

CHROM. 7961

DOSAGE DU BENZO[*a*]PYRÈNE ATMOSPHÉRIQUE PAR COUPLAGE DES TECHNIQUES FLUORIMÉTRIQUE ET SPECTROPHOTOMÉTRIQUE À SCINTILLATION LIQUIDE

F. DE WIEST, D. RONDIA et H. DELLA FIORENTINA

Laboratoire de Toxicologie de l'Environnement, Boulevard de la Constitution 151, 4000 Liège (Belgique)

(Reçu le 24 juillet 1974)

SUMMARY

*Estimation of atmospheric benzo[*a*]pyrene using fluorimetry coupled with liquid scintillation spectrometry*

Methods for the rapid determination of benzo[*a*]pyrene rest mainly on the separation of the substance by thin-layer chromatography, followed by its spectrophotometric or fluorimetric estimation. Published papers seldom state the recovery results. It is shown here that, with the aid of radioactive benzo[*a*]pyrene tracer and liquid scintillation spectrometry, recovery becomes poorer and less reproducible as the sample decreases in size (to less than 1 μg benzo[*a*]pyrene). Coupling fluorimetry with liquid scintillation spectrometry provides an easy means of reducing this common source of error.

INTRODUCTION

Le benzo[*a*]pyrène, en abrégé B[*a*]P, est connu comme étant un agent chimique de cancérisation des plus actifs. Sa présence dans notre environnement résulte principalement des processus de combustion (foyers domestiques, rejets industriels, moteurs à explosion), générateurs d'une fraction importante de la composante particulaire des polluants atmosphériques. Adsorbé en majeure partie sur les particules fines (diamètre $< 2 \mu\text{m}$) constituant les fumées¹, le B[*a*]P peut pénétrer jusqu'aux parties les plus reculées du tissu pulmonaire où il est rapidement élué par les liquides physiologiques². Ces particules fines peuvent par ailleurs être arrêtées avec les particules plus grosses au niveau des deux premiers embranchements bronchiques, spécialement chez les fumeurs; or c'est à cet endroit qu'on situe le plus grand nombre de cancers primaires des bronches, dont l'augmentation de 1945 à 1960 avait, à juste titre, alarmé les hygiénistes des pays industriels. Ceci justifie probablement le nombre relativement élevé des travaux consacrés aux méthodes physico-chimiques d'analyse des hydrocarbures aromatiques lourds et du B[*a*]P en particulier^{3,4}.

La chromatographie sur colonne, suivie d'une détermination spectrophotométrique, est certainement la procédure d'analyse qualitative⁵ ou quantitative^{6,7} la plus connue. Elle permet la détermination simultanée de huit à dix hydrocarbures

aromatiques lourds mais est très lente. Le coefficient de variation de la méthode ne peut être déterminé avec certitude, principalement à cause des pertes variables sur la colonne et des interférences entre substances à doser qui faussent les examens spectrophotométriques. Dans le cas du dosage du B[a]P, on peut raisonnablement admettre, pour des prélèvements d'hiver de 100 à 200 m³ en milieu urbain, que l'erreur est de l'ordre de 20%. Des quantités relativement importantes de particules sont nécessaires pour permettre une détection valable du B[a]P et cette méthode se justifie donc pour des séries peu importantes de dosages, par exemple: évaluation des variations saisonnières en hydrocarbures polycycliques sur des prélèvements d'air de longue durée ou étude de la composition des fumées particulièrement riches en goudrons (fumées de fours à coke, gaz d'échappement de moteurs automobiles, fumées de combustion de charbon aggloméré).

Actuellement, la chromatographie sur couche mince (TLC) est la plus utilisée des techniques de séparation visant à isoler rapidement et sélectivement le B[a]P du reste des constituants organiques. Divers modes opératoires ont été publiés au cours des dernières années; la plupart utilisent le même support chromatographique mais des solvants différents.

