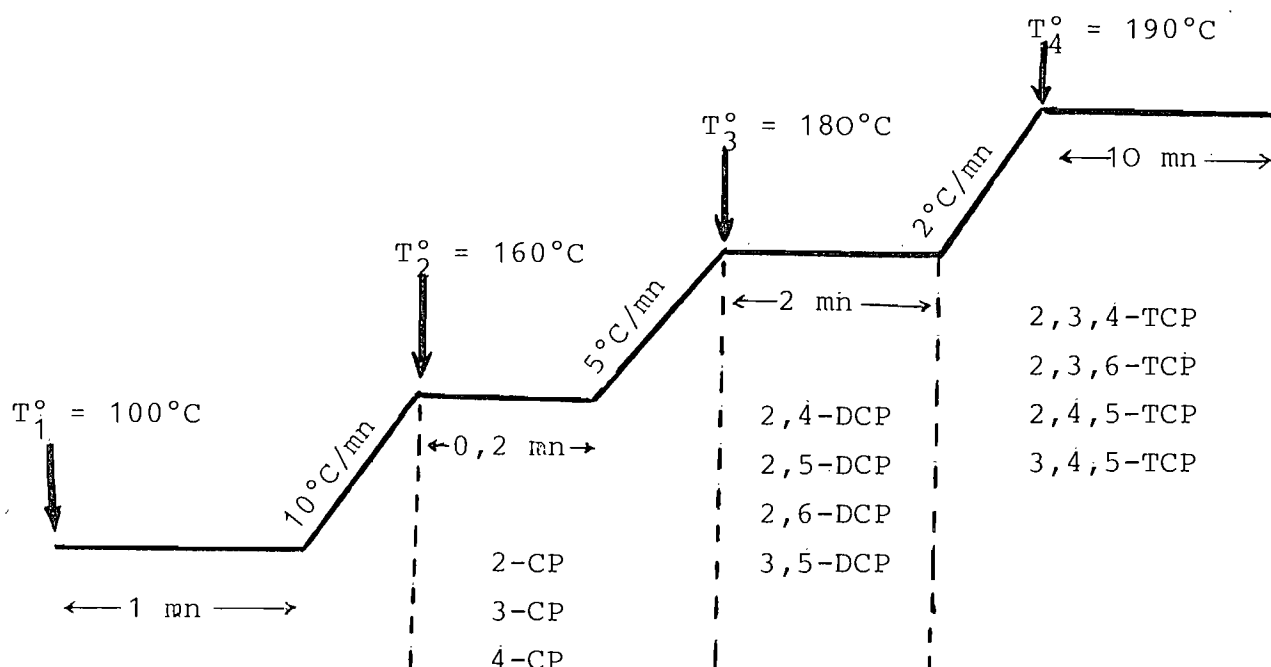


Fig. N° 16: PROGRAMMATION DES TEMPERATURES PAR PALIERS.

Toutes ces programmations n'ont apporté aucune amélioration dans la séparation des chlorophénols réfractaires.

Même en programmation de température moins élevée (2 ou $5^\circ\text{C}/\text{mn}$), les séparations n'ont pu être possibles ; aussi, nous nous contenterons de la programmation de $10^\circ\text{C}/\text{mn}$.

II-2-2-2-2 - Séparation sur OV351.

C'est à partir des études de KORHONEN et KNUUTINEN (1983), que nous nous sommes proposés d'étudier la séparation des dérivés PFB sur cette colonne. Il s'agit d'une colonne de 25 m de long et de 0,23 mm de diamètre intérieur.

Après plusieurs essais préliminaires, nous nous sommes fixés les conditions suivantes :

- split vent : 30 ml/mn
- purge : 2 ml/mn
- psi : 14
- "Valve time": 0,50 mn
- température du four : $T_1 = 200^\circ\text{C} \xrightarrow{25^\circ\text{C/mn}} 240^\circ\text{C}$
- température injecteur : 250°C
- température détecteur : 300°C

Les pics obtenus ne ressemblent guère à ceux d'une colonne capillaire mais plutôt à une colonne remplie. Les raisons de ce mauvais résultat peuvent être multiples :

- nous n'avons peut-être pas atteint les conditions idéales d'opération bien que nous ayons même suivi les recommandations du fabricant,
- la colonne ne convient peut-être pas aux dérivés PFB, mais l'utilisation de dérivés acétylés n'a pas résolu le problème, même avec la programmation suivante :

$100^\circ\text{C} (1 \text{ mn}) \xrightarrow{25^\circ\text{C/mn}} 250^\circ\text{C}$

- la seule raison sérieuse que nous ayons retenue est celle d'un mauvais conditionnement de la colonne.

II-2-2-2-3 - Séparation sur Carbowax 20M.

Colonne de 12 m de long et de 0,23 mm de diamètre.

Comme la colonne OV 351, nous n'avons guère observé d'amélioration.

II-2-2-2-4 - Séparation sur la méthylsilicone non reticulée.

Cette colonne nous a été livrée par HEWLETT PACKARD.

Dans les mêmes conditions d'utilisation que la méthylsilicone reticulée, les temps de rétention des produits sont sensiblement les mêmes mais les pics sont mal résolus.

II-2-2-2-5 - Séparation sur OV17.

Colonne de 25 m de long et de 0,23 mm de diamètre. Elle a permis la séparation de tous les dichlorophénols par contre, deux des monochlorophénols sont confondus et les polychlorophénols (2, 3, 4, 5 ; 2, 3, 5, 6-TTCP et le PCP) n'ont pu être repérés même à des concentrations deux à trois fois supérieures à celles utilisées pour la méthylsilicone reticulée.

II-2-3 - Comparaison de quelques réactifs de dérivation.

INTRODUCTION.

D'après KING et BLAU (1977), les réactions de dérivation suivantes sont applicables aux phénols : la silylation, l'acylation, la benzylation, l'alkylation, l'oxydation, la dansylation, la réaction au 5-Diméthyl aminonaphtalène-1-sulfonyl chlorure (Dns-Cl), la réaction au 1 fluoro-2, 4-dinitrobenzène (FDNB), la réaction au 4 chloro-7 nitrobenzo [C]-1,2,5-oxodiolé (NBD-Cl) et enfin la formation de pair d'ions.

Les réactions suivantes ont déjà été utilisées : la réaction au 1-fluoro-2,4-dinitrobenzène (REINHEIMER et al.1958, COOK et al.1977), la silylation (LANCER et al. 1958) et la dansylation (FREI et al.1973a,b).

Dans tous les cas, la dérivation en CPG répond à deux objectifs fondamentaux :

- augmenter la volatilité ou la stabilité thermique d'un composé .
- obtenir une meilleure détection et une meilleure séparation.

Différentes sortes de réactifs ont été utilisés pour les analyses des chlorophénols.

Ici, nous ferons une brève comparaison de quelques réactifs souvent rencontrés dans la littérature. Il s'agit de l'anhydride acétique, du chlorure de pentafluorobenzoylé, du bromure de pentafluorobenzyle, de l'acide trifluoroacétique et de l'acide heptafluorobutyrique.

Cette étude portera uniquement sur la réponse des CP aux différents réactifs.

Expérience :

Echantillon utilisé = solution acétonique de chlorophénols à 0,25 mg/ml.

II-2-3-1 - Dérivation par l'acide heptafluorobutyrique (HFB) ANONYME
(PIERCE 1981-1982).

0,5 ml Ether de pétrole
+ 10 µl échantillon
+ 40 µl triméthylamine
+ 20 µl HFB.

Attendre 10 minutes à la température du laboratoire ;

Ajouter 0,5 ml de tampon phosphate (pH 6) ;

Agiter ;

Analyse de la phase organique par CPG.

II-2-3-2 - Dérivation par l'acide trifluoroacétique (TFA).

Le mode opératoire a été le même que pour le HFB.

II-2-3-3- Dérivation par chlorure de pentafluorobenzoyl. (PFB).

0,5 ml Ether de pétrole
+ 10 µl d'échantillon
+ une pincée de borax (pH9-10)
+ 20 µl PFB 10 % dans toluène
agitation
analyse de la phase organique par CPG.

II-2-3-4 - Dérivation par le bromure de
pentafluorobenzyle (PFBBr).

Nous avons appliqué la procédure du PFB.

II-2-3-5 - Dérivation par l'anhydride acétique
(AA).

0,5 ml Ether de pétrole

+ 10 μ l d'échantillon

+ une pincée de borax

+ 20 μ l d'anhydride acétique

agitation

analyse de la phase organique par CPG.

La dérivation et l'analyse de ces produits par CPG
ont été faites individuellement.

Conditions chromatographiques :

Colonne = méthylsilicone reticulée 12 m de long et
0,2 mm de diamètre.

psi = 6

"split vent" = 30 ml/mn

purge = 2 ml/mn

"valve time" = 0,50 mn

Température d'injection = 300°C

Température de détection = 250°C.

Température du four :

-Dérivation au TFA, HFB : pour le phénol, l'ortho-chlorophénol et le méta-chlorophénol, la programmation a été de 80°C pendant une minute puis 10°C/mn jusqu'à 230°C pour le reste; la programmation est la suivante :

100°C (1 mn) $\xrightarrow{25^\circ\text{C/mn}}$ 230°C

volume injecté = 0,5 μl

enregistreur = Att. : 3.

Les résultats sont rassemblés dans le tableau n° 39.

Produits dérivés	HFB		TFA		AA		PFB		PFBBr	
	TR	ré- ponse mm ²	TR	ré- ponse mm ²	TR	ré- ponse mm ²	TR	ré- ponse mm ²	TR	ré- ponse mm ²
2-CP	3'45	105	3'86	86	2'60	30	5'02	7486	4'98	285
3-CP	3'57	100,9	3'93	79	2'78	113	5'20	3310	4'11	654
4-CP	-	-	-	-	-	-	5'23	637	5'19	96
2, 3-DCP	2'84	503	2'44	328	3'68	117	6'07	239	6'00	10,6
2,4-DCP	2'78	377	2'27	335	3'51	285	-	-	-	-
2,5-DCP	2'76	437	2'26	175	3'50	113	-	-	-	-
2,6-DCP	2'84	477	2'26	509	3'37	111	5'88	2662	5'57	11,3
3,4-DCP	2'92	376	-	-	3'85	69	6'12	661	5'08	82,8
3,5-DCP	2'65	407	2'18	221	3'60	112	5'89	335	-	-
2,3,4- TCP	3'68	491	3'68	233	4'62	239	-	-	-	-
2,3,5- TCP	3'50	185	-	-	4'37	115	6'66	219	6'61	26
2,3,6- TCP	3'65	287	3'77	80	4'30	210	6'74	563	6'44	2
2,4,5- TCP	3'55	281	3'64	139	4'40	181	6'69	173	6'60	5
2,4,6- TCP	3'42	181	-	-	4'07	197	6'48	238	6'20	3
3,4,5- TCP	3'67	208	4'99	112	4'71	288	6'92	688	6'91	68
2,3,4,5-TTCP	4'71	203	4'69	64	5'39	389	7'85	150	7'81	34
2,3,5,6-TTCP	4'30	220	5'06	31	5'06	307	7'53	35	7'22	0,3
PCP	6'07	11,5	6'03	75	6'05	244	9'40	26	8'63	15

TABLEAU N° 39 : RESULTATS DES DERIVATIONS PFB,PFBBr, HFB, TFA, AA.

DISCUSSION.

La réponse avec HFB a été généralement identique avec les isomères malgré quelques petites disparités, sauf avec le PCP où elle est très faible.

Les meilleures réponses avec le TFA ont été obtenues avec les DCP en général, les MCP et le PCP donnant quasiment les mêmes résultats.

Le AA réagit mieux avec les phénols les plus chlorés qu'avec les moins chlorés.

Le PFB a donné une réponse contraire à celle de AA (meilleurs résultats obtenus avec les phénols les moins chlorés en général).

La réponse du PFBBr est en général moins bonne que les autres.

II-2-3-6 - Choix définitif du réactif de dérivation.

L'anhydride acétique (AA) et le chlorure de pentafluorobenzoyle (PFB) retiendront notre attention pour plusieurs raisons :

HFB et TFA sont des produits dangereux qui donnent lieu à des réactions exothermiques et dont la manipulation nécessite beaucoup de précautions. Il en est de même pour le PFBBr qui est un lacrimogène.

La réponse obtenue avec le PFBBr est très faible.

Les réponses de HFB et TFA sont moyennes dans l'ensemble.

Avec AA et PFB, nous obtenons deux réactions complémentaires et meilleures par rapport aux autres : le AA réagit mieux avec les produits les plus chlorés alors que le PFB donne un résultat inverse; Or, notre étude se propose de privilégier justement les produits les moins chlorés et plus particulièrement les monochlorophénols. Nous nous proposons de réaliser ces deux réactions chaque fois que l'occasion se présentera avec une préférence pour le PFB.

III - DOSAGE DES CP DERIVES EN CPG.

III-1 - Les dérivés acétylés.

Nous nous inspirerons ici de la technique de COUTTS et al.(1979) ainsi résumé :

250 ml eau + 10 g NaHCO_3 + 500 μl anhydride acétique
extrait par 2 fois 10 ml de CH_2Cl_2 puis concentré jus-
qu'à 20 μl avant d'être analysé par CPG.

Notre but est de parvenir à une technique simple et rapide, aussi nous tenterons de modifier plusieurs paramètres.

III-1-1 - Etude de l'acétylation en CPG sur colonne remplie avec détecteur à ionisation de flamme.

Conditions chromatographiques :

colonne : QF1

Température d'injection : 175°C

Température de détecteur : 235°C

Débit d'azote : 1 Atm

Débit d'air : 0,5 Atm

Débit d'hydrogène : 1,5 Atm.

III-1-1-1 - Les paramètres étudiés en phase organique.

Nous avons pris le 1/5 des quantités d'anhydride acétique et de solvant utilisés par COUTTS et al.(1979) mais le solvant a été remplacé par de l'Ether de pétrole.

II-1-1-1-1 - Effet de la température.

4 ml solution étherée de 4-CP et de 2,4-DCP à 600 mg/l chacun + 100 µl anhydride acétique.

- a) la réaction s'effectue à froid
- b) le mélange est concentré au bain-marie (50°C) jusqu'à la phase anhydride acétique puis repris par 4 ml d'Ether de pétrole avant d'être analysé par CPG.

RESULTAT.

Nous avons observé une légère augmentation de la réponse du 4-CP à froid et une très légère augmentation du 2,4-DCP après chauffage.

II-1-1-1-2 - Stabilité des esters formés par acétylation lors de l'évaporation.

4 ml solution étherée de 4-CP et 2, 4-DCP (600 mg/l chacun)

+ 100 µl d'anhydride acétique

- 1°) évaporation à sec à l'air libre au bain-marie (30°C)
- 2°) évaporation sous courant d'azote au bain-marie (30°C)

Les résidus secs sont repris par 100µl d'Ether de pétrole.

Dans les deux cas, les résultats obtenus sont l'inverse de ceux de l'acétylation à froid, c'est-à-dire que l'intensité du pic 4-CP plus importante que celle du 2,4-DCP en acétylation froide, devient plus faible après évaporation.

On pourrait alors penser que le 2, 4-DCP est moins volatile que le 4-CP.

III-1-1-1-3 - Rôle du pH dans l'évaporation.

La variation des résultats observés après l'évaporation de 4-CP et 2, 4-DCP acétylés, nous a amené à utiliser le carbonate acide de sodium (NaHCO_3) préconisé par COUTTS et al (1979).

Expérience :

4 ml de solution étherée de 4-CP et 2, 4-DCP
+ 100 μl d'anhydride acétique

- 1°) évaporation à sec en absence de Na HCO_3 puis reprise par 1 ml d'Ether de pétrole ;
- 2°) évaporation à sec en présence de NaHCO_3 (2 g) puis reprise par 1 ml d'Ether de pétrole.

Le résultat obtenu en évapoation ne donne pas lieu au phénomène de variation de l'intensité des pics.

On peut alors conclure à ce niveau que l'évaporation en milieu alcalin est indispensable.

III- 1-1-2 - Paramètres étudiés en phase aqueuse.

Jusqu'à présent, nous nous sommes contentés d'une acétylation directe sur la phase organique ; ce qui supposera pour une analyse éventuelle, une extraction préalable des chlorophénols puis une acétylation. Or, notre objectif étant de parvenir à une méthode simple, nous nous proposons d'essayer de combiner la phase d'extraction et d'acétylation des chlorophénols, en modifiant la technique de COUTTS et al (1979).

III-1-1-2-1 - Choix du tampon.

L'étude sera faite sur le parachlorophénol seul en souhaitant étendre les résultats à tous les chlorophénols.

Expérience :

- 1 ml de solution aqueuse de 4-CP (600 mg/l)
- + 1 ml de solution saturée de tampon (voir tableau N° 40)
- + 50 μ l d'anhydride acétique
- + 2 ml d'Ether de pétrole.

