

PAYS-BAS

Document de travail sur la vérification de la présence d'agents neurotoxiques,
de produits de leur décomposition ou de leurs précurseurs
en aval des usines de produits chimiques

1. INTRODUCTION

1.1 Une méthode discrète pour vérifier une interdiction de la fabrication
d'agents neurotoxiques

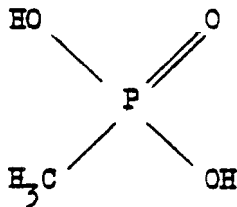
L'un des rôles d'un système de vérification efficace pour une interdiction de la mise au point, de la fabrication et du stockage des armes chimiques est de dissuader de fabriquer des armes chimiques, en particulier les très redoutables agents neurotoxiques. Pour réaliser une dissuasion appropriée, il faut disposer de procédures capables d'assurer une probabilité de détection suffisante à l'endroit d'une fabrication clandestine d'agents neurotoxiques. D'autre part, il faut toujours s'efforcer de trouver des méthodes de vérification aussi discrètes que possible.

A titre de contribution à une solution partielle des problèmes en cause, on décrira ci-après une méthode de haute sensibilité que l'on peut utiliser pour analyser des eaux usées en aval des usines de produits chimiques et les comparer à un échantillon prélevé en amont, afin d'y détecter la présence d'agents neurotoxiques, de produits de leur décomposition ou de leurs précurseurs. Les opérations d'analyse peuvent être effectuées dans tout laboratoire équipé d'un chromatographe à gaz et la sensibilité de la méthode est suffisante pour obtenir une indication positive même après une épuration très poussée de l'eau.

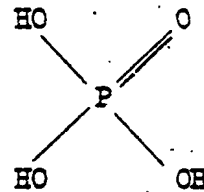
Les résultats obtenus permettent de conclure que la procédure décrite fournit, pratiquement sans ambiguïté aucune, une réponse très simple, par oui ou par non, à la question de savoir si des agents neurotoxiques, des produits de leur décomposition ou des précurseurs de ces agents sont présents ou non. Après une détection positive - qui n'aurait d'autre effet que d'éveiller des soupçons à l'égard de l'usine considérée - on pourrait visiter l'usine pour déterminer l'identité du produit fabriqué.

1.2 Principe de la méthode

Les agents neurotoxiques sont des composés organophosphorés structurellement apparentés aux pesticides. En général, les deux types de composés peuvent être fabriqués dans des usines similaires. Toutefois, les deux types présentent une importante différence de structure. La plupart des agents neurotoxiques sont apparentés à l'acide méthylphosphonique (I), cependant que la majorité des pesticides disponibles dans le commerce, à l'exception de quelques produits se rattachant à (I) et qui en sont d'ailleurs le plus souvent au stade expérimental, ont une structure fondée sur l'acide phosphorique (II)^{3-5/}.



I

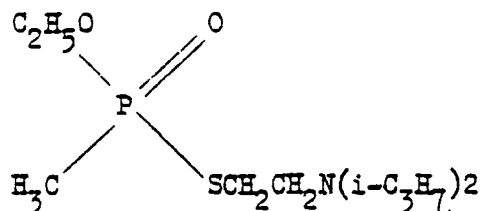


II

La délégation japonaise à la Conférence du Comité du désarmement a appelé l'attention sur le fait que la liaison phosphore-carbone subsiste lorsque la décomposition n'est pas très poussée. En outre, la chromatographie en phase gazeuse, associée à une détection spécifique, a été citée comme représentant une méthode appropriée pour détecter des composés organophosphorés en très faibles concentrations^{6/}.

Une procédure de vérification fondée sur les considérations susmentionnées est exposée dans le présent rapport. Comme modèles d'eaux usées fortement diluées en aval d'usines de produits chimiques, on s'est servi d'échantillons prélevés dans le Rhin et dans la Meuse, qui sont l'un et l'autre considérés comme étant des fleuves lourdement pollués. La procédure en question constitue une méthode qui n'est

guère indiscret. En guise de représentant de la catégorie des agents neurotoxiques, on s'est servi du méthyl thiophosphonate de O-éthyle et de S-(diisopropylamino éthyle) (VX).



