

Identification des organochlorés à haut poids moléculaire par chromatographie en phase gazeuse sur colonnes capillaires

© Masson, Paris 1981

J. Cl. CAPRAIS et M. MARCHAND

Centre Océanologique de Bretagne, CNEOX, B.P. 337, 29273 Brest (France)

SUMMARY

Identification of high molecular weight organochlorine compounds by glass capillary gas chromatography.

The use of glass capillary columns in gas-liquid chromatography, to identify high weight molecular organochlorine compounds, greatly improve the capacity of separation of the different detected compounds, specially between PCB residues and some chlorinated insecticides (dieldrin, DDT and metabolites). A comparison is given between chromatographic results obtained with glass capillary columns and classical columns.

RÉSUMÉ

L'utilisation des colonnes capillaires en chromatographie en phase gazeuse, pour l'identification des organochlorés à haut poids moléculaire, améliore considérablement le pouvoir de séparation chromatographique, notamment entre les résidus de polychlorobiphényles (PCB) et certains insecticides chlorés (dieldrine, DDT et métabolites). L'amélioration apportée par les colonnes capillaires est comparée aux résultats obtenus sur colonnes classiques remplies.

INTRODUCTION

Le développement au cours de ces dernières années des colonnes capillaires représente, sans conteste, l'acquisition la plus intéressante de la chromatographie en phase gazeuse. Si l'utilisation de ces colonnes à haute résolution et de grande spécificité s'est largement répandue pour l'analyse des hydrocarbures, il n'en est pas de même pour l'identification des résidus organochlorés.

Les principaux organochlorés recherchés et identifiés dans le milieu marin sont le lindane, l'heptachlore, l'aldrine, la dieldrine, le DDT et ses deux principaux métabolites (DDD, DDE) et les résidus de polychlorobiphényles (PCB). L'identification de ces différents composés par séparation chromatographique sur colonnes classiques (dites remplies) se heurte à de sérieuses difficultés du fait des interférences entre les pics chromatographiques de plusieurs insecticides chlorés (dieldrine, DDT, DDD, DDE) et ceux des résidus de PCB. La quantification des insecticides chlorés, identifiés en présence de PCB, nécessite alors des traitements chimiques appropriés afin de surmonter les faiblesses inhérentes à la technique de chromatographie en phase gazeuse à basse résolution — colonnes remplies —. Les principaux traitements chimiques utilisés par les analystes sont :

— la séparation de certains insecticides chlorés, des résidus de PCB, par chromatographie d'adsorp-

tion (Florisol, silica-gel) par élution sélective avec des solvants de polarité croissante.

— des tests chimiques destructifs :

- attaque acide : destruction de la dieldrine,
- saponification : destruction des isomères de l'HCH, transformation du DDT et du DDD en leurs dérivés éthyléniques correspondants, respectivement DDE et DDMU.

L'utilisation des colonnes capillaires, pour l'identification des organochlorés par chromatographie en phase gazeuse, améliore considérablement le pouvoir de séparation par rapport aux colonnes remplies. Schulte et Acker [1] décrivent une méthode de séparation chromatographique sur colonnes capillaires d'extraits d'échantillons biologiques contenant des PCB. L'identification des différents constituants de mélanges PCB sur colonnes capillaires est décrite par Onuska et Comba [2]. Cependant le coût relativement élevé de ce matériel fait qu'il est souhaitable de pouvoir confectionner soi-même sa colonne. Nous référant aux travaux de Berthou [3, 4] et de Prévot et Mordret [5], nous présentons une première expérience de préparation et d'utilisation des colonnes capillaires pour l'identification des résidus organochlorés recherchés dans l'environnement marin.

I. — COLONNES CAPILLAIRES

On distingue actuellement trois principaux types de colonnes capillaires :

- 1) WCOT. « Well Coated Open Tubular », ou

« colonne capillaire vraie », caractérisée par le dépôt de la phase liquide sur la paroi du tube de verre.