Il faut préciser cependant que la TLC a surtout été appliquée au fractionnement des polluants atmosphériques purifiés au préalable par d'autres procédés⁸. Élégante en soi, rapide et bien adaptée au traitement d'échantillons nombreux, elle est malheureusement entachée par des rendements d'éluion difficilement reproductibles et souvent faibles⁹; on comprend donc aisément que les erreurs peuvent être importantes et vont perturber la validité des mesures faites, après séparation, par des techniques aussi sensibles que la fluorimétrie, la chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse¹⁰. Il était donc important de déterminer l'ampleur de ce manque de reproductibilité par une seconde méthode de dosage, indépendante de la première. Nous avons choisi l'addition de B[a]P marqué à l'échantillon et le couplage du dosage par scintillation liquide au dosage fluorimétrique usuel.

Par ailleurs, le dosage du B[a]P dans de très petits échantillons de particules en suspension dans l'air est susceptible d'apporter au chimiste ou à l'environnementaliste des données d'un ordre tout différent de celles qui ont provoqué l'intérêt des cancérologues. Il ressort, par exemple, de résultats récemment acquis dans notre laboratoire, que la concentration du B[a]P peut être dans certains cas exploitée comme indice de la proportion des particules fines de carbone (diamètre inférieur à 2 μm) dans l'air des villes.

On voit immédiatement l'intérêt qu'il y aurait ainsi d'examiner certains facteurs d'influence sur la composition des particules solides produites par combustion, par exemple: émission, propagation, vieillissement, dilution atmosphérique, conditions météorologiques, validité des modes d'échantillonnage enfin. Une telle approche, basée sur l'intercomparaison détaillée d'un très grand nombre d'échantillons, se justifie par exemple pour des prélèvements d'hiver de courte durée (inférieure à 1 h) propres à mettre en évidence les variations de concentration qui échappent aux enquêtes habituelles sur 24 h. Il est clair que ces objectifs ne peuvent être atteints qu'au moyen d'une technique de dosage garantissant à la fois la sélectivité, la sensibilité et l'exactitude des mesures. Dès lors, vu l'importance des informations qu'une telle étude pourrait apporter, nous nous sommes efforcés de développer et de tester la fiabilité d'une méthode répondant à ces critères.

MÉTHODOLOGIE

Principe de la méthode

De façon à mettre en évidence les pertes subies au cours de la séparation des hydrocarbures aromatiques lourds, notamment lors de l'éluion des plaques, on surcharge l'échantillon avant séparation par une très faible quantité connue de B[a]P marqué au ^{14}C . La simple comparaison des radioactivités, déterminées par spectrométrie à scintillation liquide en début et en fin de procédure, donne le rendement global des différentes étapes opératoires. Ce bilan permet de corriger les mesures du B[a]P total (B[a]P initial + B[a]P radioactif) obtenues par spectrofluorimétrie. La valeur réelle en B[a]P de l'échantillon original s'obtient ensuite par soustraction de la quantité de B[a]P radioactif initialement ajoutée.

Description du mode opératoire

Les diverses étapes d'extraction, de séparation et de dosage sont conduites en prenant les mesures indispensables pour éviter une destruction photochimique du B[a]P. On dépose sur le filtre chargé en poussières atmosphériques, 1 ml d'une solution diluée ($7 \cdot 10^{-2} \mu\text{g/ml}$) de B[a]P marqué au ^{14}C (3,4-[3,6- $^{14}\text{C}_2$]benzopyrène, 50 μCi ; Radiochemical Centre, Amersham, Great Britain).

La phase organique obtenue après extraction du filtre par du cyclohexane au Soxhlet pendant 4 h est évaporée à sec (évaporateur Rotavapor, Büchi) et reprise par 0.4 ml de cyclohexane. Une prise de 0.25 ml de cet aliquot est déposée sur la plaque d'adsorbant. Celui-ci est un mélange d'oxyde d'alumine (15 g dans 75 ml de méthanol) et de cellulose acétylée à 20% (15 g dans 20 ml d'eau). L'épaisseur est fixée à 0.5 mm. La séparation s'opère dans une cuve saturée en vapeur du solvant d'éluion (propanol-dichlorméthane-eau, 60:30:3) suivant deux directions, une phase de séchage à l'obscurité s'intercalant entre les deux migrations. Les solvants utilisés sont de qualité analytique normale; on vérifie en plus que le résidu de leur distillation n'est pas fluorescent.

