

CHROM. 4393

## ÉTUDE DES HYDROCARBURES POLYCYCLIQUES DE L'ATMOSPHERE

## I. PROBLÈMES NÉS DU COUPLAGE DE LA CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHES MINCES ET DE LA CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE\*

G. CHATOT, W. JEQUIER, M. JAY ET R. FONTANGES

AVEC LA COLLABORATION TECHNIQUE DE P. OBATON

*Centre de Recherches du Service de Santé des Armées, Division de Microbiologie, 108 Boulevard Pinel, Lyon 3<sup>e</sup> (France)*

(Reçu le 21 septembre 1969)

## SUMMARY

*Study of the atmospheric polycyclic hydrocarbons. Problems connected with the coupling of thin-layer chromatography and gas chromatography*

An original routine method, for the analysis of atmospheric polycyclic hydrocarbons is described, in which a thin-layer chromatographic separation is coupled with a gas chromatographic control.

## INTRODUCTION

L'étude de la pollution atmosphérique par des composés chimiques provenant des foyers domestiques et industriels, ou de la combustion incomplète des essences ou huiles lourdes a fait, ces dernières années, l'objet de nombreux travaux. Parmi ces polluants et en raison de leur potentialité carcinogène, les hydrocarbures polycycliques, aromatiques ou hétérocycliques ont été très étudiés. Il était en effet intéressant de connaître s'il existait une relation entre la distribution géographique de certaines tumeurs et la concentration atmosphérique de quelques hydrocarbures réputés cancérigènes. Pour essayer de résoudre ce problème, un certain nombre de méthodes physiques d'analyse a été utilisé. Nous distinguerons principalement des méthodes de séparation telles que la chromatographie sur couches minces, la chromatographie sur colonne et la chromatographie en phase gazeuse, et des méthodes d'identification comme la spectrographie UV, la spectrofluorométrie et la spectrographie de masse.

Les travaux les plus récents montrent que la chromatographie sur couches minces est incontestablement, parmi les techniques de séparation précitées, celle qui a été le plus employée. Il est indéniable en effet, que la diversité des adsorbants et des solvants utilisés en fait une technique relativement spécifique et aux possibilités multiples. Nous pouvons citer comme exemple,

\* Ce travail a bénéficié d'une aide de la Direction des Recherches et Moyens d'Essais.

(1) La séparation des hydrocarbures appartenant à une classe déterminée: Arènes aromatiques<sup>1</sup>; hydrocarbures azahétérocycliques<sup>2,3</sup>; amines aromatiques<sup>4</sup>; iminohydrocarbures<sup>4</sup>; hydrocarbures à fonction carbonyle<sup>4,5</sup>.

(2) La recherche, à l'intérieur du mélange total des hydrocarbures, de composés d'intérêt particulier tels que: le benzo[*a*]pyrène<sup>6,7</sup>; la 7H-benz[*d,c*]anthracène 7-one<sup>7</sup>; la benz[*c*]acridine<sup>7</sup>.

Si la chromatographie sur couches minces apparaît comme une bonne technique de séparation, il faut cependant préciser qu'elle a surtout été utilisée sur des mélanges de produits synthétiques ou sur des fractions de polluants atmosphériques purifiés au préalable par des méthodes physico-chimiques. L'expérience montre en effet<sup>1</sup>, et nous reviendrons sur ce point dans le chapitre II de cette étude, que sur un extrait benzénique total de poussières atmosphériques, un système adsorbants-solvants, aussi spécifique soit-il, ne sépare pas suffisamment les composés, pour une identification directe, à l'aide de la spectrophotométrie UV et de la spectrofluorométrie.