Après une discussion des travaux relatifs aux divers aspects de la procédure dans le chapitre 2, la procédure finale est décrite dans le chapitre 3. Le chapitre 4 contient quelques résultats obtenus en appliquant la procédure de vérification finale à des échantillons d'eau du Rhin et de la Meuse. Le rapport se termine dans le chapitre 5 par l'indication de quelques orientations pour de futurs travaux.

2. EVALUATION DE LA PROCEDURE DE VERIFICATION

2.1 Matériaux

Des échantillons d'eau du Rhin ont été prélevés dans le Iek, à Bergambacht, et ils ont été analysés par le Service hydrologique des Dunes à La Haye. L'eau de la Meuse a été prélevée à Keizersveer et analysée par le Service de l'eau potable de Rotterdam. Les échantillons étaient stockés dans une chambre froide. Les analyses chimiques des échantillons d'eau sont reproduites dans le tableau 1.

| Tableau 1 | | | | | | | | |
|--|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|-------------|--|
| Analyses chimiques d'échantillons d'eau du Rhin et de la Meuse | | | | | | | | |
| Composants | Rhin | | | | | | Meuse | |
| | 12-12-'73 | 12-8-'74 | 20-11-'74 | 8-1-'75 | 25-8-'75 | 3-3-'76 | 23-2-'76 | |
| Chlorure (mg/l) | 230 | 175 | 168 | 83 | 140 | 196 | 37 | |
| Sulfate " | 89 | 86 | 65 | 59 | 70 | 94 | 54 | |
| Bicarbonate " | 140 | 146 | 156 | 146 | 149 | 193 | 134 | |
| Nitrate " | 11,5 | 10,8 | 12,2 | 14,0 | 12,7 | 17,6 | 17,0 | |
| Azote Kjeldahl " | 4,4 | 1,7 | 2,2 | 1,5 | 1,0 | 2,6 | 1,9 | |
| Orthophosphate non filtré " | 0,62 1,95 | 0,55 1,27 | 0,75 1,70 | 0,41 1,10 | 0,98 1,61 | 0,97 1,92 | 0,73 1,4 | |
| Carbone organique total " | 6,2 | 7,8 | 5,9 | 8,0 | 5,5 | 8,2 | 6,9 | |
| Limons " | 64 | 10 | 19 | 46 | 33 | 23 | 26 | |
| Inhibition de la cholinestérase, en éq. Parathion (mg/l) | 0,17 | 0,25 | 0,24 | 0,04 | 0,08 | 0,13 | - | |
| pH | 7,55 | 7,60 | 7,50 | 7,65 | 7,70 | 7,50 | 7,6 | |
| Débit (m ³ /s) | 2572* | 1648* | 2870* | 3497* | 1964* | 1329* | 350** | |

* Lobith

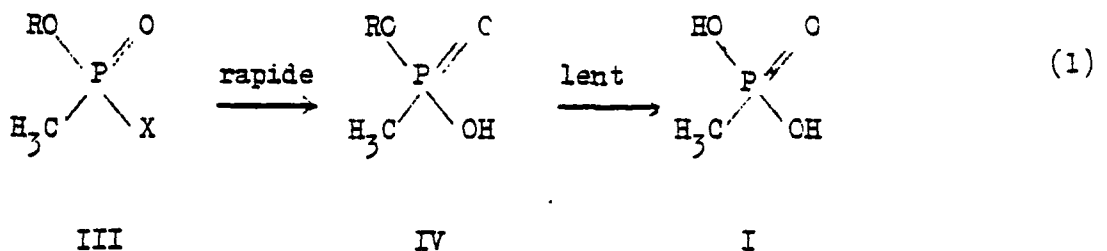
** Lith.

La verrerie utilisée était changée à chaque expérience afin de prévenir toute contamination du fait d'une expérience antérieure.

On a synthétisé dans ce laboratoire de l'acide méthylphosphonique marqué au ^{32}P (activité spécifique : 1 mCi/g) et du VX marqué au ^{32}P (activité spécifique : 20 mCi/g), ainsi que les composés non marqués correspondants. On a préparé du diazométhane, qui a été utilisé dans une solution d'éther éthylique^{2/}.