Le spot du B[a]P, révélé en lumière UV (365 nm) pendant un temps d'illumination très court, est nettement détaché des autres hydrocarbures polycycliques présents; son R_F est compris entre 0.38 et 0.42 (Fig. 1). Les autres hydrocarbures polycycliques à cinq anneaux benzéniques ont des R_F supérieurs, notamment le benzo[e]pyrène, le benzo[ghi]pérylène et le benzo[k]fluoranthène. Le spot du B[a]P est raclé puis extrait à chaud par 3 ml de méthanol. Après centrifugation, pour séparer le culot d'adsorbant, l'éluat est transvasé dans un tube gradué, chauffé à 60° et évaporé par un courant d'azote sec.

L'expérience démontre qu'à ce niveau certaines précautions sont nécessaires: (i) On doit couper le débit d'azote avant l'obtention d'un résidu sec; l'évaporation se complète donc uniquement sous l'influence de la chaleur. En évaporant à sec sous azote pendant plusieurs minutes, on peut perdre du B[a]P par volatilisation. (ii) Le résidu obtenu est dissous dans 2 ml de cyclohexane, transféré dans une cuvette pour la mesure de la fluorescence et récupéré pour le dosage du B[a]P radioactif. Vu les faibles quantités manipulées, les transvasements doivent s'effectuer quantitativement. Les résultats les plus satisfaisants (variabilité inférieure à 3%) s'obtiennent en appliquant la séquence opératoire suivante: Le contenu de la cuvette est versé dans la fiole servant au comptage radioactif, la cuvette est rincée par quelques gouttes de

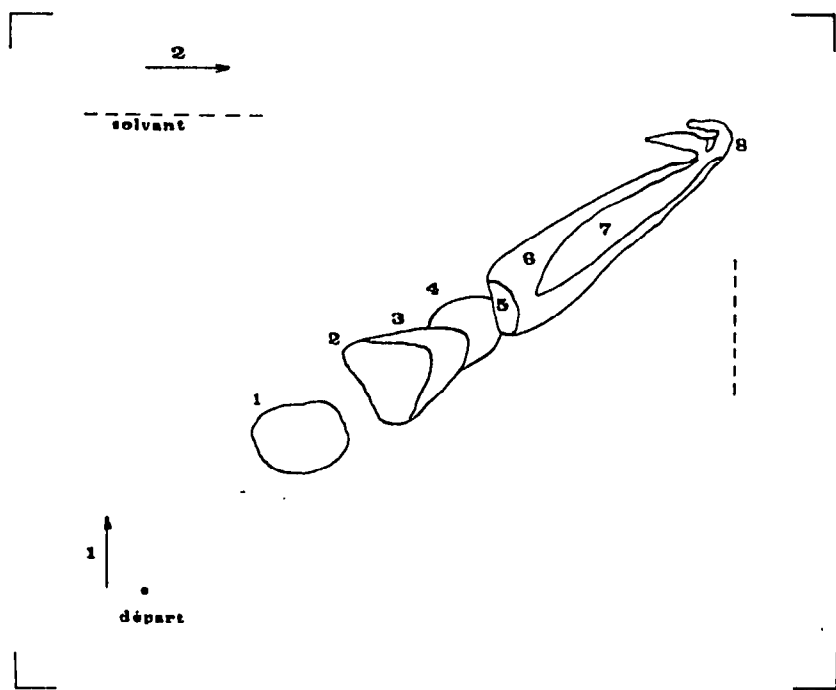


Fig. 1. Chromatographie sur couche mince d'extrait atmosphérique. Couleurs des spots sous UV (365 nm); 1 = Violet (B[a]P); 2 = jaune foncé; 3 = jaune clair; 4 = violet; 5 = vert; 6 = jaune clair; 7 = jaune foncé; 8 = orange.

cyclohexane récupérées dans la fiole, le tube contenant initialement l'échantillon est rincé à l'aide du liquide scintillant.