Le maximum d'efficacité de la chromatographie sur couches minces ne pourrait alors être atteint qu'en multipliant les systèmes chromatographiques, opérations relativement coûteuses en matériel et en temps. On ne peut donc retenir ce procédé pour une étude de routine, véritable but recherché. C'est la raison pour laquelle nous avons envisagé un couplage chromatographie sur couches minces-chromatographie en phase gazeuse. Cette dernière technique, du fait de sa grande sensibilité et de son haut pouvoir de résolution, se présente en effet comme un excellent moyen de contrôle qualitatif (indice de rétention) et quantitatif (hauteurs des pics) des chromatogrammes. La chromatographie en phase gazeuse a d'ailleurs déjà été employée mais de manière occasionnelle lors d'essais d'identification directe d'hydrocarbures présents dans l'atmosphère<sup>8,9</sup>, dans l'analyse des fumées de cigarettes<sup>10</sup> ou encore dans celle des mélanges d'arènes synthétiques<sup>11</sup>.

Pour définir avec précision les modalités de l'application d'un tel couplage, nous avons donc entrepris une étude sur un mélange de dix hydrocarbures témoins.

## MATÉRIEL ET TECHNIQUES

### *Solvants*

Les solvants, pentane, éthanol, toluène, benzène, acétone, éther, méthanol, (Prolabo, Paris, France) ont subi une bidistillation préalable et leur pureté a été contrôlée par chromatographie en phase gazeuse.

### *Témoins*

Les témoins sont au nombre de dix: anthracène, 3-méthyl-cholantrène, dibenzo[*a,h*]anthracène (Eastman Organic Chemicals, Rochester 3, N.Y., U.S.A.); 9-fluorène, xanthone, 11H-benzo[*b*]fluorène (Fluka, Buchs, Suisse); naphthalène, pyrène (Prolabo, Paris, France); benz[*a*]anthracène, 3-méthyl-cholantrène (Schuchardt, München, Allemagne); 1-méthyl-pyrène (K and K laboratories Inc., Hollywood, Calif., U.S.A.). Tous ces témoins ont été mis en solution dans le benzène à raison de 1 mg/ml.

### *Technique de chromatographie en phase gazeuse*

*Appareil.* On utilise le modèle 2500 R de Mikrotek muni de deux colonnes identiques et d'un double détecteur à ionisation de flamme.

*Colonnes.* Le support est constitué par du Chromosorb G DMCS. La phase stationnaire dissoute dans le chloroforme est constituée par du SE-52. L'imprégnation est réalisée par évaporation de la solution chloroformique de phase, à température ambiante. Le taux d'imprégnation est de 4.5 % en poids par rapport au support sec. Support et phase sont soigneusement tassés dans des colonnes en inox de 1/8 de pouce et de 2 m de long.

*Conditions de chromatographie.* Les conditions de chromatographie sont les suivantes:

température initiale:	100°
température finale:	290°
programmation de température:	3°/min
atténuation:	256
gaz vecteur:	azote
débit:	60 cc/min
température du bloc d'injection:	250°
température du bloc de sortie:	250°
injection:	de 1 à 4 $\mu$ l

#### *Technique de chromatographie sur couches minces*

*Adsorbants.* Alumine: oxyde d'aluminium G (type E) pour la chromatographie sur couches minces (E. Merck AG, Darmstadt); Cellulose acétylée: MN Cellulosepulver 300 AC (Macherey, Nagel and Co.).

*Lavage des adsorbants.* Des fractions de 20 g d'alumine ont été lavées sous agitation magnétique par 500 ml de benzène pendant 12 h, puis 500 ml d'acétone pendant 12 h, 500 ml d'éther pendant 12 h, et 500 ml de benzène pendant 12 h. Les fractions de cellulose acétylée, de 10 g, ont été lavées sous agitation magnétique, 4 fois 12 h, par le méthanol.

*Plaques.* Des plaques standards de 200  $\times$  200 mm ont été utilisées. L'homogénéisation de 30 g d'adsorbants (20 g d'alumine + 10 g de cellulose acétylée) a été réalisée avec 80 ml d'eau dans un homogénéiseur Jouan type H 451 pendant une minute. L'épaisseur de la couche d'adsorbants a été fixée à 350  $\mu$ .