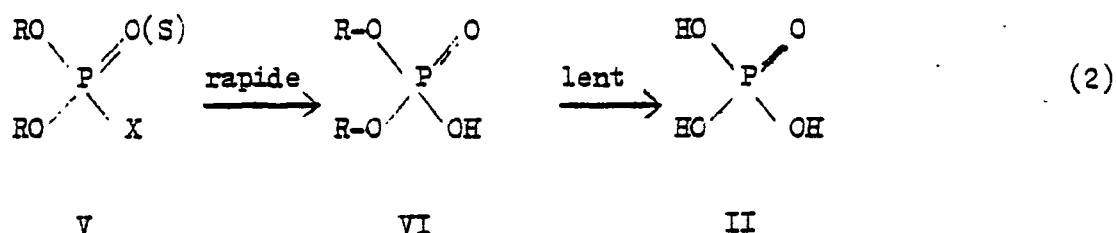
2.2 Hydrolyse

Comme indiqué dans le chapitre 1, la chromatographie en phase gazeuse, associée à une détection spécifique du phosphore, constitue une méthode appropriée pour déceler de très faibles concentrations d'agents neurotoxiques dans l'eau. Pour rendre le résultat de la chromatographie en phase gazeuse aussi simple que possible (section 2.6 il convient de procéder à une hydrolyse complète, après quoi la plupart des agents neurotoxiques phosphorés se présenteront sous la forme d'acide méthylphosphonique (équation 1), cependant que les pesticides organophosphorés donneront de l'acide phosphorique (équation 2).

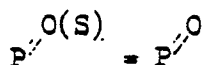


Exemple de III : VX, dans lequel $\text{R} = \text{C}_2\text{H}_5$ et $\text{X} = \text{SCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{i-C}_3\text{H}_7)_2$

Sarin, dans lequel $\text{R} = \text{i-C}_3\text{H}_7$ et $\text{X} = \text{F}$.



Exemple de V : Parathion, dans lequel $R = C_2H_5$, et $X = OC_6H_4NO_2-p$ et



Un milieu fortement acide est indispensable pour assurer une hydrolyse complète aussi bien des agents de guerre chimique que des pesticides dont les formules chimiques sont représentées dans les équations 1 et 2, respectivement. De plus, le processus de l'hydrolyse devrait s'effectuer en un laps de temps raisonnable. Pour déterminer les conditions optimales, on a réuni des données hydrolytiques pour un certain nombre de composés organophosphorés.

En plus de quelques valeurs de périodes hydrolytiques puisées dans la littérature scientifique, on a choisi plusieurs composés modèles aux fins de déterminer leurs vitesses d'hydrolyse. Les expériences ont été effectuées dans des ampoules de verre scellées d'une capacité de 1 ml, contenant un tampon de 0,5 ml de nitrate de sodium/acide citrique 0,05 M à pH = 3.

La concentration des divers composés modèles était de 0,02 M. Les ampoules étaient chauffées à 130°C dans un bain d'huile. Les valeurs des périodes hydrolytiques respectives étaient déterminées par une analyse quantitative du mélange soumis à réaction, en ayant recours à l'électrophorèse haute tension sur papier, à la chromatographie sur papier, à la chromatographie en phase gazeuse et à la spectroscopie ultraviolette^{8/}. Le tableau 2 contient des données hydrolytiques concernant un représentant de la catégorie des agents neurotoxiques (VK), quelques pesticides (Parathion, Disyston et DEVP) et des produits intermédiaires susceptibles d'apparaître en cours d'hydrolyse. Pour expliquer la présence de certains de ces produits intermédiaires, il convient de faire observer que lors de l'hydrolyse acide d'agents neurotoxiques (équation 1) et de pesticides (équation 2) jusqu'aux stades I et II respectivement, c'est l'hydrolyse des produits intermédiaires hydrogénométhylphosphonate d'alkyle (IV) et hydrogénophosphate de dialkyle (VI) qui est le facteur déterminateur de la vitesse de l'hydrolyse. C'est pourquoi on a inclus des données hydrolytiques pour ces composés.