Après agitation, la phase organique est analysée par CPG.

Les résultats sont rassemblés dans le tableau N° 40 .

Tampons utilisés	Surface moyenne des pics obtenue en mm ²
NaOH	0
Na ₂ CO ₃	42,75
NaHCO ₃	48,25
K ₂ CO ₃	48,50
Borax	53,50
KHCO ₃	58,75

TABLEAU N° 40 : REPOSE DES 4-CP ACÉTYLES EN PRESENCE DE TAMPON.

Le carbonate acide de potassium (KHCO_3) donne le meilleur résultat, malheureusement, il est délicat à utiliser à cause du dégagement gazeux qu'il entraîne ; ce qui pose un grand problème lors de l'extraction. Nous avons alors opté pour le borax, très aisé à manipuler.

III-1-1-2-2 - Choix du volume de l'anhydride acétique.

Il s'agit ici de définir un volume exact d'anhydride acétique à utiliser pour un volume déterminé d'échantillon, et cette fois en présence du borax.

Expérience :

1 ml d'une solution saturée de borax contenant du 4-CP
et de 2, 4-DCP (600 mg/l chacun)
+ différents volumes d'anhydride acétique
+ 1 ml d'Ether de pétrole.

Après agitation vigoureuse, la phase organique est analysée en CPG.

Les résultats sont portés sur le tableau N° 41 .

Volume d'anhydride acétique en μ l	Réponse moyenne du 4-CP acétylé en mm^2	Réponse moyenne du 2,4-DCP acétylé en mm^2
1	6	4
3	10	5,4
5	14	8
7	18,3	10,8
10	18,5	11
15	18,4	10,8
20	19,1	11,5
30	18	10,8
40	16	9,5
50	17	9,5
60	19	11

TABLEAU N°41 : INFLUENCE DU VOLUME D'ANHYDRIDE ACÉTIQUE SUR LA RÉPONSE DU 4-CP et 2, 4-DCP.

COMMENTAIRE.

Nous observons sur la fig. N°17 une linéarité de la réponse jusque 7 μ l d'anhydride acétique avant d'arriver à un palier, puis une chute suivie d'une remontée.

Pour nos expériences ultérieures, nous opterons pour la partie linéaire de la courbe, c'est-à-dire que nous choisirons 7 μ l d'anhydride acétique.

III-1-2 - Etude de l'acétylation en CPG capillaire ECD.

Conditions chromatographiques :

colonne = méthyl silicone reticulée = 12 m de long
0,2 mm de diamètre

Température d'injection = 250°C Split vent = 30 ml/mn

Température de détection = 300°C Valve time = 0,5 mn

Température du four = 200°C. Psi = 6

En utilisant la technique de dérivation retenue lors des expériences en ionisation de flamme, nous avons observé deux pics pour chaque composé :

- 1 pic au temps de rétention du produit non acétylé ;
- 1 pic au temps de rétention du produit acétylé.

Nous avons alors décidé d'augmenter le volume de l'anhydride acétique. C'est ainsi que nous avons utilisé 20 μ l du réactif d'après les résultats obtenus avec la CPG ionisation de flamme pour des concentrations voisines de la limite de détections des chlorophénols non dérivés.

III-1-2-1 - Etude de quelques paramètres :
volume de l'échantillon et anhydride
acétique.

La technique utilisée jusqu'à présent se pratique sur 1 ml d'échantillon pour 20 μ l d'anhydride acétique. Nous nous proposons maintenant de varier ces deux paramètres tout en conservant identique le volume du solvant.

Expérience :

- soit une solution alcaline (borax) de 2, 3-DCP,
2, 3, 4-TCP, 2, 3, 4, 5-TTCP et PCP à 8 mg/l chacun
+ anhydride acétique = quantité variable
+ échantillon = quantité variable
+ Ether de pétrole (solvant) = 1 ml

puis agitation pendant 3 mn sur vortex.

La phase organique est analysée en CPG.

Les résultats sont rassemblés dans le tableau N° 42

Echantillon (ml)	Anhydride acétique (μ l)	Ether de pétrole (ml)	Réponse moyenne en mm^2 des différents composés			
			2, 3-DCP	2,3, 4-TCP	2,3,4, 5-TTCP	PCP
1	20	1	271	232,8	336	169,6
2	20	1	345	208	288	123
5	20	1	261	213	358	-
5	40	1	238	216	319	149
10	40	1	284	236	381	-
10	100	1	232	201	237	124
10	200	1	267	231	310	152
20	400	1	254	217	294	144
50	1 000	1	218	204	349	193

TABLEAU N° 42 : RESULTAT DE LA VARIATION DES QUANTITES
D'ECHANTILLON ET D'ANHYDRIDE ACETIQUE.

COMMENTAIRE.

1°) Lorsque le volume de l'échantillon augmente (1 à 5 ml) alors que le volume d'anhydride acétique reste fixe, on note une diminution de la réponse.

2°) Lorsque le volume de l'échantillon est fixe (10 ml) et que la quantité d'anhydride acétique augmente (40 à 200 μ l), la réponse augmente aussi ; mais le pic du solvant devient de plus en plus large.

3°) Les réponses obtenues avec 20 et 50 ml d'échantillon pour 400 et 1 000 μ l d'anhydride acétique montrent que les deux variables doivent évoluer dans les mêmes proportions, soit 1 ml d'échantillon pour 20 μ l d'anhydride acétique.

La réponse obtenue avec 50 ml d'échantillon pour 1 000 μ l d'anhydride acétique est d'autant plus intéressante que l'extraction s'effectue sur un seul ml de solvant.

Le reste de notre travail sera poursuivi sur cette base en utilisant des fioles jaugées de 200 à 250 ml au lieu des tubes à essais de gros calibres. Nous pourrons ainsi effectuer l'agitation sur agitateur magnétique puis remonter la phase organique (1 ml) avec un ajout d'eau distillée (Fig. N° 18).

Cette phase organique est prélevée avec soin et séchée sur 0,5 g de sulfate de sodium anhydre que l'on introduit dans une pipette pasteur garnie de laine de verre. L'éluat est recueilli dans une petite éprouvette graduée. Le sulfate de sodium est ensuite rincé par petites fractions de toluène jusqu'à l'obtention d'un éluat total de 2 ml qui sera directement injecté en CPG.

Dans les études ultérieures, nous utiliserons cette méthode de séchage.

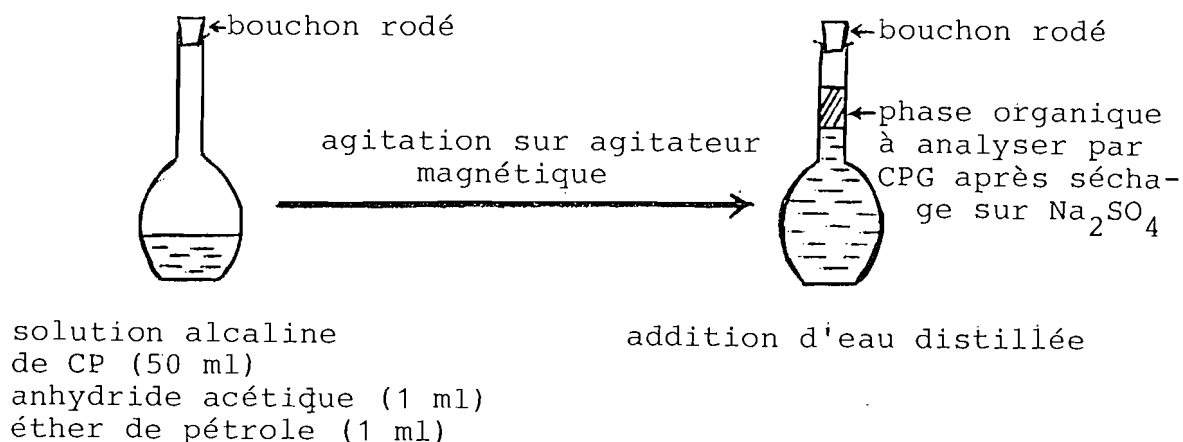


Fig. N° 18 : SCHEMA DE LA TECHNIQUE DE DERIVATION ET EXTRACTION DES CP ACETYLES

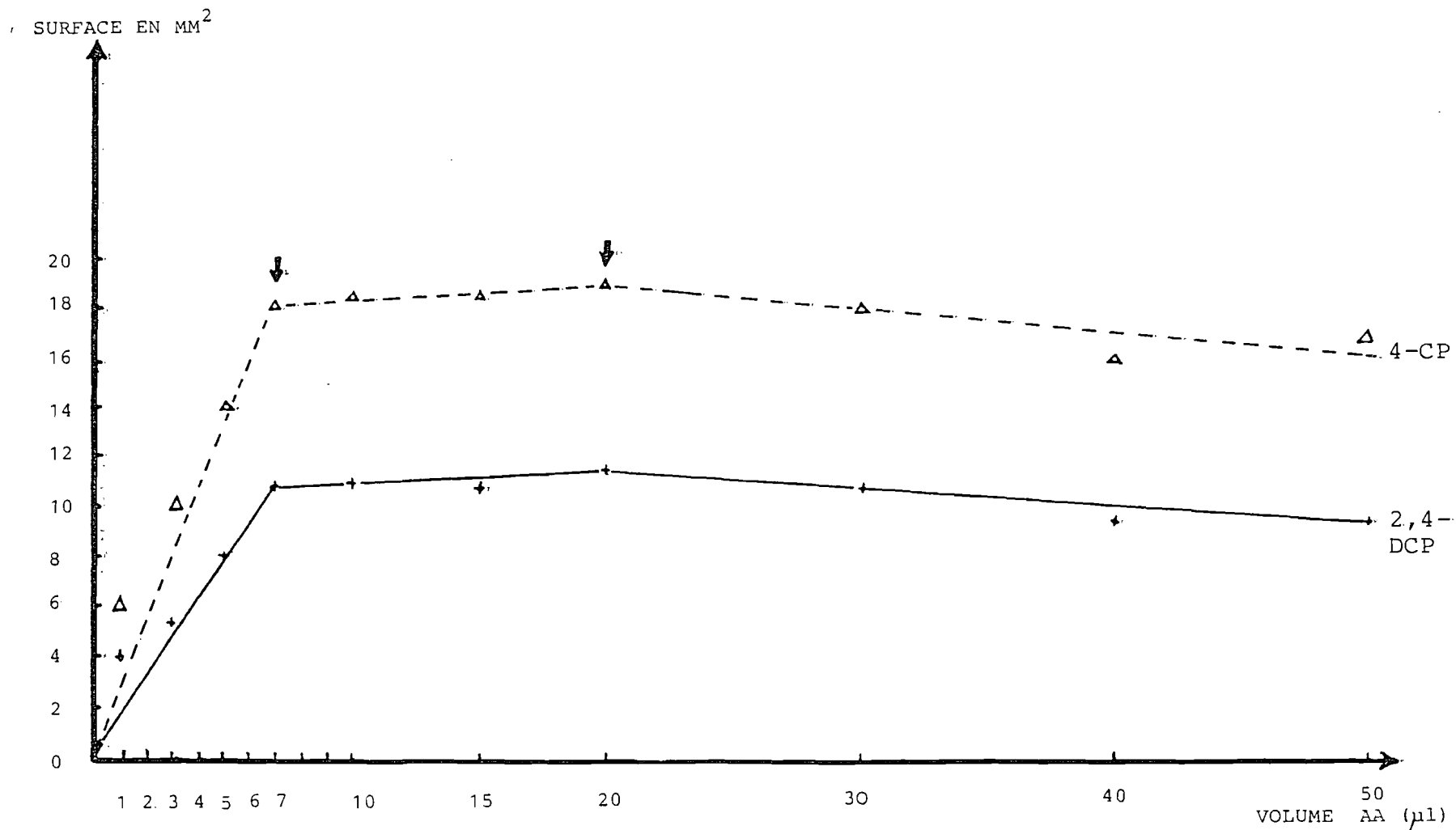


FIG. 17 : INFLUENCE DU VOLUME D'ANHYDRIDE ACETIQUE SUR LA REPOSE DES CHLOROPHENOLS

III-1-3 - Choix d'un étalon interne.

III-1-3-1 - Définition générale.

C'est une méthode d'étalonnage utilisée dans le cadre d'une étude quantitative en chromatographie.

L'étalonnage interne est considéré comme la meilleure méthode pour obtenir des résultats précis et reproductibles.

L'étalon interne est un composé non présent dans l'échantillon et que l'on ajoute en quantité bien connue. Son choix doit répondre aux critères suivants :

- structure proche du constituant à doser et une fonction identique ;
- être sur le chromatogramme, séparé des pics du mélange initial ;
- avoir un temps de rétention proche de celui du composé à analyser ;
- être stable dans les conditions d'analyse et non réactif vis-à-vis des constituants de l'échantillon ;
- ne pas être volatil pour permettre le stockage du mélange sans risque de variation dans sa composition.

III-1-3-2 - Intérêt de l'étalon interne.

Permet de corriger :

- les erreurs de manipulation ;
- les variations des conditions analytiques.

III-1-3-3 - Choix définitif de l'étalon interne.

L'étalon interne doit ressembler le plus possible aux produits étudiés sans être un produit utilisé dans l'industrie, susceptible d'être rencontré au cours d'un dosage. C'est ainsi que nous avons pensé aux bromophénols.

Les autres critères de choix seront leur réactivité aux réactifs de dérivation (PFB et AA) et leur temps de rétention.

Expérience :

Dans un premier temps, nous avons essayé le pentabromophénol qui était à notre disposition au laboratoire. Il nous a été pratiquement impossible de détecter ce produit non dérivé.

Après dérivation, nous avons observé que ce dernier sortait après tous les chlorophénols et qu'il réagissait bien avec l'anhydride acétique ; mais pratiquement pas avec le PFB.

Il nous fallait alors choisir un composé intermédiaire pour répondre aux deux techniques de dérivation ; mais aussi pour espérer une séparation judicieuse des autres produits.

C'est ainsi que nous avons exclus les mono et les dibromophénols de crainte que la séparation s'effectue mal, et les tétrabromophénols pour éviter la sortie après les chlorophénols. Ainsi seuls les tribromophénols restaient en liste.

Ici encore, nous avons dû procéder par élimination. Nous savions déjà que les 2, 3, 5 ; 2, 3, 6 et 2, 4, 5-TCP étaient difficilement séparables, du moins pour les dérivés PFB. Seul le 2, 4, 6-TCP est bien séparé. Nous avons donc pensé au 2,4,6-tribromophénol. Son temps de rétention se situe entre celui de 2, 3, 4, 5-TTCP et celui de PCP. (cf. fig. N° 14 p. 99 et 15 p. 102

III-1-3-4 - Courbe d'étalonnage et facteur
de réponse du 2,4,6-TBP.

Nous avons réalisé cette étude uniquement en acétylation.

En plus du 2, 4, 6-TBP, nous avons choisi arbitrairement les composés suivants pour leur assez bonne réactivité à l'anhydride acétique: 2, 3, 4-TCP ; 2, 3, 4, 5-TTCP ; PCP .

Expérience :

50 ml de solution alcaline (borax)
(contenant 2, 3, 4-TCP ; 2, 3, 4, 5-TTCP, PCP et 2, 4,
6-TBP à 1 µg chacun)

1 ml d'Ether de pétrole.

Agitation magnétique.

Les différentes dilutions de la phase organique séchée sur du Na₂S04 ont été analysées en CPG capillaire .

Les conditions chromatographiques sont toujours les mêmes.

Les résultats sont portés sur tableau N° 43

Quantité de chacun des produits retenus	Réponse en mm ²			
	2,3,4-TCP	2,3,4,5-TTCP	PCP	2,4,6-TBP
10 µg	1190-900-1060	1040-750-870	960-630-710	770-820-830
	R.m=1050 [±] 145	R.m=887 [±] 145	R.m=767 [±] 172	R.m=807 [±] 32
5 µg	620-500-510	500-380-450	470-300-300	400-400-360
	R.m=543 [±] 66	R.m=443 [±] 60	R.m=357 [±] 98	R.m=387 [±] 23
1 µg	120-100- 90	100- 80-100	100- 70- 80	85- 90- 82
	R.m=103 [±] 15	R.m=93 [±] 11,5	R.m=83 [±] 15	R.m= 86 [±] 4
0,5 µg	60- 50- 45	60- 50- 52	50- 40- 40	45- 50- 40
	R.m= 52 [±] 7,6	R.m= 54 [±] 5,3	R.m= 43 [±] 5,7	R.m= 45 [±] 5

TABLEAU N° 43: REPOSE DES DIFFERENTS ETALONS APRES ESTERIFICATION.

- Courbe d'étalonnage du 2,4,6-TBP.