*Confection des plaques.* Le système chromatographique adopté a été le suivant<sup>1</sup>: Adsorbants: alumine-cellulose acétylée (2:1). Solvants: 1ère dimension, pentane; 2ème dimension, éthanol-toluène-eau (17:4:4).

Trois séries de plaques ont été réalisées, (1) une série de quatre plaques faites avec les adsorbants commerciaux et sur lesquels ont migré des hydrocarbures témoins; (2) une série de quatre plaques faites dans les mêmes conditions que précédemment mais sans dépôt d'hydrocarbures; (3) une série de quatre plaques avec témoins synthétiques, confectionnées avec des adsorbants lavés selon le mode déjà indiqué.

Douze microlitres de la solution-mère, correspondant à 12  $\mu$ g de chaque hydrocarbure témoin ont été déposés sur chaque plaque.

#### *Élution des plaques*

Sur les plaques avec adsorbants lavés ou non lavés, la zone fluorescente (portant les hydrocarbures qui ont migré), révélée en lumière UV, est éluée par le benzène à froid sous agitation magnétique. L'éluat est alors évaporé à sec, puis repris par 20  $\mu$ l de benzène, avant d'être injecté dans le chromatographe. Pour les plaques ne comportant pas d'hydrocarbure témoin, une zone homologue à la précédente a été éluée et traitée de la même façon.

## RÉSULTATS ET DISCUSSION

*Aspect qualitatif*

Au lieu de 10 pics de rétention normalement attendus à partir de l'éluat d'adsorbants non lavés avec témoins, apparaissent, dans la Fig. 1, 10 +  $n$  pics. Ces derniers qui se juxtaposent ou se superposent aux 10 témoins, et rendent le tracé difficilement interprétable, ne peuvent provenir que des impuretés des adsorbants commerciaux. La Fig. 2 vérifie cette hypothèse. Il est en effet possible par lecture différentielle des tracés 1 et 2, de déceler les 10 pics absents dans la Fig. 2, les deux tracés restant par

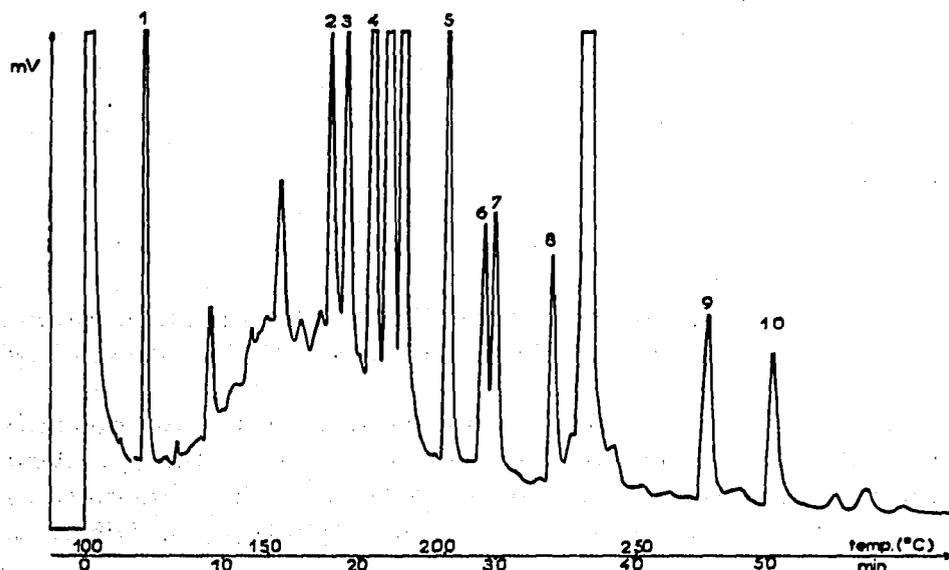


Fig. 1. Chromatogramme de l'éluat d'adsorbants non lavés avec hydrocarbures témoins. 1 = naphthalène; 2 = 9-fluorène; 3 = anthracène; 4 = xanthone; 5 = pyrène; 6 = 11H-benzo[*b*]fluorène; 7 = 1-méthyl-pyrène; 8 = benzo[*a*]anthracène; 9 = 3-méthyl-cholantrène; 10 = dibenzo[*a,h*]anthracène.