Spectrofluorimétrie

Les dosages fluorimétriques, caractérisés par une sensibilité 10 à 100 fois plus élevée qu'en spectrophotométrie d'absorption, sont réalisés à l'aide d'un spectrofluorimètre Aminco Bowman à double monochromateur, miroir ellipsoïdal de focalisation du faisceau lumineux et lampe au xénon. Les conditions opératoires retenues (amplification: 0.01; largeur des fentes: 0.5 mm) assurent des lectures stables et spécifiques du B[a]P: excitation à 365 nm, émission à 404 nm. L'intensité du signal fluorimétrique d'une solution étalon de B[a]P de 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ est fixée arbitrairement à 100% de l'échelle du galvanomètre au moyen du sélecteur de sensibilité du photomultiplicateur; toutes les mesures sont ramenées à cet étalon. Les échantillons plus chargés sont dilués de façon à ramener la réponse instrumentale dans cette gamme de mesure. Durant les périodes de pollution élevée rencontrées en milieux urbains (concentration du B[a]P supérieure à 150 $\mu\text{g}/1000 \text{ m}^3$ d'air) un prélèvement de 30 m^3 d'air nécessitera une dilution à 4 ml; des dilutions plus importantes ne sont à envisager que pour des échantillons prélevés sur de longues durées (24 h par exemple).

Les mesures fluorimétriques doivent être rapportées à un étalonnage graphique liant les concentrations et les intensités de fluorescence. Cet étalonnage est réalisé avant chaque série de mesures. On constate en effet, en examinant une série d'échantillons de concentration connue en B[a]P pur (0.9 à 0.05 $\mu\text{g}/\text{ml}$) par rapport à la solu-

tion étalon (1.0 $\mu\text{g/ml}$) que les signaux mesurés peuvent s'écarter de la linéarité théorique. On observe par exemple pour une solution contenant 0.5 $\mu\text{g/ml}$ de B[a]P 53 % de fluorescence au lieu des 50 % attendus; pour 0.2 $\mu\text{g/ml}$, on relève 22.5 % de fluorescence au lieu de 20 %. L'examen approfondi de cet écart montre qu'il résulte de phénomènes d'autoabsorption dont l'importance dépend du degré de dilution.

En opérant de la sorte, on garantit l'exactitude des résultats à ± 2 à 3 % entre 1 et 0.20 $\mu\text{g B[a]P/ml}$. De façon à maintenir l'erreur de la mesure fluorimétrique à des valeurs inférieures à 10 %, il est conseillé de ne pas descendre en-deçà de 0.10 $\mu\text{g/ml}$ de B[a]P.

Le dosage spectrofluorimétrique du B[a]P est très spécifique et très sensible. La seule interférence possible aux longueurs d'onde utilisées est constituée par le benzo[k]fluoranthène, dont la présence a été signalée dans les échantillons de particules atmosphériques^{4,11} mais dont le R_F est assez différent ($R_F = 0.62$).

Spectrophotométrie à scintillation liquide

Les comptages de la radioactivité du ^{14}C sont effectués sur un spectromètre Packard Tri-Carb, Modèle 3375, selon une programmation de l'amplification et de la sélection des canaux qui garantit la précision des mesures en ajustant la distribution spectrale des photons émis, suite aux désintégrations β , à la sensibilité spectrale des photomultiplicateurs. Le temps de comptage est fixé à 5 min pour chaque échantillon. Les résultats sont convertis électroniquement en coups par minutes (cpm). Un dispositif, dit à coïncidence, élimine les risques d'erreur liés aux bruits thermiques et aux effets de phosphorescence du milieu scintillant. On utilise pour chaque mesure 12 ml de mélange scintillant —40 mg 1,4-bis-(5-phényloxazolyl-2)-benzène + 1.6 g 2,5-diphényloxazole dans 100 ml toluène— pour 2 ml de solution de B[a]P dans le cyclohexane.