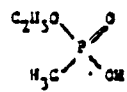
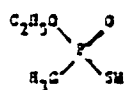
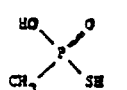
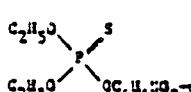
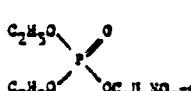
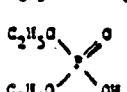
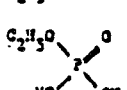
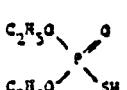
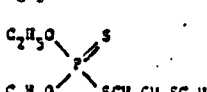
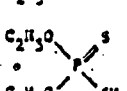
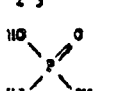
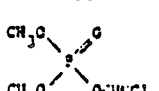
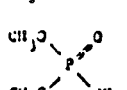
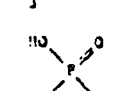
On sait que la vitesse d'hydrolyse des phosphates et des phosphonates dépend du pH. L'hydrolyse des dihydrogénophosphates d'alkyle^{9/} présente généralement une vitesse maximale avec pH = 4; les vitesses d'hydrolyse des hydrogénophosphates^{10/} et des hydrogénophosphonates^{11/} de dialkyle augmentent progressivement lorsque le pH diminue. Les thiophosphates^{12/} accusent une vitesse maximale pour pH = 3. A titre de solution transactionnelle et pour des raisons d'ordre pratique, on a choisi un pH = 3 pour toutes les expériences d'hydrolyse : des solutions acides en dessous de pH = 3 peuvent affecter les performances (c'est-à-dire la capacité) de la colonne échangeuse d'anions à la deuxième étape de la procédure (section 2.3).

Pour obtenir des vitesses d'hydrolyse mesurables au cours d'une période de quatre jours, on a choisi une température de 130°C.

Le tableau 2 montre que les agents neurotoxiques, les pesticides et les produits de leur décomposition s'hydrolysent jusqu'aux stades I et II, respectivement, en un temps raisonnable avec pH = 3 et une température de 130°C. Dans le processus final, la température a été portée à 160°C afin d'obtenir une hydrolyse complète d'esters organophosphorés en l'espace de 24 heures.

Tableau 2

Valeurs des périodes hydrolytiques de certains composés apparentés à des agents neurotoxiques et pesticides contenant du phosphore, à pH = 3

| Composé | Nom systématique ou trivial | Temp. d'hydrolyse (°C) | t _{1/2} (h) | réf. |
|--|--|------------------------|----------------------|------|
| 1  | VX | 130 | 0,24 | - |
| 2  | hydrogèneséthylphosphonate d'éthyle | 130 | 10 | - |
| 3  | aéthylthiophosphonate d'éthyle | 130 | 9,8 | - |
| 4  | acide aéthylthiophosphonique | 130 | 0,36 | - |
| 5  | parathion | 70 | 21 | 13 |
| 6  | paraoxon | 70 | 23* | 13 |
| 7  | hydrogénéphosphate de diéthyle | 130 | 82 | - |
| 8  | dihydrogénéphosphate d'éthyle | 130 | 1,42 | - |
| 9  | thiophosphate de diéthyle | 130 | 61 | - |
| 10  | disyston | 70 | 62* | 13 |
| 11  | dithiohydrogénéphosphate de O,O-diéthyle | 130 | 0,97 | - |
| 12  | acide thiophosphorique | 52,8 | 1,2 | 14 |
| 13  | ODVP | 70 | 3,4* | 13 |
| 14  | hydrogénéphosphate de diméthyle | 100 | 110 | 15 |
| 15  | dihydrogénéphosphate de aéthyle | 100 | 0,25 | 9 |

*/ Valeur se rapportant au premier groupe partant.

2.3 Isolation et concentration

Après l'hydrolyse, on fait passer les échantillons d'eau du Rhin et de la Meuse à travers des papiers en fibre de verre pour éliminer les particules solides (limon), avant l'utilisation de la colonne échangeuse d'anions. Cela permet de réutiliser la résine en recourant à un processus de régénération* et exclut une éventuelle perturbation dans l'écoulement de l'échantillon à travers la colonne. L'adsorption de I sur les particules solides dans les échantillons provenant d'eau fluviale est négligeable, comme cela a été déterminé à l'aide de I marqué au ^{32}P . Après passage à travers le papier filtre, on a récupéré dans l'éluat des quantités de I de l'ordre du ng.