La figure N° 19 montre une bonne linéarité de la réponse de 2,4,6-TBP acétylé.

- Facteur de réponse.

Il est déterminé par la formule suivante :

$$K = \frac{Mi \times SE}{ME \times Si}$$

Poids du composé initial

Surface de l'étalon

ME x Si

Surface de composé initial

Poids de l'étalon

Les valeurs obtenues sont portées sur le tableau N° 44 .

2, 3, 4-TCP	2,3,4,5-TTCP	PCP
$\frac{10 \times 807}{10 \times 1050} = 0,76$	$\frac{10 \times 807}{10 \times 887} = 0,9$	$\frac{10 \times 807}{10 \times 767} = 1,05$
$\frac{5 \times 387}{5 \times 543} = 0,71$	$\frac{5 \times 387}{5 \times 443} = 0,87$	$\frac{5 \times 387}{5 \times 357} = 1,08$
$\frac{1 \times 86}{1 \times 103} = 0,86$	$\frac{1 \times 86}{1 \times 93} = 0,92$	$\frac{1 \times 86}{1 \times 83} = 1,03$
$\frac{0,5 \times 45}{0,5 \times 52} = 0,86$	$\frac{0,5 \times 45}{0,5 \times 54} = 1,04$	$\frac{0,5 \times 45}{0,5 \times 43} = 1,04$

TABLEAU N° 44 : FACTEUR DE RÉPONSE DE L'ETALON INTERNE.

Le facteur de réponse peut être considéré comme voisin de 1 avec une réserve cependant quant à la généralisation à tous les chlorophénols.

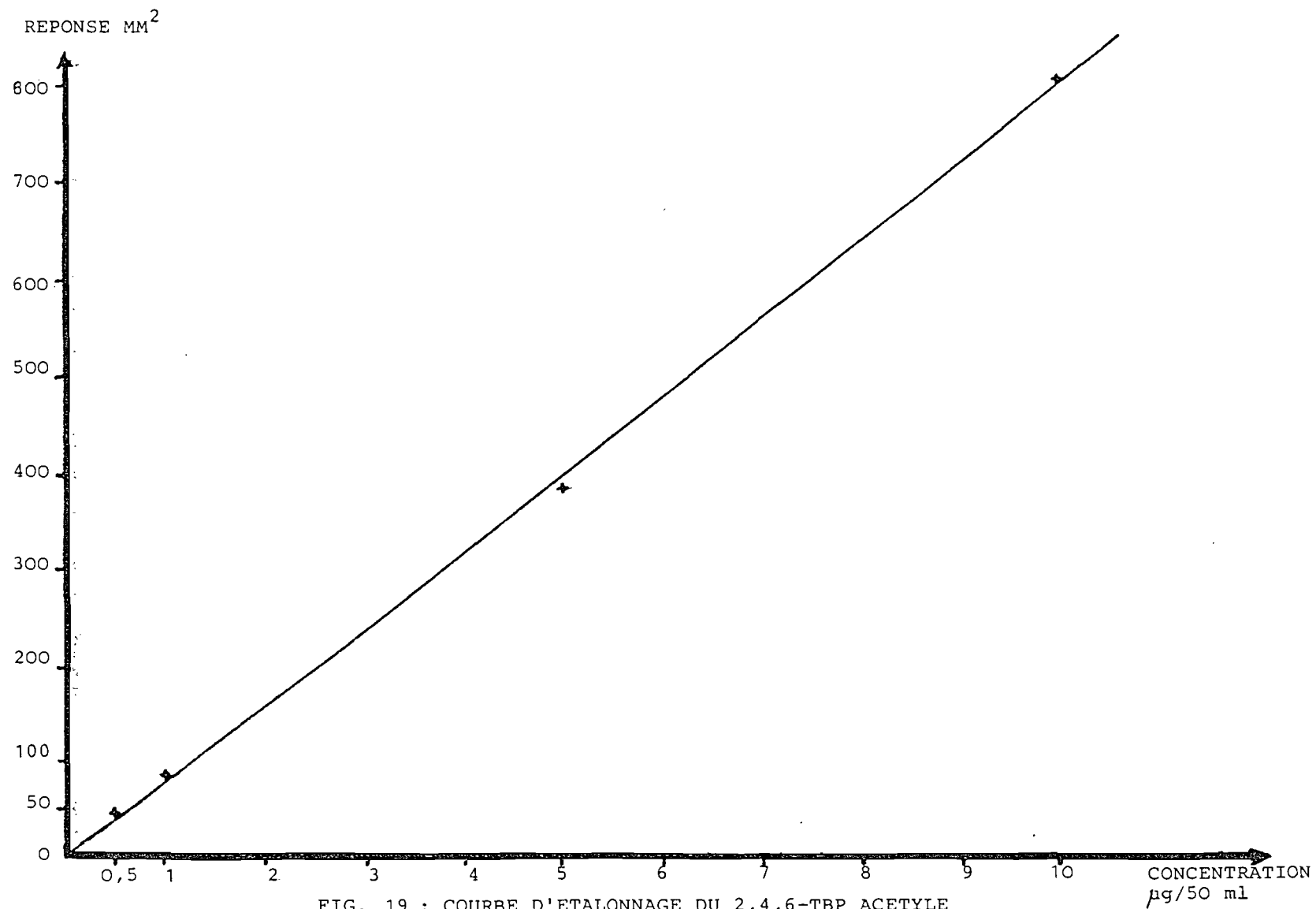


FIG. 19 : COURBE D'ETALONNAGE DU 2,4,6-TBP ACETYLE

III-1-4 - Etude du rendement d'extraction.

A côté du problème de la séparation; cette étude a présenté de grandes difficultés au cours de ce travail.

A vrai dire, il s'agit ici d'un rendement global, comprenant à la fois le degré d'estérification et le rendement d'extraction lui-même. Du fait que nous partons de produits non dérivés pour aboutir à des produits dérivés, le calcul du rendement d'extraction présente nécessairement une incertitude. Devant ces difficultés, nous avons choisi la voie la plus directe c'est-à-dire que nous avons décidé de synthétiser des chlorophénols dérivés qui nous serviront d'étalons que nous n'avons pas trouvés dans le commerce.

Les conditions chromatographiques sont les suivantes :

Colonne = méthyl silicone reticulée 12 m de long et
0,2 mm de diamètre

Température d'injection = 250°C

Température de détection = 300°C

Température du four = 80°C $\xrightarrow{(1') 10^\circ\text{C}/\text{mn}}$ 200°C
(T° initiale) (T° finale)

Débit de colonne = 60 ml/mn

Split vent = 30 ml/mn

Purge = 2 ml/mn

Psi = 6

"Valvetime" = 0,50 mn

Volume injecté = 1 μl

Enregistreur = Att. : 1

III-1-4-1 - Rendement d'extraction par rapport
aux étalons de synthèse.

III-1-4-1-1 - Synthèse des chlorophénols
acétylés.

- Méthode de CHAU et COBURN (1974).

5 g de PCP dans 25 ml de pyridine

+ 50 g d'anhydride acétique (nous avons utilisé 50 ml)
chauffer à 100°C pendant 30 mn

Refroidir

Diluer avec 100 ml d'eau distillée

Extraire par 3 x50 ml de benzène

Laver la solution benzénique par 100 ml de NaOH 5 %
dans l'eau (P/V)

Sécher sur sulfate de sodium anhydride

Evaporer le benzène

Reprendre 3 fois le résidu avec l'hexane.

Nous avons appliqué individuellement cette méthode à
tous les chlorophénols, mais seuls les produits suivants ont
pu être cristallisés :

3, 5-DCP ; 2, 3, 5-TCP ; 2, 4, 6-TCP ; 2, 4, 5-TCP ;
3, 4, 5-TCP ; 2, 3, 4, 5-TTCP ; 2, 3, 5, 6-TTCP ; PCP.

Cette méthode est longue ; aussi nous avons préféré utiliser un système d'extraction basé sur le principe suivant :

en milieu alcalin, les phénols transformés en phénates sont solubles dans l'eau mais insolubles dans les solvants organiques. Après dérivation, les phénols deviennent solubles dans les solvants organiques et insolubles en milieu aqueux sauf la fraction qui n'a pas réagi.

- Mode opératoire :

Environ 100 mg de chlorophénols (on peut doubler la quantité pour les monochlorés) dans 50 ml d'eau dans une fiole jaugée.

+ 1 g de borax (a permis d'obtenir un pH entre 9-10 au même titre que la solution saturée).

+ anhydride acétique (2 ml à cause de la quantité élevée des chlorophénols)

+ 1 ml d'Ether de pétrole (pour permettre une évaporation rapide)

Agiter pendant 5 mn sur agitateur magnétique

Ajouter de l'eau distillée pour faire remonter la phase organique dans le col de la fiole. Cette phase est ensuite séchée sur du sulfate de sodium anhydre.

La pureté du produit dérivé sera vérifiée après analyse par CPG : on observera alors un seul pic au temps de rétention habituel. La phase organique est alors recueillie dans un flacon taré préalablement, puis évaporée au bain-marie sous courant d'azote. La différence entre le poids du flacon vide et chargé sera le poids du produit dérivé.

Le résidu est repris par une quantité précise de toluène pour une éventuelle conservation.

REMARQUE :

L'étalon interne (2,4,6-tribromophénol) est synthétisé dans les mêmes conditions.

III-1-4-1-2 - Extraction.

Comme nous l'avons déjà signalé précédemment, quelques-uns des produits dérivés nous serviront de référence pour le calcul du rendement d'extraction et seront considérés comme extraits à 100 % .

En pratique, nous avons extrait les produits de référence et les produits à étudier dans les mêmes conditions :

Solution de chlorophénols
non dérivés 50 ml

Solution de chlorophénols
dérivés (produit de réf.)
50 ml



+ 1 g de borax
+ 1 ml AA
+ étalon interne synthétisé
+ 1 ml de toluène
Agitation magnétique
5 mn (600 tours/mn)



+ étalon interne synthétisé
+ 1 ml de toluène
Agitation magnétique
5 mn (600 tours/mn).

La phase organique remontée dans le col de la fiole est séchée sur du sulfate de sodium anhydre avant d'être analysée en CPG

La phase organique remontée dans le col de la fiole est séchée sur du sulfate de sodium anhydre avant d'être analysée en CPG

Les résultats obtenus sont rassemblés dans le tableau N° 45 .

Produits à étudier	Concentration pour 50 ml	Etalons synthétisés utilisés comme référence	Rendement d'extraction %
2-CP 3-CP	25 µg	2-CP	36 ± 1 53 ± 5,4
4-CP	25 µg	4-CP	36 ± 2,6
2,3-DCP 2,5-DCP 2,6-DCP 3,4-DCP	0,75 µg	2,3-DCP	92 ± 4,4 98 ± 8,1 87 ± 2,5 105 ± 2
2,3,4-TCP 2,3,6-TCP 2,4,5-TCP 2,4,6-TCP	0,50 µg	2,4,5-TCP	99 ± 6 88 ± 3,3 107 ± 15 101 ± 4,3
2,3,4,5-TTCP PCP	0,25 µg	2,3,4,5-TTCP	89 ± 4,3 107 ± 15
2,4,6-TBP - AA	0,25 µg	2,4,6-TBP	93 ± 10

TABLEAU N° 45: RENDEMENT D'EXTRACTION DES CP PAR RAPPORT A DES ETALONS DE SYNTHÈSE.

COMMENTAIRE.

Tous les monochlorophénols sont mal extraits par rapport à l'ensemble des chlorophénols ; cela pourrait provenir de leur faible réactivité vis-à-vis de l'anhydride acétique.

III-1-4-2 - Rendement d'extraction des produits étalons acétylés.

Dans le but de connaître l'efficacité de notre méthode d'extraction (1 ml solvant pour 50 ml échantillon), il nous a semblé logique de tenter l'extraction des chlorophénols déjà acétylés, considérant qu'aux concentrations utilisées, les étalons sont acétylés à 100 %. Pour ce faire, nous avons utilisé du toluène saturé en eau et procédé comme suit :

III-1-4-2-1 - Préparation de la solution étalon.

50 ml d'eau contenant des CP en quantité connue

+ 1 g de borax

+ 1 ml d'anhydride acétique

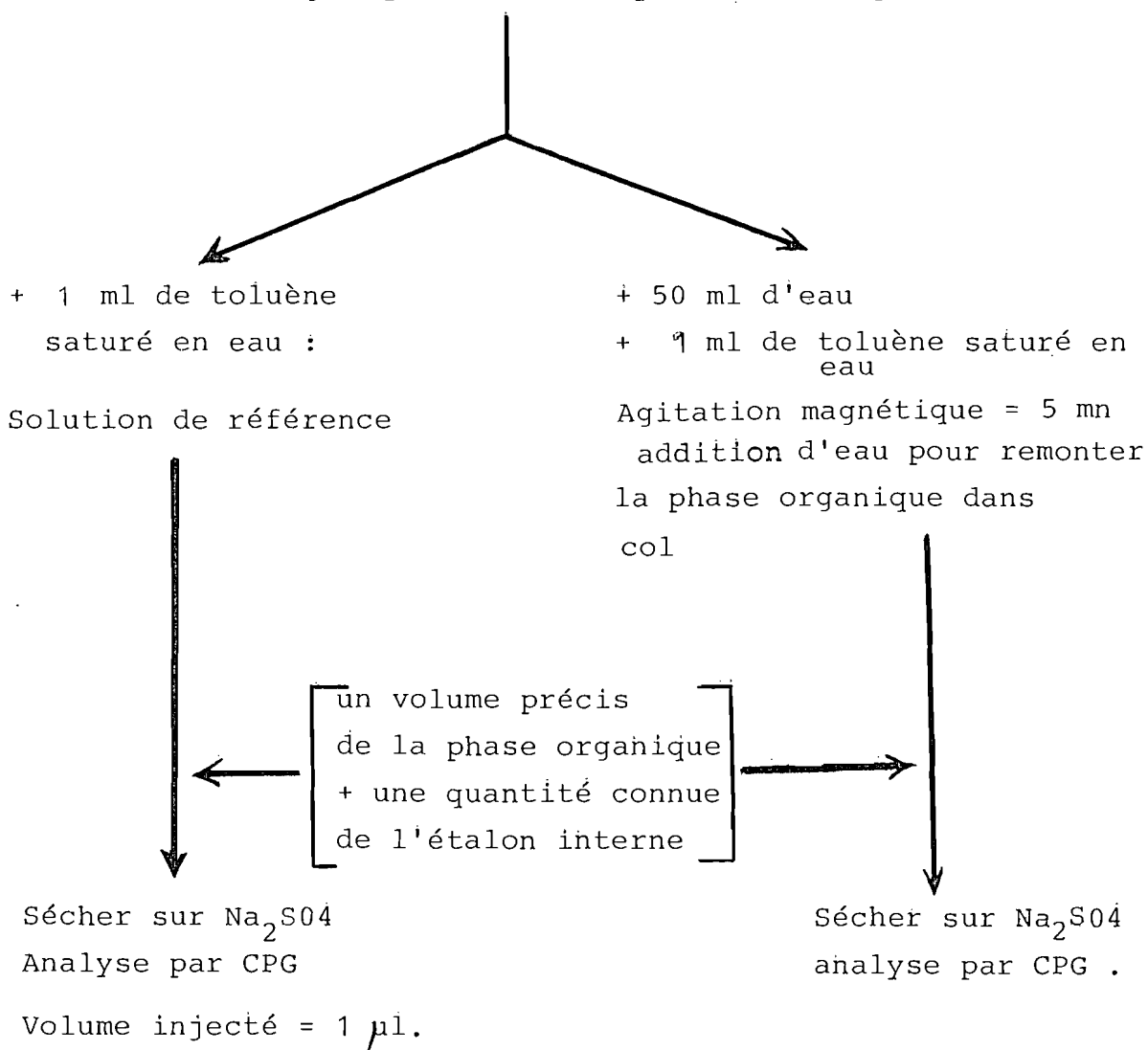
+ 1 ml de toluène saturé en eau

Agitation magnétique : 5 mn

On obtient un extrait organique de CP acétylés (1 ml de toluène).

III-1-4-2-2 - Extraction.

Extrait organique de CP acétylés (volume précis):



REMARQUE.

Les produits superposés ont été extraits individuellement.

Les résultats sont rassemblés dans le tableau N° 46 .