Les résultats obtenus en cpm doivent être corrigés pour le "quenching" qui influence l'efficacité du comptage. Ce phénomène, caractéristique des mesures par scintillation liquide, trouve son origine principalement dans les effets d'absorption moléculaire; il se traduit par une dissipation de l'énergie β sans conversion photonique. Les comptages bruts, ainsi entâchés d'une sous-estimation, sont corrigés par une standardisation (quantité constante de B[a]P radioactif à laquelle on ajoute des quantités variables d'agents quenchants) qui fournit le rendement de l'émission en % des désintégrations effectivement comptées, par l'intermédiaire du facteur de conversion AES (automatic external standardisation). Le calibrage AES s'obtient automatiquement à l'aide d'une source indépendante, se trouvant dans le compartiment d'échantillonnage, composée de deux isotopes à durée de vie très longue (americium-241 et radium-226).

La courbe d'étalonnage ainsi obtenue est valable pour plusieurs mois. Dans le domaine des activités utilisées (15,000 à 4,000 cpm) les écarts-types caractérisant les comptages sont de l'ordre de 0.5 à 2 %.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

La vérification de l'exactitude et de la reproductibilité de la méthode s'est faite d'une part avec un mélange d'hydrocarbures purs et d'autre part avec des échantillons réels d'aérosol atmosphérique.

Mélange artificiel

La mise au point de la technique a été effectuée sur une gamme d'échantillons de concentration connue en B[a]P allant de 0.43 à 15.39 μg de B[a]P. Pour que l'approche soit aussi réaliste que possible, nous avons adopté, pour chaque échantillon, la composition relative suivante: B[a]P-chrysène-3,4-benzotétraphène (1:1:0.1). Ce choix est justifié par les R_F assez voisins de ces hydrocarbures. Leurs teneurs relatives s'inspirent des résultats acquis sur échantillons réels¹¹. Pour chaque dosage, 0.07 μg de B[a]P marqué a été ajouté à la solution déposée sur couche mince.

Les résultats des divers dosages sont regroupés au Tableau I. La reproductibilité des mesures est définie par le coefficient de variation (calculé à partir de l'écart-type) qui caractérise la dispersion des résultats autour de la moyenne.

TABLEAU I
MÉLANGE ARTIFICIEL D'HYDROCARBURES

Quantité réelle en B[a]P (μg) [*]	Moyenne \bar{x} ^{**}	Coefficient de variation (%) ^{***}	Rendement (%) [§]
15.39	14.88	3.9	57-67
8.93	8.84	3.7	62-74
5.70	5.86	6.3	69-76
5.64	5.50	5.1	
2.55	2.65	4.5	54-76
0.43	0.44	7.9	37-63

* Quantité de B[a]P dans chaque échantillon.

** Moyenne des résultats acquis avec sept essais.

*** Coefficient de variation donné par le rapport $(s/\bar{x}) \times 100$ où s est l'écart-type.

§ Rendements d'éluion calculés à partir des déterminations de radioactivité.

Pour toute la gamme des quantités prospectées, la précision des dosages reste très bonne même pour des échantillons contenant initialement 0.43 μg de B[a]P pour lesquels la variabilité reste inférieure à 8%. Dans le cas d'échantillons peu concentrés (signal de fluorescence inférieur à 20% de l'étalon), il ressort d'expériences complémentaires qu'en adoptant une solution étalon de B[a]P de 0.20 au lieu de 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$, on peut resserrer l'intervalle de confiance. Néanmoins, si l'on veut que l'erreur globale reste inférieure à 10%, la teneur initiale des échantillons ne peut descendre en-dessous de 0.3 μg de B[a]P. Cette limite est suffisante puisque de telles quantités peuvent être captées en moins de 1 h lors des périodes de très faibles pollutions (10 à 15 μg de B[a]P/1000 m^3 d'air).

À ce propos, il est utile de rappeler que la limite inférieure d'applicabilité de la technique doit se définir, non seulement en termes analytiques, mais également en fonction du but poursuivi. Ce qui intéresse ici n'est pas de déterminer avec précision les concentrations en atmosphère peu polluée mais plutôt de disposer d'une méthode suffisamment sensible et exacte pour détecter et mesurer les pointes de concentration localisées dans le temps.