Une résine échangeuse d'anions puissante [type $\phi\text{-N}(\text{CH}_3)_3^+$] est utilisée pour adsorber l'anion méthylphosphonate des échantillons d'eau hydrolysés. Il se produit une adsorption simultanée d'autres anions, par exemple, de chlorure, de sulfate et de phosphate, généralement présents en excès si l'on compare avec la quantité de composés I. Le ion bicarbonate et d'autres anions d'acides faibles ne sont pas adsorbés. On utilise une capacité d'adsorption dans la colonne échangeuse d'anions deux à trois fois excédentaire, qui est fondée sur la quantité moyenne (3,5 meq.) d'anions présente dans 0,5 litre d'eau du Rhin en plus du ion méthylphosphonate et sur la quantité ajoutée (environ 3 meq.) d'acide chlorhydrique utilisée pour régler le pH à 3. Les premières expériences ont été effectuées avec de la résine échangeuse d'anions Amberlite IRA-400, sous forme chlorure (Cl^\ominus), que l'on trouve dans le commerce. Sur une colonne remplie de cette résine, une quantité de 0,1 meq. de l'anion méthylphosphonate a été adsorbée incomplètement par un litre de l'échantillon d'eau. De 50 à 60 % de la quantité de I ajoutée n'ont pas été retenus sur la colonne. On a obtenu une adsorption quantitative de I en convertissant la résine en sa forme formiate (HCOO^\ominus). Par la suite, on a utilisé une résine disponible dans le commerce, du type BIO-RAD AG 1-X8 HCOO^\ominus . A l'aide d'une courbe de percée et avec 0,5 litre d'échantillon contenant 815 mg de chlorure ou 1 200 mg de sulfate et 225 μg de I marqué au ^{32}P , on a observé que, pendant l'isolation, I progressait dans la colonne sous la forme d'une bande étroite devant les ions chlorure et sulfate. Le composé I n'était élué de la colonne que lorsque le contenu anionique de l'échantillon d'eau dépassait la capacité d'échange d'anions de la colonne.

*/ Selon BIO-RAD : (première étape) $\text{résine-Cl}^\ominus + \text{NaOH} \longrightarrow \text{résine-OH}^\ominus$;
(seconde étape) : $\text{résine-OH}^\ominus + \text{acide formique} \longrightarrow \text{résine-formiate}$.

Après le passage de l'échantillon d'eau, on lave la résine au méthanol pour éliminer l'eau interstitielle ainsi que certains composés neutres et basiques présents dans l'échantillon d'eau initial. Il importe que la solution d'acide chlorhydrique et de méthanol, qui est utilisée ensuite pour éluer l'anion méthylphosphonate, soit sèche, car l'évaporation ultérieure de cette solution en présence d'eau entraîne de fortes pertes du composé I.

La récupération du composé I après évaporation était de l'ordre de 75 à 100 % comme des expériences avec du I marqué au ^{32}P ont permis de le vérifier.

2.4 Conversion en un dérivé

Le composé I lui-même ne peut être soumis à une chromatographie en phase gazeuse, mais doit être converti en un dérivé volatil pour permettre une détection et une séparation précises par chromatographie en phase gazeuse. Le composé a été transformé en méthylphosphonate de diméthyle à l'aide de diazométhane dans une solution d'éther éthylique^{7/}. Le rendement de l'estérification a été très proche du maximum (95 %), selon une détermination faite par chromatographie en phase gazeuse (chapitre 3). D'autres acides tels que de l'acide phosphorique et de l'acide sulfurique sont méthylés simultanément. Ces acides peuvent être présents dans l'éluat de la colonne échangeuse d'ions qui provient de l'échantillon d'eau initial et est capté par la résine, tout comme le composé I.

2.5 Purification

Cette partie de la procédure complète de vérification a été adoptée pour obtenir une analyse satisfaisante par chromatographie en phase gazeuse du méthylphosphonate de diméthyle (voir section 2.6).