Etalons acétylés	Quantité en μg dans 50 ml	Rendement en %
2-CP	12	64 \pm 07
3-CP	12	71 \pm 1,2
4-CP	16	90 \pm 2,2
2,3-DCP	0,4	80 \pm 1,3
2,4-DCP	0,4	65 \pm 0,8
2,5-DCP	0,4	100 \pm 2
2,6-DCP	0,4	65 \pm 0,7
3,4-DCP	0,4	67 \pm 0,6
3,5-DCP	0,4	54 \pm 0,7
2,3,4-TCP	0,1	55 \pm 0,7
2,3,5-TCP	0,1	58 \pm 0,9
2,3,6-TCP	0,1	53 \pm 0,7
2,4,5-TCP	0,1	99 \pm 0,9
2,4,6-TCP	0,1	49 \pm 0,5
3,4,5-TCP	0,1	60 \pm 0,6
2,3,4,5-TTCP	0,1	53 \pm 0,5
2,3,5,6-TTCP	0,1	44 \pm 0,5
PCP	0,1	39 \pm 0,3

TABLEAU N° 46 : RENDEMENT D'EXTRACTION DES PRODUITS ETALONS ACÉTYLES.

COMMENTAIRE.

Tous les étalons sont extraits à plus de 50 % sauf trois seulement. Ces valeurs sont tellement dispersées qu'il semble difficile de les rapprocher de chaque isomère de CP.

III-1-5 - Etude de la sensibilité et limite de détection de la méthode.

La chromatographie phase gazeuse mode "splitless" est normalement utilisée pour de très faibles quantités de produits (généralement < à 50 ng) mais, compte tenu de la diversité de nos produits, une telle performance bien que souhaitable, semble difficilement accessible.

Nous définirons la sensibilité de l'appareil comme étant la plus petite quantité de produit détectée dans les conditions habituelles d'utilisation de l'appareil. Quant à la limite de détection, nous la définirons comme étant la plus faible concentration de produit que l'on puisse détecter dans les mêmes conditions. Pour éviter tout risque d'erreur, nous les limiterons à 3 fois la ligne de base. Les résultats obtenus toujours dans les mêmes conditions de manipulation sont rassemblés dans le tableau N° 47 .

Produits étudiés	Dérivés AA	
	Sensibilité en valeur absolue : pg	Limite de détection $\mu\text{g/l}$
2-CP	102,5	205 \pm 0,06
3-CP	70	140 \pm 0,26
4-CP	150	300 \pm 0,3
2,3-DCP	1,8	3,6 \pm 0,11
2,4-DCP	1,5	2,9 \pm 0,4
2,5-DCP	1,7	3,4 \pm 0,19
2,6-DCP	1,9	3,8 \pm 0,07
3,4-DCP	1,6	3,2 \pm 0,06
3,5-DCP	1,2	2,4 \pm 0,16
2,3,4-TCP	0,6	1,2 \pm 0,15
2,3,5-TCP	0,5	1 \pm 0,09
2,3,6-TCP	0,7	1,4 \pm 0,001
2,4,5-TCP	0,6	1,2 \pm 0,33
2,4,6-TCP	0,6	1,2 \pm 0,09
3,4,5-TCP	0,4	0,8 \pm 0,001
2,3,4,5-TTCP	0,2	0,4 \pm 0,11
2,3,4,6-TTCP	0,4	0,8 \pm 0,17
PCP	0,4	0,8 \pm 0,32
2,4,6-TBP	0,1	0,2 \pm 0,08
dérivé		

TABLEAU N° 47 : LIMITE DE DETECTION ET SENSIBILITE DES CP ACETYLES.

COMMENTAIRE.

La sensibilité est meilleure pour les polychlorophénols.

III-1-6 - Etude de la reproductibilité.

L'étude de la reproductibilité de la méthode a porté uniquement sur les chlorophénols les mieux séparés. Ce qui nous placera dans les conditions d'une analyse de routine.

La technique d'extraction est toujours la même.

Les résultats obtenus sont rassemblés dans le tableau N° 48 .

Produits	Concentration µg/l	Nombre d'échan- tillons	Réponse en mm ²	Réponse moyenne en mm ²
2-CP*	1,2	4	30 - 32 - 29 - 30	30 ± 1,3
2,3-DCP	7,5	4	8,5 - 10 - 9,2 - 12	10 ± 2
2,4-DCP	7,5	4	22,5 - 31 - 21 - 28	26 ± 5
2,6-DCP	7,5	4	9 - 13,4 - 9 - 11,5	11 ± 2
3,4-DCP	7,5	4	11 - 13 - 12 - 14,5	13 ± 1,5
2,3,5-TCP	5	4	23 - 20 - 22,4 - 29,3	24 ± 4
2,3,6-TCP	5	4	14,3 - 11,4 - 16,4 - 23	16,3 ± 5
2,4,6-TCP	5	4	17 - 18 - 18 - 22,5	20 ± 4
3,4,5-TCP	5	4	22,5 - 25 - 26 - 33	27 ± 4,5
2,3,4,5-TTCP	2,5	4	21,2 - 21,2 - 24 - 34,2	25,2 ± 6
2,3,5,6-TTCP	2,5	4	13 - 9,3 - 14 - 22	15 ± 5,3
PCP	2,5	4	10,5 - 15 - 12 - 22	15 ± 5
2,4,6-TBP AA	1,5	4	13 - 14,4 - 23 - 39	22 ± 12

TABLEAU N° 48: REPRODUCTIBILITE DE LA METHODE DE DERIVATION-
EXTRACTION DES CP ACETYLES.

*: concentration en mg/l

COMMENTAIRE.

La reproductibilité de la méthode est bonne dans l'ensemble.

III-2 - Les dérivés pentafluorobenzoylés.

Le réactif utilisé est le chlorure de 2,3,4,5,6-pentafluorobenzoyle.

Les bases de cette dérivation sont calquées à la fois sur la méthode de RENBERG (1981) et sur les résultats de notre expérience en acétylation.

Les études ont été faites uniquement en chromatographie capillaire à détecteur ECD dans les conditions suivantes :

Colonne : méthylsilicone reticulée 12 m de long
Diamètre : 0,2 mm
Débit de colonne : 60 ml/mn

Split vent : 30 ml/mn

Purge : 2 ml/mn

Psi : 6

"Valvetime" : 0,50 mn

Température du four : T° initiale = 100°C (1') $\xrightarrow{10^\circ\text{C/mn}}$ 230°C

Les extraits organiques sont séchés sur du sulfate de sodium anhydre de la même façon que pour les dérivés acétylés.

III-2-1 - Optimisation de quelques paramètres.III-2-1-1 - La température.

1 ml d'une solution alcaline (borax) de 2,3,4-TCP
(2 mg/l) et de PCP (8 mg/l).
+ 20 μ l PFB (10 % dans le toluène)
+ 1 ml d'Ether de pétrole

La réaction s'est effectuée d'une part, à froid et d'autre part, à 60°C à des temps variables.

Les résultats sont rassemblés dans le tableau N° 49 .

Réactions effectuées	Réponse moyenne des produits dérivés en mm ²	
	2,3,4-TCP	PCP
1°) à froid	265	389
2°) à chaud à 60°C pendant 2 mn	138	262
3°) à chaud à 60°C pendant 5 mn	118	235
4°) à chaud à 60°C pendant 10 mn	63	143

TABLEAU N° 49 : INFLUENCE DE LA TEMPERATURE SUR LA REPOÑSE DES CP PENTAFLUOBENZOYLÈS.

Le meilleur résultat est obtenu à froid. Il faut signaler que dans le cas des réactions à chaud, les analyses par CPG ont été faites après refroidissement complet.

III-2-1-2 - Le volume du PFB.

1 ml de solution alcaline (borax) de 2,3,4,5-TTCP
 + quantité croissante de PFB 10 % dans toluène (5-40 μ l)
 + 1 ml d'Ether de pétrole.

Cette étude a été réalisée sans programmation de température ; les autres conditions chromatographiques n'ayant pas été modifiées.

Les résultats sont rassemblés dans le tableau N° 50 .

Echantillon (ml)	PFB 10 % toluène (μ l)	E.P. (ml)	Réponse des produits dérivés moyenne (mm^2)
1	5	1	416
1	10	1	366
1	20	1	477
1	30	1	786
1	40	1	649

TABLEAU N° 50 : INFLUENCE DU VOLUME DU PFB SUR LA REPONSE DES PRODUITS DERIVES.

La plus forte réponse est obtenue avec 30 μ l de PFB; mais ce volume entraîne une traînée du pic de solvant et masque ainsi les premiers pics. Aussi, retiendrons-nous 20 μ l pour nos études ultérieures.

Lorsque nous avons voulu transposer la technique de l'acétylation (anhydride acétique) à la pentafluorobenzoylation (PFB), nous avons remarqué, que pour 50 ml d'échantillon, il était inutile d'utiliser plus de 20 μ l de PFB à 10 % dans le toluène parce qu'au delà le pic de solvant s'élargit de plus en plus:

III-2-1-3 - Solvant d'extraction.

Ici, nous comparerons les trois solvants organiques suivants :

Le toluène, l'hexane et l'éther de pétrole. Le dichlorométhane a été exclu de cette étude, bien que présenté comme excellent par certains auteurs pour la simple raison qu'il diminue à la longue, la sensibilité du détecteur à capture d'électrons.

Les conditions chromatographiques sont restées les mêmes sauf la température du four :

Température programmée = 100°C (1') $\xrightarrow{10^\circ\text{C}/\text{mn}}$ 250°C.

Expérience :

Echantillon : solution alcaline (borax) de chlorophénols

contenant :

Phénol : 5 μ g/l

4-CP : 5 μ g/l

4C2M ; 2,6-DCP ; 2, 3-DCP ; 3, 4-DCP : 15 µg/l chacun

2, 4, 6-TCP ; 2, 3, 5-TCP ; 2, 3, 6-TCP ; 3, 4, 5-TCP :
65 µg/l chacun

2,3, 4, 5-TTCP ; 2, 3, 5, 6-TTCP : 215 µg/l chacun.

Ces produits ont été choisis en tenant compte de la séparation obtenue avec une programmation de 10°C/mn.

- Mode opératoire :

50 ml d'échantillon

+ 20 µl PFB 10 % dans toluène

+ 1 ml de solvant (hexane ou éther de pétrole ou toluène)

Agitation magnétique : 5 mn

Addition d'eau distillée pour amener la phase organique dans le col de la fiole.

Analyse de la phase organique séchée.

Résultats : (c.f. : tableau N° 51).

Chlorophénols PFB	Extrait hexani- que réponse (mm ²)	Extrait dans le toluène réponse (mm ²)	Extrait dans l'Ether de pétrole réponse (mm ²)
Phénol	4,5 ± 1,7	4 ± 1	4,46 ± 1
2-CP	88 ± 21	89 ± 11	87,5 ± 22
3-CP	4,2 ± 2	3,4 ± 0,8	3,5 ± 1,1
4C2M	5 ± 2	5 ± 1,1	5 ± 1,4
2,6-DCP	4 ± 1	6,2 ± 2,5	5 ± 2
2,3-DCP	3 ± 1	4,3 ± 1	3 ± 0,9
3,4-DCP	6 ± 2	6,8 ± 1,1	6 ± 1,3
2,4,6-TCP	4 ± 2,2	5,2 ± 2,5	3 ± 0,9
2,3,5-TCP	1 ± 0,5	1,4 ± 0,5	0,6 ± 0,4
2,3,6-TCP	1,4 ± 0,6	3,4 ± 2,6	1,5 ± 0,6
3,4,5-TCP	3,3 ± 1	10 ± 3,5	6 ± 5
2,3,5,6-TTCP	-	1,8 ± 2,1	1 ± 1
2,3,4,5-TTCP	-	3, ± 3	1 ± 1

TABLEAU N° 51: ETUDE COMPARATIVE DE QUELQUES SOLVANTS D'EXTRACTION.

COMMENTAIRE.

Les 3 solvants donnent pratiquement les mêmes résultats pour les dérivés mono et dichlorés. Pour le reste, les meilleurs résultats sont obtenus avec le toluène suivi de l'éther de pétrole. Pour la suite de nos études, nous retiendrons le toluène.

III-2-2 - Choix d'étalon interne.

Le 2,4,6-tribromophénol choisi pour les dérivés acétylés convient aussi aux dérivés pentafluorobenzoylés et il sera synthétisé de la même façon que ces derniers.

III-2-3 - Etude du rendement d'extraction.

Les conditions chromatographiques sont les suivantes :
Colonne : méthylsilicone reticulée 12 m de long,
0,2 mm de diamètre.

Split vent	= 30 ml/mn
Purge	= 2 ml/mn
Psi	= 6
"Valvetime"	= 0,50 mn
Température d'injection	= 250°C
Température de détection	= 300°C
Température du four	= 100°C (1') $\xrightarrow{10^\circ\text{C}/\text{mn}}$ 250°C
Volume injecté	= 0,5 μ l
Enregistreur	= Att. = 1

III-2-3-1 - Rendement d'extraction par rapport à des étalons de synthèse.

III-2-3-1-1 - Synthèse des étalons pentafluorobenzoylés.

La méthode est basée sur le même principe que pour l'acétylation.

- Mode opératoire :

Le procédé est le même que dans l'acétylation avec les différences suivantes :

- on peut doubler la quantité des tétra et pentachlorophénols ;
- on utilisera environ 40 µl de PFB 10 % dans le toluène pour 50 ml d'eau à la place d'anhydride acétique.

III-2-3-1-2 - Extraction.

Dans une fiole jaugée de 200 ml; mettre 50 ml échantillon de chlorophénols

- + 1 g de borax
- + 20 µl PFB à 10 %
- + Etalon interne synthétisé
- + 1 ml de toluène

Agiter sur agitateur magnétique pendant 5 mn puis remonter la phase organique dans le col de la fiole par addition d'eau distillée.

La phase organique est analysée par CPG après séchage.

Les résultats sont rassemblés dans le tableau N° 52 :

Produits étudiés	Quantité en µg dans 50 ml	Produits de synthèse utilisés comme réf.	Rendement d'extraction %
Phénoï 3-CP 4-CP 4C2M	0,04	4-CP	99 ± 10 71 ± 8 82 ± 13 57 ± 10
2,3-DCP 2,4-DCP 2,5-DCP 2,6-DCP 3,4-DCP 3,5-DCP	0,08	2,6-DCP	46 ± 7 28 ± 7 17 ± 2 43 ± 6 80 ± 34 17 ± 2
2,3,4-TCP 2,3,5-TCP 2,3,6-TCP 2,4,5-TCP	0,3	2,3,6-TCP	61 ± 5 46 ± 7 54 ± 4 54 ± 8,1
2,3,4,5-TTCP 2,3,5,6-TTCP PCP	4	2,3,5,6-TTCP	65 ± 10 41 ± 7 22 ± 8
2,4,6-TBP-PFB	14	2,4,6-TBP	59 ± 8,4

TABLEAU N° 52 : RENDEMENT D'EXTRACTION DES CP DERIVÉS PAR RAPPORT AUX ÉTALONS DE SYNTHÈSE.

COMMENTAIRE.

Dans l'ensemble, les monochlorophénols sont mieux extraits que les autres CP.

III-2-3-2 - Rendement d'extraction des produits
étalons pentafluorobenzoylés.

Le mode opératoire est le même que celui des dérivés acétylés excepté l'anhydride acétique qui est remplacé par 20 μ l de PFB à 10 %.

Les résultats sont rassemblés dans le tableau N° 53.

Étalons pentafluorobenzoylés	Quantité des étalons dans 50 ml	Rendement en %
Phénol	30 ng	87 ± 1
2-CP	20 "	98 ± 3,5
3-CP	20 "	86 ± 2,1
4-CP	50 "	53 ± 2,5
4C2M	50 "	93 ± 2,3
2,3-DCP	60 "	68 ± 2,3
2,4-DCP	60 "	76 ± 3
2,5-DCP	60 "	58 ± 2,2
2,6-DCP	60 "	99 ± 4
3,4-DCP	60 "	89 ± 3
3,5-DCP	60 "	88 ± 2
2,3,4-TCP	0,2 µg	62 ± 3
2,3,5-TCP	0,2 "	56 ± 2
2,3,6-TCP	0,2 "	55 ± 3,3
2,4,5-TCP	0,2 "	81 ± 0,5
2,4,6-TCP	0,2 "	89 ± 4,2
3,4,5-TCP	0,2 "	97 ± 4
2,3,4,5-TTCP	4 "	73 ± 2
2,3,5,6-TTCP	4 "	99 ± 2
PCP	4 "	94 ± 1,3

TABLEAU N° 53 : RENDEMENT D'EXTRACTION DES ÉTALONS
PENTAFLUOROBENZOYLÉS :

III-2-3-3 - Sensibilité et limite de détection.

Cette étude a été réalisée de la même façon que pour les CP acétylés.

Les résultats sont rassemblés dans le tableau N° 54.