2) PLOT « Porous Layer Open Tubular ». Ce terme désigne les colonnes capillaires à couche poreuse. La couche poreuse peut être obtenue par traitement chimique du verre ou par dépôt d'un support très fin (5 µm) et poreux, tel que la silice, la terre de diatomée, du carbone graphité ou des cristaux de chlorure de sodium. Dans ce dernier cas (dépôt d'un support), le terme générique généralement utilisé est SCOT ou « Support Coated Open Tubular ».

3) Colonnes capillaires remplies « Micropacked ». Ce sont des colonnes remplies d'un support poreux imprégné d'une phase liquide. Ce type de colonne est à classer, en fait, parmi les colonnes analytiques remplies.

Les caractéristiques des colonnes utilisées en chromatographie en phase gazeuse sont résumées dans le *tableau I*.

Nous avons préparé et utilisé des colonnes du type WCOT, imprégnées de phase liquide silicone SE-30.

TABLEAU I. — *Caractéristiques des colonnes chromatographiques.*
D'après Berthou [4].

TABLE I. — *Characteristics of chromatographic columns.*
From Berthou [4].

Type	WCOT	PLOT (SCOT)	« micro-packed » capillaire	remplie
Diamètre ext. (mm)	0,75	1	1,5	1/8"-1/4"
Diamètre int. (mm)	0,25	0,50	0,7	2 et 4
Longueur (m)	20 à 100	15-30	3 à 6	1 à 3
Plateaux théoriques	100 000	50 000	30 000	5 000

II. — PRÉPARATION DES COLONNES CAPILLAIRES EN VERRE

1. Étirage des colonnes

La canne de verre Pyrex (Ø ext. : 6 mm, Ø int. : 3 mm) est étirée dans une étireuse de verre (type SPIRAL).

2. Traitement du verre

L'inertie chimique du verre est indispensable pour l'analyse des microquantités. La désactivation du verre Pyrex, après étirage, est rendue nécessaire et s'effectue en deux étapes : silanisation et dépôt d'agent tensio-actif :

— la *silanisation* est réalisée par traitement du verre avec un mélange hexaméthyl-disilazane/triméthylchlorosilane (HMDS/TMCS, 5 : 1, v/v).

— le *dépôt d'agent tensio-actif* est réalisé par passage dans le tube capillaire d'une solution de dichlorométhane contenant 1 % (p/p) de détergent (BTPPC).

3. Dépôt de la phase liquide liquide

L'imprégnation est réalisée par la méthode statique. Le tube capillaire est rempli d'une solution très diluée de phase stationnaire SE-30 (0,1 à 0,5 %, p/v) dans du dichlorométhane. La méthode statique consiste à sceller une extrémité de la colonne et à faire le vide à l'autre extrémité. Le solvant s'évapore lentement et laisse sur les parois un film régulier de phase liquide. Une fois l'évaporation terminée, la colonne est prête pour être montée dans le chromatographe.

III. — CONDITIONS OPÉRATOIRES ANALYTIQUES

Nous présentons les chromatogrammes de plusieurs types d'organochlorés analysés sur colonnes classiques remplies (9 % OV-101 sur Chromosorb W 100/120 mesh) et sur colonnes capillaires WCOT (SE-30). Différents cas de figures ont été réalisés :

- mélange d'insecticides chlorés : lindane, heptachlore, aldrine, dieldrine, DDE,DDD, DDT ;
- profils d'étalons PCB à différents taux de chlore : DP-4, DP-5, DP-6 ;
- mélange de PCB et d'insecticides chlorés.

Les quantités injectées sont de :

- 30 pg pour le lindane, heptachlore, aldrine ;
- 100 à 150 pg pour le DDT, DDD, DDE ;
- 1 à 1,5 ng pour les PCB.

Les caractéristiques des colonnes remplies et colonnes capillaires, ainsi que les conditions opératoires sont résumées dans le *tableau II*.