L'éther et le méthanol sont éliminés de l'échantillon estérifié (section 2.4) par ébullition avec reflux dans une colonne Vigreux jusqu'à l'obtention d'un volume résiduel de 3 à 4 ml. Cette étape de concentration a été vérifiée par un certain nombre d'expériences avec des mélanges contenant 10 ml de benzène, 10 ml d'éther, 1 ml de méthanol et 3 µg de méthylphosphonate de diméthyle. Une analyse par chromatographie en phase gazeuse a permis de constater que la récupération du phosphonate était de l'ordre de 90 à 100 %.

La procédure qui consiste à utiliser une petite colonne de gel de silice (voir réf. 16) permet d'éliminer la plus grande partie du phosphate de triméthyle et du sulfate de diméthyle de la solution échantillon méthyliée. On trouvera au chapitre 4 des détails sur les interférences du sulfate de diméthyle en chromatographie en phase gazeuse. La colonne de gel de silice est soumise à une élution effectuée successivement avec du benzène, de l'acétate d'éthyle et du méthanol. On a observé que la fraction benzénique contenait principalement du sulfate de diméthyle, la fraction acétate d'éthyle du phosphate de triméthyle et le premier ml de la fraction méthanolique environ 80 % de la quantité de méthylphosphonate de diméthyle ajoutée.

2.6 Analyse par chromatographie en phase gazeuse

En ce qui concerne la séparation du méthylphosphonate de diméthyle et du phosphate de triméthyle, on a évalué les performances (par exemple, la résolution et la symétrie des pics) d'un certain nombre de phases stationnaires différentes telles que SE-30, QF-1, FFAP, OV-225, DEGS et Triton K-305. Cette dernière s'est révélée être la meilleure.

On a constaté que la température optimale de la colonne se situait entre 140 et 150°C. En raison de l'entraînement plus rapide de la phase stationnaire de la colonne à des températures plus élevées, le temps d'emploi de la colonne diminuait fortement, alors que se produisait une augmentation du bruit et de la contamination du détecteur.

Pour l'estérification de l'acide méthylphosphonique et de l'acide phosphorique, on peut utiliser d'autres diazoalkanes que le diazométhane. La résolution des phosphates trialkyliques et des méthylphosphonates dialkyls résultants peut s'exprimer par l'équation suivante :

$$R_s = 2 \frac{t_r (\text{phosphate trialkylique}) - t_r (\text{méthylphosphonate dialkylique})}{y (\text{phosphate trialkylique}) + y (\text{méthylphosphonate dialkylique})}, \quad (3)$$

dans laquelle R_s représente la résolution, t_r le temps de rétention, et y la largeur de la base du pic. Les résultats ainsi que le temps de rétention relatif au méthylphosphonate de diméthyle sont indiqués dans le tableau 3.

Tableau 3

Résolution et temps de rétention relatifs au méthylphosphonate de diméthyle^{*/}
pour un certain nombre de méthylphosphonates et de phosphates

| $(RO)_2P(O)CH_3$ R = | Rétention relative | $(RO)_3P(O)$ R = | Rétention relative | Résolution |
|-------------------------|-----------------------|---------------------|-----------------------|------------|
| CH_3 | 1,00 | CH_3 | 1,33 | 2,1 |
| C_2H_5 | 1,29 | C_2H_5 | 2,07 | 4,0 |
| $n-C_3H_7$ | 2,57 | $n-C_3H_7$ | 5,55 | 4,1 |
| $i-C_3H_7$ | 1,09 ^{**/} | $i-C_3H_7$ | 1,58 | 2,8 |

^{*/} Temps de rétention : 200 s; température de la colonne : 140°C; pour les autres conditions de la chromatographie en phase gazeuse, voir chapitre 3.

^{**/} Pic dissymétrique.