Produits étudiés	Dérivés PFB	
	Sensibilité en valeur absolue en pg	Limite de détection $\mu\text{g/l}$
Phénol	0,05	0,1 \pm 0,15
2-CP	0,05	0,1 \pm 0,17
3-CP	0,1	0,2 \pm 0,13
4-CP	0,1	0,2 \pm 0,2
4C2M	0,1	0,2 \pm 0,26
2,3-DCP	0,3	0,6 \pm 0,21
2,4-DCP	0,3	0,6 \pm 0,34
2,5-DCP	0,35	0,7 \pm 0,14
2,6-DCP	0,14	0,28 \pm 0,22
3,4-DCP	0,11	0,22 \pm 0,17
3,5-DCP	0,45	0,9 \pm 0,2
2,3,4-TCP	0,9	1,9 \pm 0,15
2,3,5-TCP	1,3	2,6 \pm 0,24
2,3,6-TCP	1,1	2,2 \pm 0,1
2,4,5-TCP	1	2 \pm 0,2
2,4,6-TCP	0,45	0,9 \pm 0,11
3,4,5-TCP	0,47	0,94 \pm 0,08
2,3,4,5-TTCP	7,2	14,4 \pm 0,2
2,3,5,6-TTCP	11,9	23,8 \pm 0,26
PCP	21,5	43 \pm 0,5
2,4,6-TBP-PFB	5,8	11,6 \pm 0,2

TABLEAU N° 54 : LIMITE DE DETECTION ET SENSIBILITE DES CP PENTAFLUOROBENZOYLES :

COMMENTAIRE.

La sensibilité de la méthode varie entre 0,05 et 21,5 µg.

La limite de détection varie entre 0,1 et 53 µg/l. Cette limite de détection augmente avec l'importance de la substitution en chlore, ce qui revient à dire que le PFB réagit mieux avec les phénols les moins chlorés.

III-2-3-4 - Reproductibilité:

L'étude a été réalisée sur quelques chlorophénols les mieux séparés de la même manière que pour les produits acétylés.

Les résultats sont reportés dans le tableau N° 55 :

Produits	Concentration µg/l	Nombre d'échantillons	Réponses en mm ²	Réponse moyenne en mm ²
Phénol	0,5	8	8-8-8-10-6-6-5-4,5	7 ± 2
2-CP	0,6	5	11,4-11-10,9-10,5-10,1	10,8 ± 5
4C2M	0,6	7	6-8-6-6-6-6-5,5	6,2 ± 0,8
2,3-DCP	0,6	8	2-2-4-4-3-5,5-5,5-5,5	4 ± 1,5
2,6-DCP	0,6	7	4-6-5-3-5,5-5,5-5,5	5 ± 1
3,4-DCP	0,6	8	4-4-6-6-4-6,5-7-7	6 ± 1,3
2,3,6-TCP	6,5	8	2-2-2-2-2-3-3-3	2,4 ± 0,5
2,4,6-TCP	6,5	8	10-4-12-7-5-5-5,5-5,5	7 ± 3
3,4,5-TCP	6,5	8	2-2-2-4-2-6,5-6-7	4 ± 2
2,3,4,5-T TCP	80	4	0,5-1,5-1,5-1,5	1,3 ± 0,5
2,3,5,6-TTCP	80	4	1-0,3-1-1	0,9 ± 0,3
PCP	80	3	1-0,5-0,4	0,6 ± 0,3
2,4,6-TPB-PFB	100	8	4-4-5-12-7-4-3,5-4	5,4 ± 3

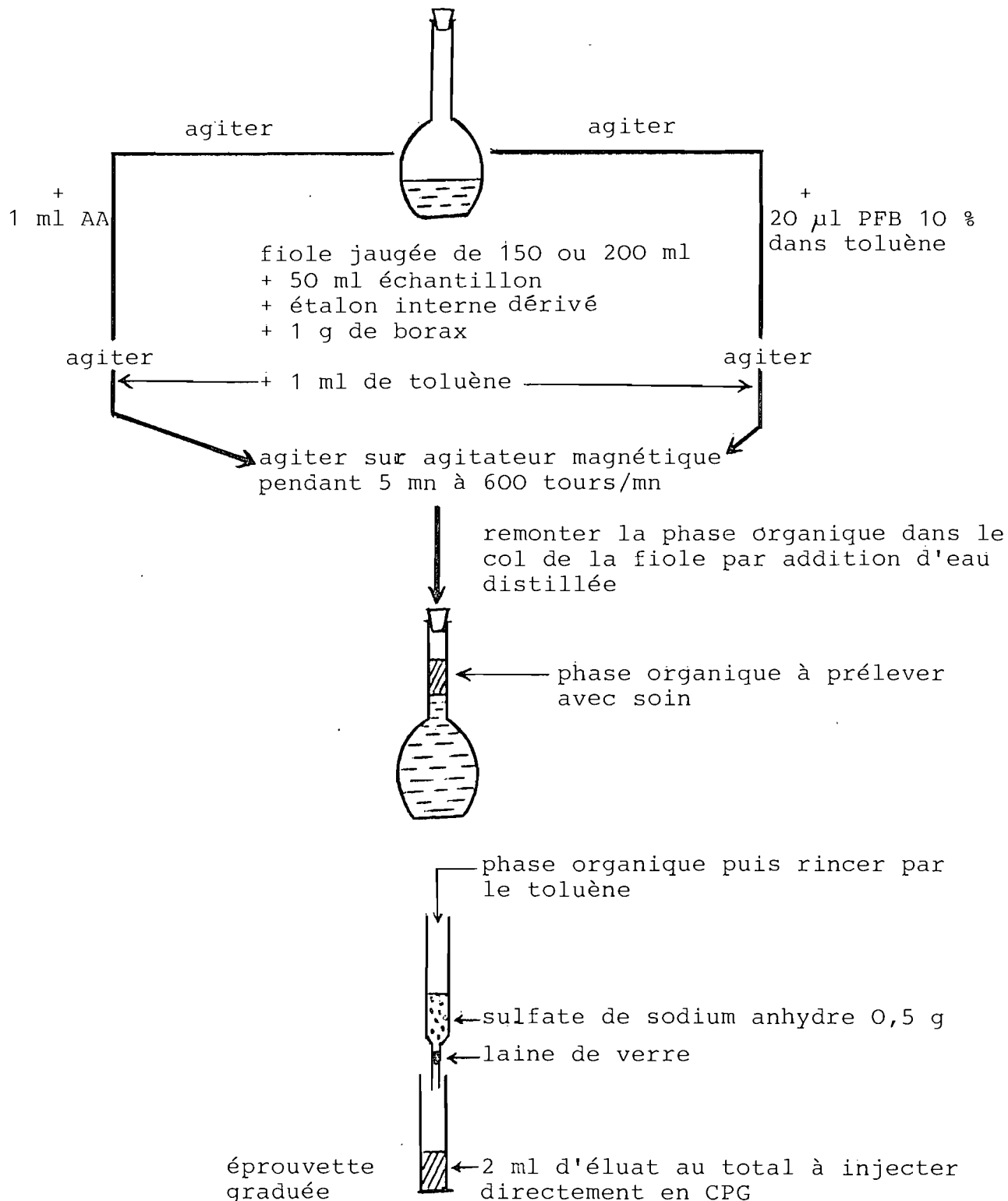
TABLEAU N° 55 : REPRODUCTIBILITE DE LA METHODE DE DERIVATION-
EXTRACTION DES CP PENTAFLUOROBENZOYLES.

COMMENTAIRE.

Nous observons une bonne reproductibilité de la méthode.

III-3 RECAPITULATION DE LA METHODE DE DERIVATION-EXTRACTION

A partir de nos différentes expériences antérieures, nous pouvons résumer la technique comme suit :



REMARQUE : Cette opération dure environ 12 mn.

III-4 - Application de la méthode à l'analyse de quelques échantillons.

III-4-1 - Prélèvements effectués dans le canal de Vridi.*

Les échantillons recueillis dans des flacons teintés la veille du départ pour la France ont été conservés aussitôt au réfrigérateur. Il s'est écoulé environ 24 heures entre le départ d'Abidjan et l'arrivée au laboratoire.

Les analyses effectuées selon les deux techniques n'ont révélé aucune présence de chlorophénols.

III-4-2 - Echantillons provenant des effluents d'usine. (région lyonnaise). Voir
tableau N° 56 .

* : Vridi : zone industrielle d'Abidjan où les usines de raffinage côtoient celles des pesticides et autres.

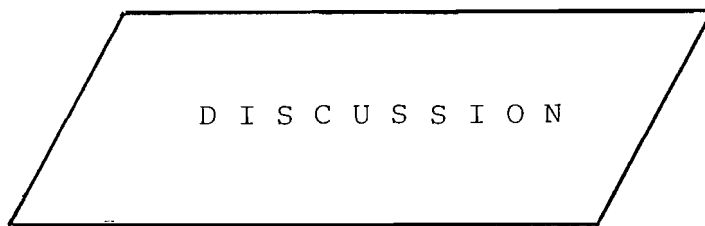
	Méthode à l'anhydride acétique			Méthode au chlorure de pentafluorobenzoyle						
	2,4,6-TCP	2,3,5,6-TTCP	PCP	Phénol	4-CP	2,6-DCP	2,3-DCP	2,4,6-TCP	2,3,5,6-TTCP	PCP
Ech. 1		250 µg/l	710 µg/l	44 µg/l						213 µg/l
Ech. 2 entrée	1,7 mg/l	1,2 mg/l	2,6 mg/l	35 µg/l	23 µg/l	85 µg/l	6 µg/l	516 µg/l	539 µg/l	1,2 mg/l
Ech. 3 sortie	2,9 mg/l	1,5 mg/l	3,7 mg/l	60 µg/l	24 µg/l	136 µg/l	8 µg/l	640 µg/l	606 µg/l	1,1 mg/l
<u>RESULTATS RETENUS</u>										
Ech. 1		250 µg/l	710 µg/l	44 µg/l						
Ech. 2 entrée	1,7 mg/l	1,2 mg/l	2,6 mg/l	35 µg/l	23 µg/l	85 µg/l	6 µg/l			
Ech. 3 sortie	2,9 mg/l	1,5 mg/l	3,7 mg/l	60 µg/l	24 µg/l	136 µg/l	8 µg/l			

TABLEAU N° 56 : RESULTATS DE L'ANALYSE DES EFFLUENTS D'USINE.

COMMENTAIRE

Les résultats des échantillons 2 et 3 prélevés respectivement à l'entrée et à la sortie du bassin, montrent une persistance des chlorophénols dans l'environnement.

(cf. chapitre II-3 - page 12).



D I S C U S S I O N

DISCUSSION.

La discussion portera sur les paramètres suivants :

I - LA SEPARATION DES CP A L'ETAT DE DERIVES.

I-1 - Séparation sur colonne remplie.

La séparation des 18 isomères de chlorophénols semble difficile sur une colonne remplie. D'après EDGERTON et MOSEMAN (1980), la colonne DEGS serait la meilleure, en séparant 11 composés sur 19 chlorophénols. Pour notre part, nous avons obtenu un maximum de séparation sur un mélange Carbowax 20 M 8 %-SE30 2 % (12 composés sur 14 chlorophénols étudiés sont séparés), mais le temps d'analyse est long.

I-2 - Séparation sur colonne capillaire.

Parmi les différents types de colonnes utilisées au cours de notre étude, seule la méthyl silicone réticulée a permis un maximum de séparation avec des différences cependant suivant le type de dérivation (17 séparations sur 18 pour les dérivés acétylés contre 13 séparations pour les dérivés pentafluorobenzoylés). La durée de l'opération dans les deux cas est de 15 mn au maximum.

REMARQUE.

Le phénol et le 4-chloro 2-méthylphénol n'ont pas été pris en compte dans cette discussion.

II- LES TECHNIQUES DE DERIVATION

La plupart des techniques de dérivation déjà existantes opèrent sur des extraits organiques de chlorophénols ce qui allonge la durée de l'opération. COUTTS et al. en 1979, MATHEW et ELZERMAN en 1981 ainsi que LEE et al. en 1984a ont pratiqué des méthodes de dérivation-extraction sur l'échantillon. Dans le premier cas, l'analyse a été effectuée sur un chlorophénol (2,4-DCP) avec un volume d'échantillon de 250 ml et avec 20 ml de solvant qui a été concentré ultérieurement. L'opération a été la même dans le deuxième cas mais cette fois-ci avec trois chlorophénols (2,4-DCP, 2,4,6-TCP, PCP). Dans le dernier cas, l'analyse a porté sur seize chlorophénols (les monochlorophénols ont été exclus) et le volume de l'échantillon a été encore plus élevé (11) pour 60 ml de solvant.

ABRAHAMSSON et XIE (1983) utilisent une technique de dérivation-extraction proche de la nôtre. La prise d'essai est fonction de la concentration en chlorophénols de l'échantillon. Leur étude a porté sur cinq chlorophénols, les monochlorophénols ont été exclus.

Nous avons utilisé deux techniques de dérivation-extraction qui s'appliquent à tous les chlorophénols avec un faible volume d'échantillon (50 ml) et de solvant (1ml). Ce sont des techniques simples et rapides. La réaction d'acétylation s'applique mieux aux polychlorophénols alors que la pentafluorobenzoylation donne un meilleur rendement avec les phénols peu chlorés, ce qui confirme l'étude de FOLKE et LUND (1983).

L'étude du rendement d'extraction réalisée avec cette méthode, semble imparfaite à cause des chlorophénols dérivés que nous n'avons pu trouver dans le commerce. Il est donc souhaitable pour les analyses de routine, d'opérer en présence d'une solution standard de chlorophénols dérivés dans les mêmes conditions que l'échantillon à doser.

III - ETALON INTERNE.

La majorité des étalons internes rencontrés dans la littérature ne répondent pas toujours aux critères d'utilisation :

- le pentachlorobenzène utilisé par RENBERG (1981) sort avant les chlorophénols malgré sa structure relativement proche ;
- le 2-chloro 4-phényl phénol (MATHEW et ELZEMAN, 1981) et le naphтол (COUTTS et al 1979) sont différents des produits étudiés et sortent après tous les chlorophénols ;
- le 4,6-dibromo-0-crésol utilisé par HARGESHEIMER et COUTTS (1981) sort avant le 2,3,4,5-TTCP et le PCP, mais c'est un phényl méthyl substitué ;
- le 2,6-dibromophénol a été utilisé par LINDSTROM et NORDIN en 1976. Il a ensuite été repris par RENBERG et LINDSTROM (1981) puis par ABRAHAMSSON et XIE (1983). Il est très voisin des étalons, mais ne se sépare pas suffisamment du 2,4,6-TCP, du moins sur méthyl silicone (RENBERG et LINDSTROM 1981) ;
- FOLKE et LUND (1983) ont utilisé le 2,4-dibromophénol mais ce dernier ne conviendrait pas aux dérivés pentafluorobenzoylés selon les auteurs eux-mêmes.

- le 2,4,6-tribromophénol utilisé pour notre étude présente les avantages suivants :

- il ressemble aux produits étudiés,
- son temps de rétention est situé avant le pentachlorophénol,
- il réagit avec les deux réactifs de dérivation utilisés,
- sa bonne résolution permet de l'utiliser sur colonne remplie. (cf. annexe III).

IV - LA LIMITE DE DETECTION DE LA METHODE.

La limite de détection de la plupart des méthodes citées se situe au niveau du ppb alors que ces dernières ont souvent fait l'objet de concentration.

La limite de détection de notre méthode varie entre 0,2 et 1 ppb pour les polychlorophénols acétylés (des TCP au PCP) et entre 0,1 et 1 ppb pour les mono-et dichlorophénols pentafluorobenzoylés.

Au total, les deux méthodes peuvent s'adapter aux faibles concentrations des chlorophénols dans l'eau.

V - APPORTS PERSONNELS.

V-1 - Séparation des chlorophénols.

Concernant les dérivés acétylés, 12 mètres de colonne (méthyl silicone réticulée) permet d'obtenir une aussi bonne séparation que 25 mètres de SE-30 (KORHONEN et KNUUTNEN 1983) ou 25 mètres de OV 351 (KORHONEN (1983)).

V-2 - Concentration de l'extraction.

En utilisant 1 ml de solvant d'extraction pour 50 ml d'échantillon, nous évitons la phase de concentration et permettons de raccourcir la durée de l'opération.

V-3 - Intérêt du borax.

Il est facile à manipuler. Parmi les agents alcalins essayés au cours de notre étude, seul le carbonate acide de potassium a donné un meilleur résultat suivi du Borax ; mais il provoque un dégagement gazeux qui est gênant lors du prélèvement.

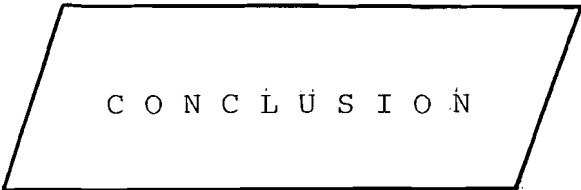
V-4 - Le toluène.

Il permet un bon rendement d'extraction par rapport aux solvants essayés.

Il est peu volatil ; il permet donc d'éviter des résultats par excès dus à une concentration.