TABLEAU II. — *Caractéristiques des colonnes chromatographiques et conditions opératoires.*

TABLE II. — *Characteristics of chromatographic columns and experimental conditions.*

	Colonne remplie	Colonne capillaire (WCOT)
<i>Caractéristiques des colonnes</i>		
Matériel	Verre Pyrex	Verre Pyrex
Ø ext. (mm)	6	0,8
Ø int. (mm)	4	0,4
Longueur (m)	1,5	32
Phase	9% OV-101 sur chromosorb W	0,28 % SE-30
<i>Conditions opératoires</i>		
Chromatographe	TRACOR 560	TRACOR 560
Injecteur	Direct	Type de ROS
Détecteur	C.E. (Ni ⁶³)	C.E. (Ni ⁶³)
Températures (°C)		
— four initial	isotherme 200	180
— four final	»	240
— four programmation	»	2 °C/min.
— injecteur	220	240
— détecteur	300	300
Gaz vecteur (cm ³ -min. ⁻¹)		
— débit colonne	70	2
— débit purge	20	60
Atténuation du linéariseur ...	× 4	× 4
Nombre de plateaux théoriques (calculés)		
	3 000	50 000

IV. — RÉSULTATS

1. Colonne remplie (9 % OV-101 sur Chromosorb W)

Les différents cas de figure sont illustrés sur les *figures 1 et 2* :

Figure 1 : chromatogrammes de trois profils PCB : DP-4, DP-5 et DP-6.

Figure 2 : Chromatogramme d'un mélange d'insecticides chlorés (lindane, heptachlore, aldrine, dieldrine, DDE, DDD, DDT) et chromatogramme du mélange de ces différents insecticides chlorés avec un profil PCB du type DP-5.

La séparation chromatographique sur colonne classique fait apparaître 14 à 16 pics chromatographiques dans l'analyse des différents étalons de PCB. La dieldrine interfère avec le DDE. Les pics chromatographiques correspondant au DDE, à la dieldrine, au DDD et au DDT interfèrent avec certains pics de PCB. Ces interférences nécessitent par conséquent une séparation préalable par chromatographie d'adsorption sur Florisil ou silica-gel et (ou)

des tests chimiques de confirmation (attaque acide, saponification).

2. Colonne capillaire WCOT (SE-30)

L'analyse des organochlorés sur colonne capillaire est présentée sur les figures 3 et 4 :

figure 3 : mélange d'insecticides chlorés (lindane, heptachlore, aldrine, DDE, DDD, DDT), profil PCB, type DP-5, mélange du PCB (DP-5) et des insecticides chlorés.