On pourrait conclure, à la lecture des résultats indiqués au tableau 3, qu'il est souhaitable de préparer des esters éthyliques ou des esters n-propyliques au lieu d'esters méthyliques. Néanmoins, il y a lieu de donner la préférence aux esters méthyliques pour les raisons suivantes :

- a) le méthylphosphonate de diméthyle s'avère deux fois plus sensible à la détection que le méthylphosphonate de diéthyle et le méthylphosphonate de dipropyle;
- b) l'emploi d'esters éthyliques ou d'esters n-propyliques fait respectivement doubler ou quadrupler la durée de l'analyse par comparaison avec celle qui est nécessaire lorsqu'on fait appel aux esters méthyliques;
- c) le méthanol est utilisé comme principal composant de l'éluant pour la désorption de l'acide méthylphosphonique présent dans la colonne d'échangeuse d'anions; en pareil cas, il est recommandé d'employer du diazométhane. ^{17/}

Le choix s'est porté sur le détecteur thermo-ionique, en raison de la spécificité de celui-ci pour les composés organophosphorés. On a constaté que la moyenne de la plus faible quantité détectable de méthylphosphonate de diméthyle était de 0,23 ng (plage de 0,15 à 0,30 ng) et le volume maximal d'injection de 5 µl. Un volume de solvant plus important provoquait une extinction de la flamme du détecteur.

Selon Kovats le méthylphosphonate de diméthyle peut être identifié au moyen de son indice de rétention^{18/}. L'indice est de 1427 lorsqu'il est déterminé à 170°C, avec du Triton X-305 comme phase stationnaire. Dans ces conditions, le phosphate de triméthyle, qui sera également détecté, a un indice de rétention de 1483.

Pour prouver sans ambiguïté que le pic attribué au méthylphosphonate de diméthyle n'était pas dû à la présence d'un composé non phosphoré en concentration relativement élevée, on a utilisé un détecteur thermo-ionique en association avec un détecteur à ionisation de flamme. Dans le cas d'un composé non phosphoré, ce dernier détecteur aura une réponse relativement forte.

3. DESCRIPTION DE LA PROCEDURE DE VERIFICATION

La méthode suivante a été choisie d'après les résultats décrits dans le chapitre précédent pour vérifier la présence d'agents neurotoxiques ou des produits de leur décomposition dans les eaux usées.

Hydrolyse : L'hydrolyse est effectuée dans des tubes de Carius scellés de 750 ml contenant des échantillons d'eau de 500 ml dont le pH a été réglé à 3 à l'aide d'acide chlorhydrique à 0,5 N. Les tubes sont chauffés à 160°C dans un bain d'huile pendant 24 heures.

Isolation et concentration : Après filtration à travers un papier en fibre de verre (Whatman, GF/A), l'échantillon hydrolysé passe à travers une colonne échangeuse d'anions (longueur : 20 cm; diamètre intérieur : 11 mm) munie d'une garniture de AG 1-X8 (forme formiate BIO-RAD), à un débit de 1-2 ml/mn. Après le passage de l'échantillon, la colonne est lavée avec 30 ml de méthanol.

L'acide méthylphosphonique et les autres acides adsorbés sur la résine sont élués par 20 ml de méthanol acidifié (par de l'acide chlorhydrique gazeux jusqu'à 3N) sous un débit de 0,5-1 ml/mn. L'éluat, recueilli dans un flacon péristylique (fig.1), et placé dans un bain d'eau maintenu à 50°C, est concentré jusqu'à un volume inférieur à 1 ml par évaporation à l'aide d'un courant d'air léger.