Il permet de gagner du temps sur l'analyse car il autorise une programmation de température plus haute.

Il ne contient pas d'halogènes contrairement au dichlorométhane qui entraîne une saturation du détecteur.



C O N C L U S I O N

CONCLUSION.

L'utilisation des colonnes capillaires a permis de distinguer les différents isomères de chlorophénols au cours d'une seule et même analyse grâce à la technique de la programmation de la température.

La technique de dérivation-extraction mise au point au cours de ce travail permet :

- de simplifier l'analyse de CP (la méthode comporte très peu d'étapes intermédiaires) ;
- de raccourcir considérablement la durée des opérations (environ 12mn suffisent) ;
- de réduire le coût des analyses (un seul ml de solvant pour 50 ml d'échantillon).

Grâce à la complémentarité des deux techniques de dérivation, il est possible de détecter les chlorophénols à l'état de traces et contribuer ainsi à la prévention efficace des contaminations de l'eau.



B I B L I O G R A P H I E

O1/ ABRAHAMSSON K. , XIE T.M.

Directed determination of trace amounts of chlorophenols in fresh water, waste water and sea water.
J. Chromatogr. 1983, 279, 199-208.

O2/ AKERBLÖM M., LINDGRÉN B.

Simultaneous determination of active ingredient and chlorophenol impurities in phenoxy acid herbicid formulations by high-performance liquid chromatography with ultra-violet and electro chemical detection.
J. Chromatogr. 1983, 258, 302-306.

O3/ ALY O.M.

Separation of phenols in water by TLC.
Water Res. 1968, 2, 587-595.

O4/ ANONYME

Phenols.

In : Encyclopédie internationale des sciences et techniques .

Ed. Presses de la cité, Paris, 1972, 8, pp 821-826.

05/ ANONYME

Phenols - Method 604.

In : Guidelines establishing test procedures for the analysis of pollutants ; proposed regulations.

Fed. Reg., 3 Dec. 1979, 44, pp 69484-69488.

06/ ANONYME

Chlorinated phenols : criteria for environmental quality.

Associate committee on scientific criteria for environmental quality, National Research Council Canada 1982, NRCC 18578.

07/ ANONYME

Methods of acylation.

Bioresearch and chromatography products. Hand book and general catalog.

Pierce Eurochemie B.V. Rotterdam, Holland, 1981-1982
p 103.

08/ ARGAUER R.J.

Rapid procedure for the chloroacetylation of microgram quantities of phenols and detection by electron-capture gas chromatography.

Anal. Chem. 1968, 40, 122-124.

09/ ARMENTROUT D. N., Mc LEAN J.D., LONG M. W.

Trace determination of phenolic compounds in water by reverse phase liquid chromatography with electrochemical detection using a carbon polyethylene tubular anode.

Anal. Chem. 1979, 51, 1037-1045.

10/ ARMSTRONG R. W., EICHNER E. R. , KLEIN D. E. , BARTHEL W. F. , BENNETT J. V. , JONSSON V. , HELEN BRUCE P. H. , LOVELESS L. E.

Pentachlorophenol poisoning in a nursery for newborn infants. II Epidemiologic and toxicology studies.

J. pediatrics. 1969, 75, 317-325.

11/ ARRHENIUS E. , RENBERG L. , JOHANSSON L.

Subcellular distribution, a factor in risk evaluation of pentachlorophenol.

Chem. Biol. Inter. 1977 a, 18, 23-34.

12/ ARRHENIUS E. , RENBERG L. , JOHANSSON L. , ZETTERQUIST M. A.

Disturbance of microsomal detoxication mechanisms in liver by chlorophenol pesticides.

Chem. Biol. Inter. 1977 b, 18, 35-46

13/BALDWIN M. K. , SELBEY M. A. , BLOOMBERG H.

Measurement of phenol in urine by the method of
VAN HAAFTEN and SIE : a critical appraisal.
Analyst. 1981, 106, 763-767.

14/BARTHEL W. F. ; CURLEY A. , THRASHER C.L. ; SEDLAK V.A.

Determination of pentachlorophenol in blood, urine
tissue and clothing.
J.A.O.A.C. 1969, 52, 294-298.

15/BEVENUE A. , BECKMAN H.

Pentachlorophenol : a discussion of its properties
and its occurrence as a residue in human and animal
tissue.
Residue Rev. 1967, 19, 83-129.

16/BEVENUE A. , EMERSON M. L. , CASARETT L. J. , YAUGER Jr W. L.

A sensitive gas chromatographic method for the deter-
mination of pentachlorophenol in human blood.
J. Chromatogr. 1968, 38, 467-472.

17/ BHATIA K.

Determination of trace phenol in aqueous solution
by aqueous liquid chromatography.
Anal. Chem., 1973, 45, 1344-1347.

18/ BISHOP D. F.

GC/MS methodology for priority organics in municipal wastewater treatment.

Municipal Environmental Research Laboratory, office of Research and Development, U.S. EPA, Cincinnati, Ohio, 1980, Report EPA-600/2-80-196.

19/ BLAU K., KING G. S.

Acylation

In = Handbook of derivatives for chromatography
Ed. BLAU K., KING G. S., HEYDEN, London, 1977 pp
104-200.

20/ BLO G., DONDI F., BETTI A., BIGHI C.

Determination of phenols in water samples as
4-aminoantipyrine derivatives by high performance
liquid chromatography.

J. Chromatogr. 1983, 257, 69-79.

21/ BORSETTI A. P.

Determination of pentachlorophenol in milk and blood
of dairy cattle.

J. Agric. Food Chem. 1980, 28, 710-714.

22/ BRADY R. F. Jr, PETTIT B. C.

Comparaison of gas liquid solid chromatography with capillary column gas liquid chromatography for the analysis of phenols.

J. Chromatogr. 1974. 93, 375-381.

23/ BUCKMAN N. G., HILL J. O., MAGEE R. J.

Identification and determination of microgram amounts of phenol and chlorophenols with methylbenzothiazolinone hydrazone using the Ring-oven technique.

Analyst 1983, 108, 573-580.

24/ BURNHAM A. K., CALDER G. V., FRITZ J. S., JUNK G. A.,
SVEC H. J., WILLIS R.

Identification and estimation of neutral organic contaminants in potable water.

Anal. Chem. 1972, 44, 139-142.

25/ CHAMBON P., CHAMBON-MOUGENOT R., BRINGUIER J.

La pollution de l'eau par les phénols. Identification des phénols par chromatographie sur couches minces après coloration à l' amino-4-antipyrine.

Rev. Inst. Pasteur de Lyon, 1970, 3, 395-400.

26/ CHAMBON-MOUGENOT R.

Preparatory study of dose-effect relationships as for establishing criteria for humans on phenols. Commission of the European Communities, Health and safety directorate.

V/F/1, Luxembourg, 1977.

27/ CHAMBON R., CHAMBON P.

Preparatory study of dose-effect relationships as for establishing sanitary criteria for humans on phenols.

Commission of the European Communities, Luxembourg 1981, N° 2.

28/ CHAU A. S. Y., COBURN J. A.

Determination of pentachlorophenol in natural and waste waters.

J.A.O.A.C., 1974, 57, 389-393.

29/ CHRISWELL C. D.; CHANG R. C.; FRITZ J. S.

Chromatographic determination of phenols in water.
Anal. Chem. 1975, 47, 1325-1329.

30/ COHEN I. C.; NORCUP J.; RUZICKA J. H. A.; WHEALS B. B.

Trace determination of phenols by gas chromatography
as their 2,4-dinitrophenyl ethers.
J. Chromatogr. 1969, 44, 251-255.

31/ COLGAN P. W., CROSS J. A., JOHANSEN P. H.

Guppy behavior during exposure to a sublethal
concentration of phenol.
Bull. Environ. Contam. Toxicol. 1982, 28, 20-27.

32/ COOK R. F., JACKSON J. E., SHUTTLEWORTH J. M.,
FULLMER O. H.; FUJIE G. H.

Determination of the phenols metabolites of
carbofuran in plant and animal matrices by gas
chromatography of their 2,4-dinitrophenyl ether
derivatives.
J. Agr. Food Chem. 1977, 25, 1013-1017.

33/ COOPER R. L., WHEASTONE K. C.

The determination of phenol in aqueous effluents:
Water Res., 1973, 7, 1375-1384.

34/ COUTTS R. T., HARGESHEIMER E. E., PASUTTO F. M.

Gas chromatography analysis of trace phenols by
direct acetylation in aqueous solution.
J. Chromatogr. 1979, 179, 291-299.

35/CROSBY D. G., HAMADMAD N.

The photoreduction of pentachlorobenzenes.
J. Agr. food Chem. 1971, 19, 1171-1174.

36/ CROSBY D. G., WONG A. S.

Photochemical generation of chlorinated dioxins
Chemosphere, 1976, 5, 327-332.

37/ CURTIS R. F., LANG D. G., GRIFFITHS, GEE M., ROBINSON D.,
PEEL J. L., DENNIS C., GEE J. M.

2,3,4,6-tetrachloroanisole association with musty
taint in chickens and microbiological formation.
Nature, 1972, 235, 223-224.

38/ DESOILLE H., GAUDENZI-BRITTO T. F., PHILBERT M.

Une nouvelle méthode de fractionnement des phénols
urinaires.

Arch. Prof. Mal., 1969, 30, 129-138.

39/ DI CORCIA A.

Analysis of phenols by gas-liquid-solid-
chromatography.

J. Chromatogr., 1973, 80, 69-74.

40/ DIRMIKIS S. M., DARBRE A.

Gas-liquid-chromatography of simple phenols for
urinalysis.

J. Chromatogr., 1974, 94, 169-187.

41/ EDGERTON T. R., MOSEMAN R. F., LINDER R. E., WRIGHT L. H.

Multi-residue method for the determination of
chlorinated phenol metabolites in urine.

J. Chromatogr., 1979, 170, 331-342.

- 42/ EDGERTON T. R., MOSEMAN R. F.
Determination of pentachlorophenol in urine = the
importance of hydrolysis.
J. Agr. Food Chem., 1979 27, 197-199.
- 43/ EDGERTON T.R., MOSEMAN R.F., LORES E.M.; WRIGHT L.H.
Détermination of trace amounts of chlorinated phenols
in human urine by gas chromatography.
Anal. chem. , 1980 , 52, 1774 - 1777.
- 44/ EDGERTON T. R., MOSEMAN R. F.
Gas chromatography of underivatized chlorinated
phenols on support bonded polyester columnpackings.
J. Chromatogr. Sci., 1980 18, 25-29.
- 45/ EHRSSON H., WALLE T., BROTELL H.
Quantitative gas chromatographic determination of
picogram quantities of phenols.
Acta Pharm. Suecica, 1971, 8, 319-328.
- 46/ EICEMAN S. G. A., KARASEK F. W.
Retention behavior of chlorinated benzenes,
chlorinated phenols, Aldrin and Arochlor 1242 on
Tenax-GC, Chromosorb 101, Florisil and carbopack CHT.
J. Chromatogr., 1980, 200, 115-124.
- 47/ ERNEY R. D.
Gas liquid chromatographic determination of
pentachlorophenol in milk.
J.A.O.A.C., 1978, 61, 214-216.

- 48/ FAAS L.F., MOORE J. C.
Determination of pentachlorophenol in marine biota
and sea water by gas-liquid chromatography and
high pressure liquid chromatography:
J. Agric. Food Chem., 1979, 27, 554-557.
- 49/ FARQUHARSON M. E., GAGE J. C., NORTHOVER J.
The biological action of chlorophenols.
Br. J. Pharmacol., 1958, 13, 20-24.
- 50/ FARRINGTON D. S., MUNDAY J. W.
Determination of trace amounts of chlorophenols
by gas liquid chromatography.
Analyst, 1976, 101, 639-643.
- 51/ FIRESTONE D., CLOWER Jr M., BORSETTI A. P., TESKE R. H.,
LONG P. E.
Polychlorodibenzo-p-dioxin and pentachlorophenol
residues in milk and blood of cows fed technical
pentachlorophenol.
J. Agric. Food Chem., 1979, 27, 1171-1177.

52/ FOLKE J., LÜND U.

Occurrence of low and high chlorinated phenols in municipal sewage before and after passing through biological treatment plants.

J. Chromatogr., 1983, 279, 189-198.

53/ FOUNTAINE J. E.; JOSHIPURA P. B.; KELIHER P. N.;

JOHNSON J. D.

Determination of pentachlorophenol by ultraviolet ratio spectrophotometry.

Anal. Chem., 1975, 47, 157-159.

54/ FOUNTAINE J. E.; JOSHIPURA P. B.; KELIHER P. N.

Some observations regarding pentachlorophenol levels in haverford township, Pennsylvania.

Water Res., 1976, 10, 185-188.

55/ FRANCIS A. J.; MORGAN E. D.; POOLE C. P.

Flophemexyl derivatives of alcohols, phenols, amines and carboxylic acids and their use in gas chromatography with electron-capture detection.

J. Chromatogr., 1978, 161, 111-117.

56/ FREI HAÜSLER M.; FREI R. W.; HÜTZINGER O.

Determination of hydroxybiphenyls as dansyl derivatives.

J. Chromatogr.; 1973a 79, 209-216.

57/ FREI HAÜSLER M.; FREI R. W.; HÜTZINGER O.

An investigation of fluorogenic labelling of chlorophenols with dansyl chloride.

J. Chromatogr.; 1973b 84, 214-217.

58/ FREUDENTHAL J.

The detection and identification of unknown halogenated compounds in environment samples.

Inter. J. Environ. Anal. Chem., 1978, 5, 311-321.

59/ GIAM C. S.; TRUJILLO D. A.; KIRA S.; HRUNG Y.

Simplified monitoring procedures for benzo (a) pyrene; hexachlorobenzene and pentachlorophenol in water.

BULL. Environ. Contam. Toxicol.; 1980; 25, 824-827.

60/ GLICKMAN A. H., STATHAM C. N., WU A., LECH J. J.

Studies on the uptake, metabolism and disposition of pentachlorophenol and pentachloroanisole in rainbow trout.

Toxicol. Appl. Pharmacol., 1977; 41, 649-658.

61/ GOLDBERG M. C., WEINER E. R.

Extraction and concentration of phenolic compounds from water and sediment.

Anal. Chem. Acta, 1980; 115, 373-378.

62/ GOLDEN J. B., CHAMBON P., VIAL J.

Identification des différents phénols dans les effluents et leur dégradation par aération.

IIème colloque sur la pollution et la protection des eaux de la région Rhone-Alpes; Lyon, 1972.

63/ HARGESHEIMER E. E.; COUTTS R. T.

Selected ion mass spectrometric identification of
chlorophenol residues in human urine.

J.A.O.A.C.; 1983; 66, 13-21.

64/ HASKINS W. T.

Colorimetric determination of microgram quantities
of sodium and copper pentachlorophenates.

Anal. Chem.; 1951; 23, 1672-1674.

65/ HATTULA M. L.; WASENIUS V. M.; REUNANEN H.; ARSTILA A. U.

Acute toxicity of some chlorinated phenols
catechols and cresols to trout.

Bull. Environ. Contam. Toxicol.; 1981_a; 26; 295-298.

66/ HATTULA M. L.; WASENIUS V. M.; KRÄSS R.; ARSTILA A. U.;

KIHLSTROM M.

Acute and short-term toxicity of 2,3,4,
6-tetrachlorophenol in rats.

Bull. Environ. Contam. Toxicol.; 1981_b; 26; 795-800.

67/ HEISTAND R. N.; TODD S. A.

Automated determination of total phenol in urine.
Amer. Ind. Hyg. Ass. J.; 1972; 33; 378-381.

68/ HERILIER H.

Chromatographie en phase gazeuse haute performance
I : Notions théoriques simples et intérêt des
colonnes capillaires.
Lyon pharmaceutique, 1980; 31; 351-356.

69/ HINKLE D. K.

Fetotoxic effects of pentachlorophenol in the
Golden Syrian Hamster.
Abstracts of papers for the twelfth annual meeting
of the society of toxicology, New-York, March 18-22,
1973.
Toxicol. Appl. Pharmacol.; 1973; 25; 439-499.

70/ HOBEN H. J.; CHING S. A.; CASARETT L. J.; YOUNG R. A.

A study of inhalation of PCP by rats Part I.
A method for determination of PCP in rat plasma,
urine, and tissue, and in aerosol samples.
Bull. Environ. Contam. Toxicol.; 1976a; 15; 78-85.

71/ HOBEN H. J.; CHING S. A.; CASARETT L. J.

A study of inhalation of pentachlorophenol by rats
part III, inhalation toxicity study.

Bull. Environ. Contam. Toxicol.; 1976 b, 15, 463-465.

72/ HOBEN H. J.; CHING S. A.; YOUNG R. A.; CASARETT J. L.

A study of the inhalation of pentachlorophenol by
rats ; part V. A proteinbinding study of
pentachlorophenol.