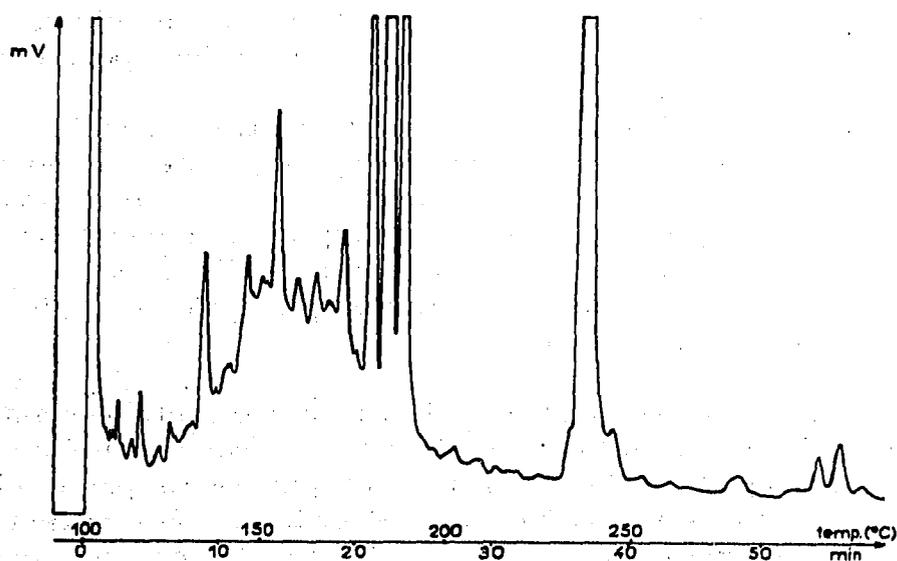


Fig. 2. Chromatogramme de l'éluat d'adsorbants non lavés sans hydrocarbures témoins.

ailleurs parfaitement superposables. Ces 10 pics correspondent bien entendu aux 10 hydrocarbures témoins. On les retrouve isolés dans la Fig. 3, où, après lavage des adsorbants—les autres conditions restant égales par ailleurs—aucun autre pic ne vient se juxtaposer à ceux des témoins.

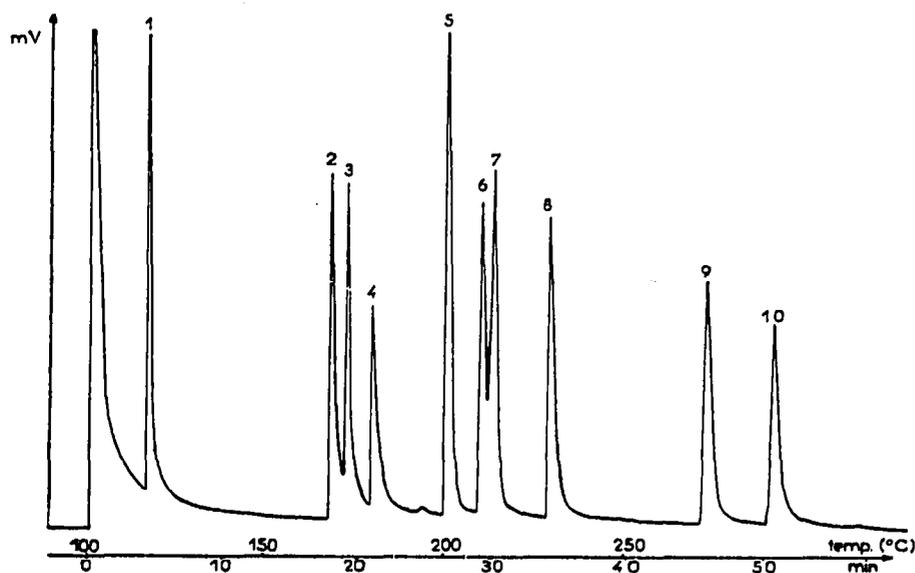


Fig. 3. Chromatogramme de l'éluat d'adsorbants lavés avec hydrocarbures témoins. (Les chiffres ont la même signification que dans la Fig. 1).