Les valeurs les plus faibles du coefficient de variation observées avec les mélanges plus concentrés (quantité dosée supérieure à 6 μg) sont probablement dues à des pertes relatives moins importantes, les pertes absolues étant vraisemblablement du même ordre; d'autre part, cette reproductibilité montre qu'un bon repérage du

spot du B[a]P est possible sous lumière ultraviolette et que sa séparation est facile.

Par contre, l'examen des résultats du tableau indique clairement les déficiences inhérentes à la méthode par dosage simple (fluorimétrique ou autre) après la séparation chromatographique. Ces déficiences sont doubles:

(1) Le rendement de l'ensemble des opérations de dosage s'abaisse de façon constante en parallèle avec la quantité de B[a]P dosée. En-dessous du microgramme, la quantité de B[a]P dosée peut atteindre 30% seulement de la quantité théorique pour un technicien travaillant normalement à une méthode de routine dont il connaît les points faibles.

(2) Pour plusieurs dosages portant sur une même quantité de B[a]P, le rendement global du dosage varie dans des proportions plus ou moins restreintes si cette quantité est de l'ordre de plusieurs microgrammes; si elle descend en-dessous du microgramme, la reproductibilité du rendement devient aléatoire. À la pauvreté du rendement s'ajoute alors sa variabilité.

Dans ces conditions, toute conclusion basée sur l'examen fluorimétrique de l'extrait d'un spot chromatographique et ramenée à la fluorescence ou à l'absorption d'une solution étalon est entâchée d'une erreur par défaut d'importance non prévisible. Cette erreur dépend en partie sans doute de l'opérateur, mais, pour une partie plus grande, du procédé. La chromatographie sur couche mince ne permet pas une récupération complète du B[a]P déposé, soit que la substance soit oxydée en partie pendant le dépôt et le cheminement de l'échantillon, soit qu'elle diffuse sur une surface de la plaque plus importante que celle qui apparaît violette sous la lumière ultraviolette, soit qu'elle ne soit pas entièrement désorbée lors du lavage de l'absorbant par l'alcool méthylique à chaud. L'erreur est moindre si la fluorescence est ramenée à celle d'une quantité connue et faible de B[a]P chromatographiée et remise en solution dans les mêmes conditions. Elle peut être ramenée à environ 7% par la méthode que nous proposons. Cette méthode n'est pas très longue et se prête facilement au traitement de séries importantes d'échantillons; elle exige évidemment l'emploi d'un scintillateur en milieu liquide et n'est applicable qu'aux hydrocarbures polycycliques dont on a réalisé la synthèse au moyen de ^{14}C .

Échantillons réels

Les prélèvements ont été faits en milieu urbain, à Liège, durant la période hivernale (octobre 1973 à janvier 1974) de façon à obtenir des échantillons qui reflètent particulièrement bien la complexité des mélanges émis lors des processus de combustion. La présence de sources industrielles (fours à coke, centrales électriques) dans et autour de la ville contribuent par la nature et l'importance de leurs rejets, à ce que les aérosols captés soient représentatifs des émissions globales d'une grande ville industrielle.

Le Tableau II donne les résultats obtenus sur deux échantillons de particules atmosphériques prélevés sur filtre en fibre de verre au moyen d'un échantillonneur à grand volume; une partie du second échantillon a, de plus, été surchargé en B[a]P. Sept dosages complets (fluorimétrie et scintillation en milieu liquide) ont été réalisés sur chacun d'entre-eux.

Comme on le voit, les coefficients de variation des dosages se comparent favorablement à ceux qu'on avait obtenu pour des mélanges de quelques hydrocarbures purs: même en présence d'extraits très complexes, résultant d'une extraction

TABLEAU II
ÉCHANTILLONS RÉELS

Teneur en B[a]P (μg) [*]	Coefficient de variation (%) ^{**}	Rendement (%) ^{**}
0.37	8.1	32-47
1.96	5.3	64-76
4.57 (avec surcharge)	7.3	70-75

* Valeur moyenne de sept dosages.