Bull. Environ. Contam. Toxicol.; 1976c, 16, 225-232.

73/ HOLCOMBE G. W.; PHIPPS G. L.; FIANDT J. T.

Effects of phenol, 2,4-dimethylphenol and
pentachlorophenol on embryo, larval and early-juvenile
Fathead Minnows (*Pimephales promelas*):

Arch. Environ. Contam. Toxicol.; 1982, 11, 73-78.

74/ HUSSAIN SAJID, KIFAYATULLÀ Mohd

Separation of chlorophenols and chlorocresols
by high performance liquid chromatographic and
gas chromatographic techniques:

J. Chromatogr., 1979, 168, 517-522.

75/ IDE A., NIKI Y., SAKAMOTO F., WATANABE I., WATANABE H.

Decomposition of pentachlorophenol in paddy soil.

Agr. Biol. Chem., 1972, 36, 1937-1944.

76/ JOHNSON L. G.

Technical communications.

Formation for pentafluorobenzyl derivatives for
the identification and quantitation of acid and
phenol pesticides residues.

J.A.O.A.C., 1973, 56, 1503-1505.

77/ JONES P.A:

Les chlorophénols et leurs impuretés dans l'environnement canadien : analyses économique et technique: Service de la protection de l'environnement; 1981; rapport SPE 3-EC-81-2F:

78/ KAWAHRA R. F.

Microdetermination of derivatives of phenols and mercaptans by means of electron capture gas chromatography:

Anal. Chem.; 1968 ; 40, 1009-1010.

79/ KIMBROUGH R. D.; LINDER R. F:

The effect of technical and 99 % pure pentachlorophenol on the rat liver: Light microscopy and ultrastructure.

In : Abstracts of papers for the fourteenth annual meeting of the society of toxicology, Williamsburg, Virginia, March 9-13, 1975:

Toxicol. Appl. Pharmacol.; 1975; 33, 122-199.

80/ KIMBROUGH R. D.; LINDER R. E.

The effect of technical and purified pentachlorophenol on the rat liver.

Toxicol. Appl. Pharmacol., 1978; 46, 151-162.

81/ KING G. S.; BLAU K.

Introduction to the handbook.

In : Handbook of derivatives for chromatography.

Ed. BLAU K; KING G. S.; HEYDEN; London, 1977;

pp 1-38.

82/ KNUUTINEN J.; KORHONEN I. O. O.

Gas chromatographic separation of acetylated chlorinated phenols, guaicolis and catechols on an SE30 quartz capillary column:

J. Chromatogr., 1983, 257, 127-131.

83/ KOLLOF R. H.; BREUKLANDER L. J.; BARKLEY L. B.

Gas chromatographic analysis of chlorophenol mixtures.

Anal. Chem., 1963, 35, 1651-1654.

84/ KORHONEN I. O. O., KNUUTINEN J.

Gas chromatographic and gas chromatographic-mass spectrometric studies of acetate esters of chlorinated phenols.

J. Chromatogr.; 1983, 256, 135-142.

85/ KRIJGSMAAN W., VAN DEKAMP, CORNELIS G.

Determination of chlorophenols by capillary gas chromatography.

J. Chromatogr.; 1977, 131, 412-416.

86/ KUEHL D. W., WHITAKER M. J., DOUGHERTY R. C.

Micromethods for toxic residue screening by negative chemical ionization mass spectrometry.

Anal. Chem.; 1980, 52, 935-940.

87/ KUSHNIR L., BARR P. A., CHORTYK O. T.

An improved quantitative method for volatile phenols.

Anal. Chem.; 1970, 42, 1619-1621.

88/ KUWAHARA M.; KATO N.; MUNAKATA K.

Photo chemical reaction of pentachlorophenol
part I. The structure of the yellow compound.
Agr. Biol. Chem., 1966a, 30, 232-238.

89/ KUWAHARA M.; KATO N.; MUNAKATA K.

The photochemical reaction of pentachlorophenol
part II. The chemical structure of minor products.
Agr. Biol. Chem.; 1966b; 30, 239-244.

90/ KUWAHARA M.; SHINDO N.; KATO N.; MUNAKATA K.

The photochemical reaction of pentachlorophenol
part III. The chemical structure of a yellow C₁₈
compound.
Agr. Biol. Chem.; 1969; 33, 892-899.

91/ LANCER S. H.; CONNELL S.; WENDER I.

Preparation and properties of trimethylsilyl ethers
and compounds.
J. Org. Chem.; 1958; 23, 50-58.

- 92/ LANDER L.; LINDSTROM K.; KARLSSON M.; NORDIN J.;
SORENSEN L.

Bioaccumulation in fish of chlorinated phenols
from kraft pulp mill bleachery effluents.
Bull. Environ. Contam. Toxicol.; 1977, 18, 663-673.

- 93/ LAMPARSKI L. L.; NESTRICK T. J.

Determination of trace phenols in water by gas
chromatographic analysis of heptafluorobutyryl
derivatives.
J. Chromatogr.; 1978, 156, 143-151.

- 94/ LAMPARSKI L. L.; LANGHORST MARSHA L.; NESTRICK T. L.;
CUTIE SERGIO.

Gas liquid chromatographic determination of
chlorinated benzene and phenols in selected
biological matrices.
J.A.O.A.C., 1980, 63, 27-32.

- 95/ LEE DAN Peter:

Reversed phase HPLC from pH₁ to 13:
J. Chromatogr. Sci.; 1982; 20; 203-208.

96/ LEE HING-BIU, CHAU A. S. Y .

Analysis of pesticide residues by chemical derivatization part VII: Chromatographic properties of pentafluorobenzyl ethers derivatives of thirty-two phenols.

J.A.O.A.C., 1983, 66, 1029-1038.

97/ LEE HING-BIU, WENG LI-DA, CHAU A. S. Y.

Chemical derivatization analysis of pesticide residues. part VIII. Analysis of 15 chlorophenols in natural water by in Situ acetylation.

J.A.O.A.C., 1984_a, 67, 789-794.

98/ LEE HING-BIU, WENG LI-DA, CHAU A. S. Y.

Chemical derivatization analysis of pesticides residues .IX-Analysis of phenol and 21 chlorinated phenols in naturel waters by formation of pentafluorobenzyl ethers derivatives.

J.A.O.A.C, 1984_b , 67, 1086-1091.

99/ LEE HING-BIU, HONG-YOU R.L., CHAU A.S.Y.

Analysis of phenols by chemical derivatization. IV. Rapid and sensitive method for analysis of 21 chlorophenols by improved chloroacetylation procedure.

J.A.O.A.C., 1985, 68, 422-426.

100/ LEHTNON M.

Gas chromatographic determination of phenols as 2, 4-dinitrophenyl Ethers using glass capillary columns and an electron-capture detector.

J. Chromatogr., 1980, 202, 413-421.

101/ LEPRI L., DESIDERI P. G.; HEIMLER D.

High performance thin layer chromatography of chloro-bromo and alkylphenols on ready for use plates of silanized silica gel alone and impregnated with anionic detergents:

J. Chromatogr., 1982, 248, 308-311.

102/ LEIGHTY Edith G., FENTIMAN Jr; ALLISON F.

Conjugation of pentachlorophenol to palmitic acid by liver microsomes.

Bull. Environ. Toxicol., 1982, 28, 329-333

103/LEVIN J. O., NILSON C. A.

Chromatographic determination of polychlorinated phenols, phenoxyphenols, dibenzofurans and dibenzodioxins in wood dust from worker environments.

Chemosphere, 1977, 7, 443-448.

104/LIAO T. F., OEHME F. W.

Plasma protein binding of phenol in dogs and rats as determined by equilibrium dialysis and ultrafiltration.

Toxicol. Appl. Pharmacol., 1981, 57, 226-230.

105/LINDSTROM K., NORDIN J.

Gas chromatography mass spectrometry of chlorophenols in spent bleach liquors.

J. Chromatogr., 1976, 128, 13-26.

106/ LORES E. M., EDGERTON T. R., MOSEMAN R. F.

Method for the confirmation of chlorophenols in human urine by LC with an electron chemical detector.

J. Chromatogr. Sci., 1981, 19, 466-469.

107/ LYNCH M., WEINER Ed.

HLPC:

One of the fastest growing segments of analytical instrumentation finds increasingly popular and versatile applications for organic pollutants in environmental samples.

Environ. Sci. Technol, 1979, 13, 666-671.

108/ MAKITA M., YAMAMOTO S., KATO H. A., TAKASHITA Y.

Gas chromatography of some simple phenols as their o-isobutyloxycarbonyl derivatives.

J. Chromatogr., 1978, 147, 456-458.

109/ MATHEW John; ELZERMAN Alan W.

Gas liquid chromatographic determination of some chloro and nitrophenols by direct acetylation in aqueous solution.

Analytical letters, 1981, 14, 1351-1361.

- 110/ Mc COLLISTER D. D.; LOCKWOOD D. T.; ROWE V. K.
Toxicologic information on 2,4,5-trichlorophenol.
Toxicol. Appl. Pharmacol.; 1961; 3; 63-70.
- 111/ Mc DONALD K. L.
Determination of tetra and pentachlorophenol in
wood by ion ex-change an HPLC
J. Chromatogr., Sci.; 1984; 22, 293-295.
- 112/ Mc KAGUE A. B.
Phenolic constituents in pulp mill process streams.
J. Chromatogr.; 1981; 208; 287-293.
- 113/ Mc LEOD H. A.; LAVER G.
Separation of chlorinated phenols by reversed -
phase high performance liquid chromatography at an
alkaline pH.
J. Chromatogr.; 1982; 244; 385-390.
- 114/ MORGÁDE CARMEN, BARQUET ÁNA, PFÄFFENBERGER C. D.
Determination of poly halogenated phenolic compounds
in drinking water, human blood serum and adipose
tissue.
Bull. Environ. Contam. Toxicol.; 1980; 24; 257-264.

115/MURRAY H. E., NEFF G. S., HRUNG Y., GIAM C. S.

Determination of benzo (a) pyrene, hexachlorobenzene and pentachlorophenol in Oysters from Galveston bay, Texas.

Bull. Environ. Contam. Toxicol.; 1980, 25, 663-667.

116/ NEEDHAM Larry L., ROBERT H. HILL Jr, SIRMANS Sandra L.

Short papers.

Determination of a volatile phenol in serum by high performance liquid chromatography.

Analyst, 1980, 105, 811-813.

117/ OHE T.

Pentachlorophenol residues in human adipose tissues.

Bull. Environ. Contam. Toxicol.; 1979, 22, 287-292.

118/ONO A.

Separation of dichlorophenol isomers by gas liquid chromatography.

Analyst, 1983, 108, 1265-1267.

119/OSTON Rein; WILLIAMS David T.

Evaluation of a liquid-liquid extraction technique
for water pollutants.

J. Chromatogr.; 1981, 212, 187-197.

120/PHIPPS Gary L.; HOLCOMBE G. W.; FIANDT J. T.

Acute toxicity of phenol and substituted phenols to
the fathead Minnow.

Bull. Environ. Contam. Toxicol., 1981, 26, 585-593.

121/PICOT André.

Lindane = Interdit pour les veaux en batterie, mais
utilisé en médecine humaine.

La recherche 1983, 14, 1584-1587.

122/ PIERCE Jr R. H.; BRENT C. R.; WILLIAMS H. P.; REEVES S. G.

Pentachlorophenol distribution in a fresh water
ecosystem.

Bull. Environ. Contam. Toxicol.; 1977; 18, 251-258.

123/PREVOT A. F.

Colonnes.

In : Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse.

Tranchant J. Ed., MASSON, Paris, 1968, pp 84-154.

124/RAGHAVAN N. V.

Separation and quantification of trace isomeric hydroxyphenols in aqueous solution by high performance liquid chromatography.

J. Chromatogr., 1979, 168, 523-525.

125/ RAMON D.

La pratique de chromatographie phase gazeuse, Division analytique - Hewlett Packard, 1977.

126/ RASANEN L., HATTULA N. L., ARSTILA A. U.

The Mutagenicity of MCPA and its soil metabolites chlorinated phenols; catechols and some wide by used slimicides in Finland.

Bull. Environ. Contam. Toxicol.; 1977, 18, 565-571.

127/REALINI P. A.

Determination of priority pollutant phenols in waters by HLPC.

J. Chromatogr. Sci., 1981, 19, 124-129.

128/ REINHEIMER J. D.; DOUGLASS J. P.; LEISTER H.; VOELKEL M. B.

Aromatic nucleophilic substitution reaction in qualitative organic chemistry = the reaction of 2, 4-dinitrofluorobenzene with phenols.

J. Org. Chem.; 1957, 22, 1743-1745.

129/ RENBERG Lars.

Ion exchange technique for the determination of chlorinated phenols and phenoxy acids in organic tissue, soil, and water.

Anal. Chem.; 1974, 46, 459-461.

130/ RENBERG Lars; LINDSTROM K.

C18 reversed phase trace enrichment of chlorinated phenols, galcols and catechols in water.

J. Chromatogr., 1981, 214, 327-334.

131/ RENBERG Lars.

Gas chromatographic determination of phenolic compounds in water, as their pentafluorobenzoyl derivatives.

Chemosphere; 1981, 10, 767-773.

132/ RENNIE P. J.

Determination of trace amounts of phenol in river water by gas chromatography:

Analyst, 1982, 107, 327-330.

133/RESS John, HIGGINBOTHAM G. R.

Electron capture gas chromatography of free chlorophenols.

J. Chromatogr.; 1970, 47, 474-478.

134/RIVERS J. B.

Gas chromatographic determination of pentachlorophenol in human blood and urine:

Bull. Environ. Contam. Toxicol.; 1972; 8; 294-296.

135/RODIER J.

Dosage du pentachlorophenol et dérivés.

In = L'Analyse de l'eau.

Dunod techniques, Bordas, Paris, 1978a, 6ème édition;
pp : 400-402.

136/ RODIER J.

Les composés phénoliques.

In = l'Analyse de l'eau.

Dunod technique, Bordas, Paris, 1978b, 6ème édition
pp : 418-426.

137/ RODIER J.

Dosage des chlorophénols:

In = L'Analyse de l'eau:

Dunod technique, Bordas, Paris, 1978c, 6ème édition

pp : 427-428.

138/ RUDLING L.

Determination of pentachlorophenol in organic
tissues and water.

Water Res.; 1970; 4, 533-537.

139/ SACKMAUEROVÁ-VENINGEROVA M.; UHNAK J.; SZOKOLAY A.,
KOCAN A.

Identification of chlorinated phenols as degradation
products of chlorinated pesticides in biological
materials.

J. Chromatogr.; 1981, 205, 194-198.

140/SANGSTER B.; WEGMAN R. C. C.; HOFSTEE A. W. M.

Non occupational exposure to pentachlorophenol =
clinical findings and plasma PCP concentrations in
three families.

Human Toxicol., 1982, 1, 123-133.

141/ SANTER J.

Directive du conseil relative à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine.

J.O.C.E. du 30 août 1980, Dir. N° 80-778 pp : 1-16.

142/ SEIBER J. N.; CROSBY D. G.; FOUDA H.; SODERQUIST C. J.

Ether derivatives for the determination of phenols and phenol-generating pesticides by electron capture gas chromatography.

J. Chromatogr., 1972, 73, 89-97.

143/ SCHWETZ B. A., GEHRING P. J.

The effect of tetra chlorophenol and pentachlorophenol on rat embryonal and fetal development.

Abstracts of papers the Twelfth annual meeting of the society of toxicology, New-York, March 18-22, 1973.

Toxicol. Appl. Pharmacol., 1973, 25, 439-499.

144/ SCHWETZ B. A., KEELER P. A.; GEHRING P. J.

Effect of purified and commercial grade tetra-chlorophenol on rat embryonal and fetal development.

Toxicol. Appl. Pharmacol., 1974a 28, 146-150.

145/ SCHWETZ B. A.; KEELER P. A.; GEHRING P. J.

The effect of purified and commercial grade pentachlorophenol on rat embryonal and fetal development.

Toxicol. Appl. Pharmacol.; 1974b; 28, 151-161.

146/ SHAFIK T. M.

The determination of pentachlorophenol and hexachlorophene in human adipose tissue.

Bull. Environ. Contam. Toxicol.; 1973 , 10, 57-63.

147/ SHAHWAN G. J.; JEZOREK J. R.

Liquid chromatography of phenols on an 8-quinolone silica Gel-Iron (III) Stationary phase.

J. Chromatogr., 1983; 256, 39-48.

148/ SHOUP R. E.; MAYER G. S.

Determination of environmental phenols by liquid chromatography electrochemistry.

Anal. Chem.; 1982; 54, 1164, 1169.

149/ SIQUIERA M. E. P. B.; FERNICOLA N. A. G. G. S_S

Determination of pentachlorophenol in urine.