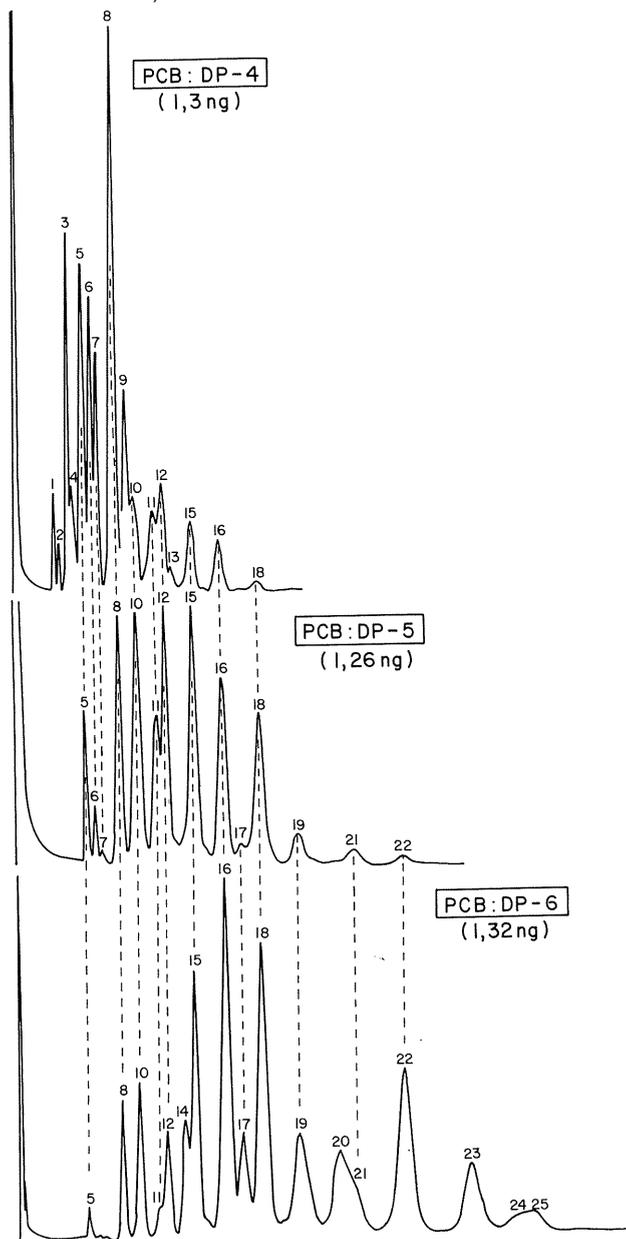


FIG. 1. — Analyse chromatographique sur colonne remplie (9 % OV-101 sur chromosorb W).

FIG. 1. — Chromatographic analysis on packed columns (9 % OV-101 on chromosorb W).

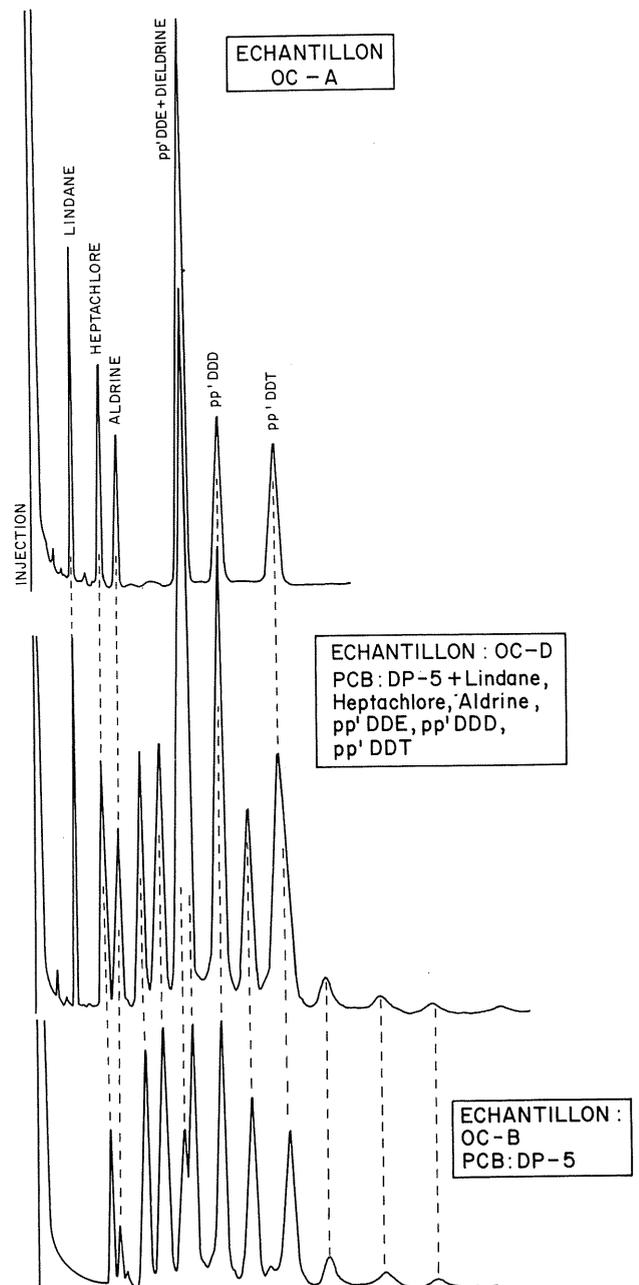


FIG. 2. — Analyse chromatographique sur colonne remplie (9 % OV-101 sur chromosorb W).