### Aspect quantitatif

*Rentabilité de l'injection.* La rentabilité de l'injection est entachée de deux causes d'erreur : l'une due aux difficultés de la récupération de très faibles quantités d'échantillons élués ; l'autre, propre à la technique chromatographique elle-même : adsorption des solutés sur le support et sur la phase.

L'incertitude dans ce cas peut être évaluée à 10 %.

*Rentabilité de l'éluion.* A l'aide de la chromatographie en phase gazeuse et après courbe d'étalonnage, nous avons pu vérifier que la première éluion benzénique a un rendement d'au moins 80 %. Une seconde éluion entraîne moins de 5 % des échantillons.

Ces résultats montrent clairement que le couplage chromatographie sur couches minces—chromatographie en phase gazeuse est possible à condition de travailler avec des adsorbants et des solvants chromatographiquement purs.

Un tel couplage présente un intérêt certain pour l'analyse de routine. En effet, il permet en une opération rapide (extraction benzénique de poussières atmosphériques, 6 h ; chromatographie sur couches minces, 2 h ; chromatographie en phase gazeuse, 1 h 30) de suivre l'évolution de la pollution atmosphérique pour un site donné. Mais ce couplage n'a de valeur que dans le cas d'une analyse de routine, donc il ne peut intervenir qu'après l'identification systématique classique de chaque pic du chromatogramme correspondant au premier échantillon collecté. Dans les analyses ultérieures, les indices de rétention et les hauteurs des pics nous renseigneront sur la composition respectivement qualitative et quantitative de l'échantillon collecté. La

présence de pics inédits traduira bien entendu l'apparition de nouveaux constituants.

Il sera d'ailleurs possible, comme nous l'avons envisagé pour une prochaine étude de perfectionner cette méthode d'analyse en couplant la chromatographie en phase gazeuse avec un spectrographe de masse. Ce nouveau couplage nous permettra alors de lever toute incertitude sur la qualité du pic chromatographique et par là, de dépasser le cadre de la routine pour atteindre une technique analytique originale.

#### BIBLIOGRAPHIE

- 1 E. SAWICKI, T. W. STANLEY, S. MCPHERSON ET M. MORGAN, *Talanta*, 13 (1966) 619.
- 2 C. R. ENGEL ET E. SAWICKI, *J. Chromatog.*, 31 (1967) 109.
- 3 E. SAWICKI, T. W. STANLEY, J. D. PFAFF ET W. C. ELBERT, *Anal. Chim. Acta*, 31 (1964) 359.
- 4 E. SAWICKI, T. W. STANLEY, W. C. ELBERT ET M. MORGAN, *Talanta*, 12 (1965) 605.
- 5 E. D. BARBER ET E. SAWICKI, *Anal. Chem.*, 40 (1968) 984.
- 6 E. SAWICKI, T. R. MAUSER, W. C. ELBERT, F. T. FOX ET J. MEEKER, *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.*, 23 (1962) 137.
- 7 T. W. STANLEY, M. J. MORGAN ET E. M. GRISBY, *Environ. Sci. Technol.*, 2 (1968) 699.
- 8 V. CANTUTI, G. P. CARTONI, A. LIBERTI ET A. G. TORRI, *J. Chromatog.*, 17 (1965) 60.
- 9 L. DE MAIO ET M. CORN, *Anal. Chem.*, 38 (1966) 131.
- 10 N. CARUGNO ET S. ROSSI, *J. Gas Chromatog.*, 5 (1967) 103.
- 11 J. R. WILMHURST, *J. Chromatog.*, 17 (1965) 50.

*J. Chromatog.*, 45 (1969) 415-420