Bull. Environ. Contam. Toxicol.; 1981; 27, 380-385.

150/ SKELLY N. E.

Gradient elution in the separation of chlorophenols
by ion exchange.

Anal. Chem.; 1961; 33, 271-273.

151/ SORENSEN Ole.

Spureanalyse von chlorophenolen in trink wasser.

Vom wasser, 1978, 51, 259-264.

152/ TRUHAUT R.; VITTE G.; BOUSSEMART E.

Recherches sur la toxicologie du pentachlorophénol
I. Propriétés, caractérisation et dosage dans les
milieux biologiques.

Arch. Mal. Prof.; 1952a, 13, 561-567.

153/ TRUHAUT R.; L'EPEE P.; BOUSSEMART E.

Recherches sur la toxicologie du pentachlorophénol
II. Intoxications professionnelles dans l'industrie
du bois. Observations de deux cas mortels.

Arch. Mal. Prof.; 1952b; 13, 567-569.

154/ TRUJILLO D. A.; RAY L. E.; MURRAY M. E.; GIAM C. S.

Bioaccumulation of pentachlorophenol by killifish
(*Fundulus similis*).

Chemosphere, 1982; 11, 25-31.

155/ VAN Langeveld H. E. A. M.

Hazardous, substances.

Determination of pentachlorophenol in toy paints.

J.A.O.A.C., 1975, 58, 19-22.

156/ WEGMAN R. C. C., HOFSTEE W. M.

Chlorophenols in surface waters of the Netherlands
(1976-1977).

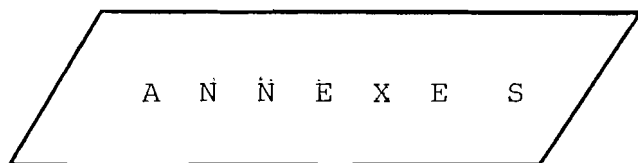
Water Res., 1979, 13, 651-657.

157/ WEAST R. C.

Handbook of chemistry and physics.

The chemical Rubber co, Cleveland, Ohio, 1964-1965

45th edition.



A N N E X E S

ANNEXE I : MATÉRIELS ET REACTIFS

I - MATÉRIELS

- CPG colonne remplie : Fractovap Model GI : Carlo Erba
détecteur à ionisation de flamme.

Azote U

Air (78 % azote, 22 % oxygène)

Hydrogène U

} Compagnie Française de
Produits Oxygénés.

Intégrateur : Servotrace : Sefram-Paris.

- CPG capillaire 5790 A : Hewlett Packard

Détecteur à capture d'électrons.

Hélium

Argon-Méthane

} Compagnie Française de
Produits Oxygénés.

Intégrateur 3090 A : Hewlett-Packard.

- Fiole jaugée de 200 à 250 ml à bouchon rodé.

- Agitateur magnétique IKA-COMBIMAG RBT.

II - REACTIFS.

- Phénols et chlorophénols : purs à 98-99 %

Phénol = Prolabo

2-CP, 3-CP; 4-CP; 4C2M

2,3-DCP; 2,4-DCP, 2,5-DCP ; 2,6-DCP

3,4-DCP; 3,5-DCP

2,3,4-TCP, 2,3,5-TCP, 2,3,6-TCP; 2,4,6-TCP

3,4,5-TCP

2,3,4,5-TTCP; 2,3,5,6-TTCP

2,4,5-TCP

PCP

} Puriss

} Aldrich-Europe

2,4,6-TBP : Prolabo.

- Solvants :

éther de pétrole : pestipur

hexane : pestipur

toluène : pestipur.

- Réactifs de dérivation :

anhydride acétique : Prolabo

anhydride heptafluorobutyrique : Merck

acide trifluoroacétique : Merck

2,3,4,5,6-pentafluorobenzoyle chlorure : Puriss

2,3,4,5,6-pentafluorobenzyle bromure : Puriss.

ANNEXE II : ABBREVIATIONS

I- CHLOROPHENOLS

Monochlorophénols :

ORTHO-CHLOROPHENOL

META-CHLOROPHENOL

PARA-CHLOROPHENOL

4-Chloro, 2-Méthylphénol

CP

MCP

2-CP

3-CP

4-CP

4C2M

Dichlorophénols

Trichlorophénols

Tétrachlorophénols

Pentachlorophénols

Pentachlorophénate de sodium

Octachlorodibenzo-p-dioxine

Acide dichloro 2,4-phenoxyacétique

Dichloro diphenyl trichloroéthane

DCP

TCP

TTCP

PCP

Na-PCP

OCDD

2,4 D

DDT

II - REACTIFS:

acide trifluoroacétique	TFĀ
anhydride heptafluorobutyrique	HFĀ
pentafluorobenzyle bromure	PFĀBr
pentafluorobenzoyl chlorure	PFĀ
anhydride acétique	ĀĀ
carbonate acide de sodium	NaHCO ₃
carbonate sodique	Na ₂ CO ₃
carbonate acide de potassium	KHCO ₃
carbonate potassique	K ₂ CO ₃
borate de sodium	Borax:

III - DIVERS

Chromatographie phase gazeuse	CPG
Chromatographie gazeuse	CG
Détecteur à ionisation de flamme	FID
Détecteur à capture d'électrons	ECD
Spectrométrie de masse	MS
Chromatographie sur couche mince	CCM
Microgramme	µg
Picogramme	pg
Nanogramme	ng
Litre	l
Millilitre	ml
Heure	H
Minute	mn ou ' i
Partie par million	ppm
Partie par billion	ppb
Figure	fig.
Température d'ébullition	Eb
Température de fusion	F
Soluble en toute proportion	∞
Soluble	S
Solvant	solv.
Chaud	h
Mètre	m
Volt	.V

Chloroforme	Chl
Very = très	v
Alkali	ALK
Acide acétique	aa
Solvant organique	OS
Temps de rétention	TR
Réponse moyenne	Rm

ANNEXE III

ETALON INTERNE SUR COLONNE REMPLIE

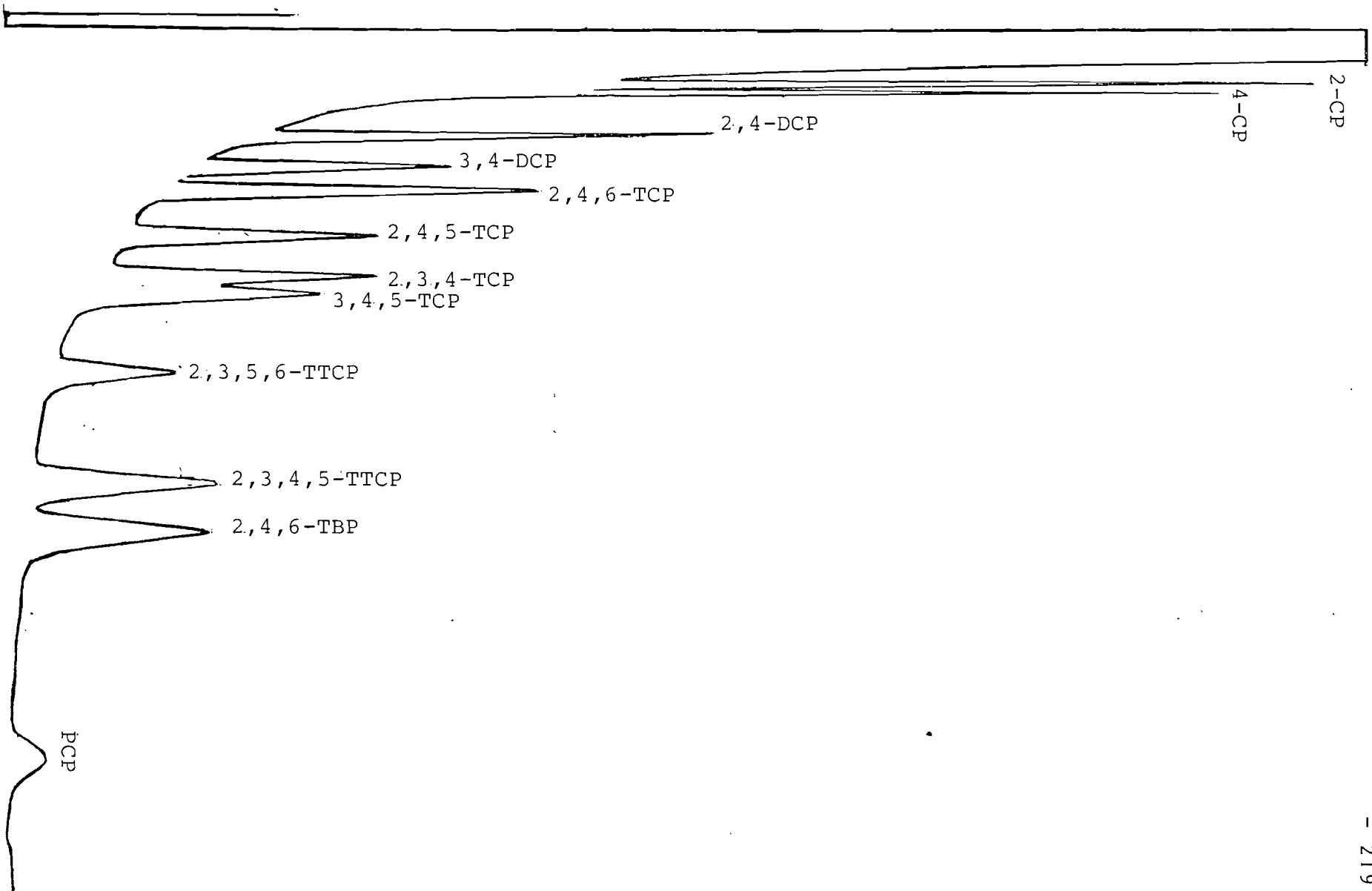


FIG. 20 : SEPARATION DU 2,4,6-TBP SUR SE-30

ANNEXE IV

APPLICATION (suite)

ECHANTILLONS PRELEVES DANS LA BAIE DU BANCO;
DANS LA LAGUNE EBRIE ET DANS LA BAIE DE
COCODY (Figure 1):

Les analyses ont été effectuées selon les deux techniques de dérivation-extraction:

Echantillon N°	2,3,4,5-TTCP µg/l	2,3,5,6-TTCP µg/l	PCP µg/l
1	24,74	35,68	79,74
2			
3			
4			
5		99,61	30,55
6		26,66	324,9
7	29,49	40,88	62,37
8		90,99	54,89
9	133,75	98,69	40,12
10		15,09	54,49
11			
12		14,13	26,56

Légende :

- Echantillon 1 : prélevé dans la baie du banco sur les lieux d'embarquement des bois commerciaux. Ces bois sont traités au préalable à l'aide de divers fongicides dont le lindane et l'aldrine.

- Les autres échantillons ont été prélevés le long de la baie du banco, de la lagune ébrié et de la baie de Cocody avec quelques points de repère comme l'Hotel Ivoire et l'Hotel du Golf (Echantillons 8,9 et 12).

Résultats :

Les analyses n'ont pas révélé la présence de mono; di- et trichlorophénols.

Au niveau de la baie du banco (Echantillons 1 à 4), seul l'échantillon N° 1 contient des tétra et du pentachlorophénol.

Le long de la lagune ébrié et de la baie de Cocody, nous observons aussi la présence de tétra et du pentachlorophénol sauf l'échantillon N° 11 prélevé en dehors des lieux d'habitation.

Discussion :

L'absence de chlorophénols le long de la baie du banco (sauf Echantillon 1) est due au fait que celle-ci est bordée de bidonville en général où le phénomène d'évacuation par

les égouts n'est pas développé.

La présence de chlorophénols le long de la lagune ébrié et de la baie de Cocody semble confirmer ce phénomène de tout à l'égout car les endroits concernés sont des quartiers commerciaux et résidentiels "modernes". Ex : Hotel Ivoire et l'Hotel du Golf qui sont des Hotels de renommée internationale. L'utilisation de pesticides divers (chlorobenzènes, acides phénoxyacétiques, etc...) peut être à l'origine de cette contamination.

L'absence de phénols peu chlorés (mono-di- et trichlorophénols pourraient s'expliquer d'une part par le climat chaud qui favoriserait leur évaporation et d'autre part, par leur faible persistance par rapport aux tétra et pentachlorophénols.

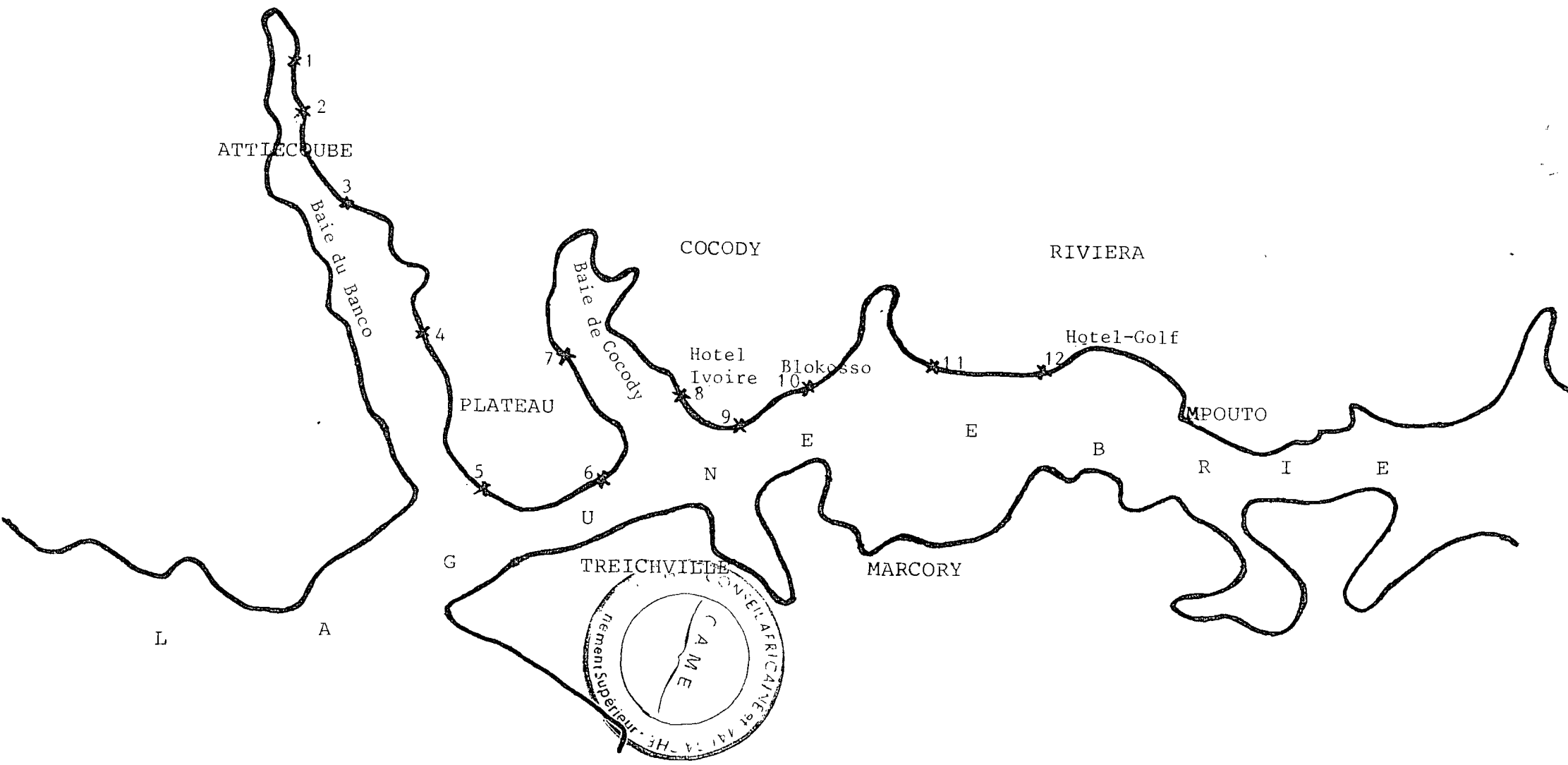


Figure 1 : Lieux de prélèvement des échantillons. Les chiffres 1 à 12 indiquent les numéros des échantillons.

ERRATA

Remerciements : 2^e page, ligne 7 : Lire : pharmacie
5^e page , ligne 4: " : excellent

P.27, ligne 1, lire : conditions
" 19, " : biologique
" 28, " : notamment
P.67, " 18, " : distingue
P.72, " 5, " : division
P.88, " 12, " : méthylsilicone
P.106, " 17, " : thermique
" 25, " : anhydride
P.108, " 14, " : chromatographie
P.111, " 21, " : lacrymogène
P.115, " 14, " : évaporation
P.126, " 26, " : Tribromophénol
P.132, " 11, " : serviront
P.169, " 4, " : permittent