FIG. 2. — Chromatographic analysis on packed columns (9 % OV-101 on chromosorb W).

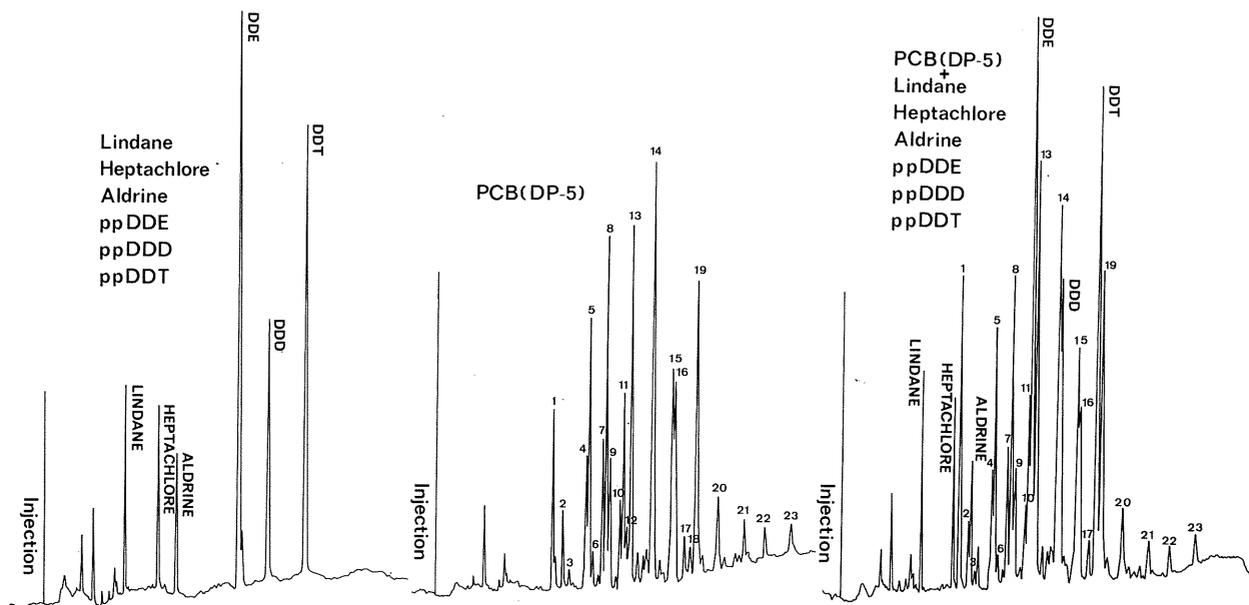


FIG. 3. — Analyse chromatographique sur colonne capillaire WCOT (SE-30).
 FIG. 3. — Chromatographic analyses on SE-30 WCOT glass capillary column.