** Voir Tableau I.

au tétrachlorure de carbone par exemple au lieu de l'extraction habituelle au cyclohexane, le couplage des deux méthodes préconisées permet de maintenir la reproductibilité à un niveau très satisfaisant. On peut encore vérifier un des caractères de sélectivité de la méthode sur échantillons réels en examinant les spectres d'absorption ou de fluorescence de la solution d'élution du spot du B[a]P: Aucune interférence notable n'apparaît, attestant ainsi le degré de séparation du procédé chromatographique au départ d'extraits très complexes de particules atmosphériques, riches en hydrocarbures aliphatiques et aromatiques lourds.

On voit également qu'une surcharge en B[a]P (2.55 μg ajoutés pour 1.96 μg de B[a]P normal par dosage) se traduit par une différence moyenne de 2.61 μg et permet de conclure qu'aucun facteur d'influence ou aucune erreur systématique ne perturbe l'exactitude de la méthode.

La variabilité de la récupération du B[a]P après séparation chromatographique, qui avait déjà été démontrée lors du traitement de mélanges artificiels, subsiste évidemment sur les échantillons réels et augmente de nouveau en fonction inverse des concentrations mesurées. Elle n'est pas notablement plus élevée que pour les mélanges artificiels. On peut donc dire que la précision des mesures est essentiellement limitée par la réponse instrumentale et la qualité des manipulations.

CONCLUSION

La méthode décrite, qui consiste principalement à contrôler par un procédé indépendant la quantité récupérée de la substance isolée par chromatographie, se recommande particulièrement en matière de pollution atmosphérique en raison des faibles quantités de B[a]P capté lors d'échantillonnages de courte durée et de volume réduit (10 à 15 m³). Dans ce cas, en effet, la variabilité de la technique, environ 7%, est nettement plus faible que celle qu'on enregistre en appliquant la procédure chromatographique sur colonne où elle dépassait souvent 20% pour des échantillons contenant moins de 2.5 μg de B[a]P.

L'application de cette méthode à d'importantes séries de mesures de la concentration du B[a]P dans l'air de plusieurs villes belges pendant un an nous a montré qu'en routine, avec un personnel attentif et bien au courant de la technique, la récupération du B[a]P à partir du spot isolé de la plaque chromatographique est loin d'être complète¹². De plus, elle est peu reproductible et ce dernier défaut augmente nettement lorsque les quantités absolues de B[a]P dosées sont inférieures au microgramme.

Lorsqu'on doit étudier sur de petits échantillons de particules des ensembles de résultats relatifs à divers points d'une région, divers moments d'une journée ou d'une suite d'opérations et qu'on espère en tirer des conclusions nuancées, il est donc important de réduire au minimum le niveau d'incertitude des chiffres obtenus. L'addition du traceur radioactif constitue une technique simple et efficace pour arriver à ce résultat.

RÉSUMÉ

On décrit une méthode de dosage du benzo[a]pyrène atmosphérique qui consiste à coupler deux techniques instrumentales indépendantes (fluorimétrie et spectrophotométrie à scintillation liquide) de façon à contrôler la quantité récupérée de la substance isolée par chromatographie sur couche mince.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 F. de Wiest, H. Della Fiorentina, D. Rondia, étude en préparation.
- 2 H. L. Falk, A. Miller et P. Kotin, *Science*, 127 (1958) 474.
- 3 E. Sawicki et T. W. Stanley, *Atm. Environ.*, 1 (1967) 131.
- 4 M. Heros, *Rev. Pollut. Atm.*, 5 (1963) 205.
- 5 G. J. Cleary, *Int. J. Air Water Pollut.*, 7 (1963) 753.
- 6 B. T. Commins, *Int. J. Air Water Pollut.*, 1 (1958) 14.
- 7 D. Rondia, *Arch. Belg. Med. Soc.*, 21 (1963) 73.
- 8 G. Chatot et W. Jequier, *J. Chromatogr.*, 45 (1969) 415.
- 9 L. E. Strömberg et G. Widmark, *J. Chromatogr.*, 49 (1970) 334.
- 10 G. Chatot, R. Dangy-Caye et R. Fontanges, *J. Chromatogr.*, 72 (1972) 202.
- 11 G. Chatot et R. Dangy-Caye, *Atm. Environ.*, 7 (1973) 819.
- 12 *Study of National Air Pollution by Combustion (Belgium)*, rapport en préparation.