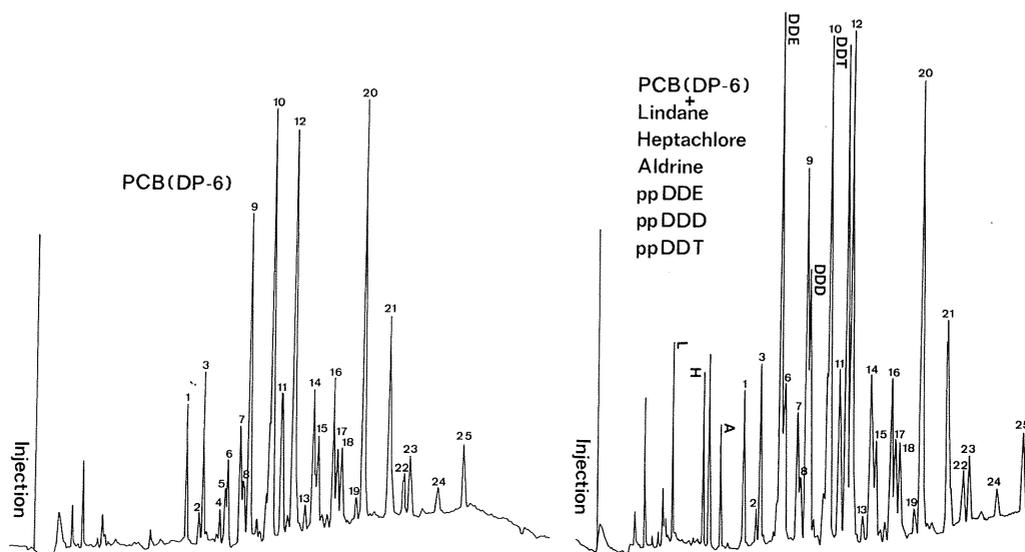


FIG. 4. — Analyse chromatographique sur colonne capillaire WCOT (SE-30).
 FIG. 4. — Chromatographic analyses on SE-30 WCOT glass capillary column.

figure 4 : profil PCB, type DP-6, mélange du PCB (DP-6) et des insecticides chlorés.

L'identification des PCB sur colonne capillaire fait apparaître 23 à 28 pics chromatographiques principaux. Les exemples de chromatogrammes présentés montrent que le pouvoir de séparation des colonnes capillaires permet d'identifier le DDT et ses deux principaux métabolites (DDD, DDE) en présence de PCB (DP-5 ou DP-6). Le pouvoir de résolution est donné par le nombre de plateaux

théoriques. Dans nos conditions opératoires, il est de 3 000 pour la colonne classique et de 50 000 pour la colonne capillaire.

Les chromatogrammes obtenus (fig. 3 et 4) permettent de différencier les deux types de profils de PCB (DP-5 et DP-6) fréquemment rencontrés dans l'environnement. L'analyse quantitative des insecticides chlorés identifiés est réalisée en considérant la hauteur de leurs pics chromatographiques caractéristiques. Pour ce qui concerne les PCB, nous prenons en compte la somme des hauteurs de 5 pics chroma-

tographiques principaux ; profil DP-5 : pics 5 + 8 + 13 + 14 + 19 ; profil DP-6 : pics 9 + 10 + 12 + 20 + 21.

CONCLUSION

En conclusion, l'apport des colonnes capillaires en chromatographie en phase gazeuse, pour l'identification des résidus organochlorés, semble être une étape importante dans le développement méthodologique pour l'analyse des microquantités. Un certain nombre de difficultés subsiste à l'issue de cette première expérience : chromatographe mal adapté nécessitant des montages appropriés, préparation longue et relative fragilité des colonnes, etc. Néanmoins, nous disposons à présent d'un outil analytique très performant pour l'identification et le dosage des résidus organochlorés à haut poids moléculaire dans l'environnement marin.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] SCHULTE (E.), ACKER (L.). — Gas-chromatographic mit Glascapillaren bei Temperaturen bis zu 320 °C und ihre Anwendung zur trennung von Polychlorobiphenylen. *Z. Anal. Chem.*, 1974, 268, 260.
- [2] ONUSKA (F. I.), COMBA (M.). — Identification and quantitative analysis of polychlorinated biphenyls on WCOT glass capillary columns. In : « Hydrocarbons and halogenated hydrocarbons in the aquatic environment ». (B. K. AFGHAN & D. MACKAY, édit.), *Plenum Press*, New York, 1980, p. 285-302.
- [3] BERTHOU (F.). — Problèmes soulevés lors de l'utilisation de la chromatographie en phase gazeuse sur colonnes capillaires de verre dans les laboratoires de biologie. *Spectra 2000*, 1976, 30, 16.
- [4] BERTHOU (F.). — Chromatographie en phase gazeuse haute résolution sur colonnes capillaires de verre. Université de Bretagne Occidentale, Laboratoire de Biochimie, Faculté de Médecine, 29283 Brest (France), 1977.
- [5] PREVOT (A. F.), MORDRET (F. X.). — Utilisation des colonnes capillaires de verre pour l'analyse des corps gras par chromatographie en phase gazeuse. *Rev. Franc. Corps Gras*, 1976, 23, 409-23.