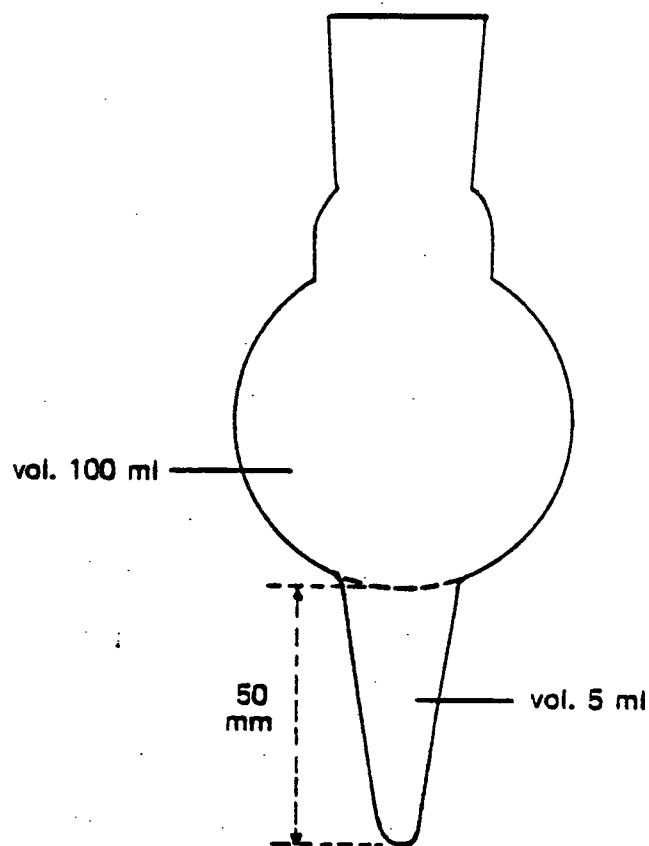


Figure 1. Flacon péristylique pour la concentration de l'éluat de la colonne.

Conversion en un dérivé : On ajoute au résidu de l'éluat une solution de diazométhane (obtenu à partir du N-méthyl N-nitroso p-toluènesulfonamide et de l'hydroxyde de potassium^{7/}) dans de l'éther jusqu'à la persistance d'une coloration jaune. On laisse le mélange reposer pendant 15 à 20 minutes. L'excédent de diazométhane est enlevé à l'aide de quelques gouttelettes d'acide acétique.

Procédure de purification : Après l'addition de 10 ml de benzène, la solution méthylée est concentrée par ébullition avec reflux dans une colonne Vigreux (longueur : 19 cm, diamètre intérieur : 11 mm) jusqu'à un volume résiduel de 3 à 4 ml. Pour éviter les chocs du liquide en ébullition on utilise un dispositif consistant en une tige de verre courbée en U^V. Pendant l'ébullition, la partie piriforme du flacon de réaction (fig. 1) est immergée dans un bain d'huile dont la température est progressivement portée, en 45 minutes, de celle de l'air ambiant à 160°C.

Après avoir été préalablement chauffé pendant 48 heures à 135°C, le gel de silice est partiellement désactivé par agitation en présence de 3 % de son poids d'eau distillée. Après 4 heures, le gel est prêt à l'emploi. Dans une colonne (longueur : 19 cm, diamètre intérieur : 8 mm) obturée avec de la laine de verre, on ajoute 1 g de gel de silice, puis 2 g de sulfate de sodium anhydre^{16/}. La colonne est prélavée avec 10 ml d'hexane. La solution échantillon est transférée à la colonne contenant le gel de silice, qui est rincée successivement avec 16 ml de benzène, 24 ml d'acétate d'éthyle et 8 ml de méthanol, sous un débit de 0,2-0,4 ml/mn. Les éluats de benzène, d'acétate d'éthyle et le ml de méthanol initial sont recueillis séparément. La fraction méthanolique est mise de côté pour emploi ultérieur.

Chromatographie en phase gazeuse : Les analyses par chromatographie en phase gazeuse sont effectuées dans un chromatographe à gaz Becker, type 409, équipé d'un détecteur thermo-ionique (TID), type 712. La colonne spiralée de verre (longueur : 2 m, diamètre intérieur : 1,5 mm) est garnie d'un tissu à mailles 80-100 en Chromosorb W-AW/DMCS revêtu de Triton X-305 (25 % en poids), après tamisage dans la gamme granulométrique de 149-177 µm. La colonne, l'injecteur et le détecteur sont maintenus à 150°C, 200°C et 200°C respectivement. Les débits gazeux sont de 40 ml/mn pour l'azote de 65 ml/mn pour l'hydrogène et de 250 ml/mn pour l'air. Par suite de la présence d'une dérivation à l'extrémité de la colonne [rapport 3 : 1], 20 ml d'azote par minute seulement parviennent au détecteur TID. Le reste est envoyé dans un détecteur à ionisation de flamme. Le volume maximal de l'échantillon qui peut être injecté est de 5 µl. Les mesures quantitatives sont obtenues à l'aide d'échantillons témoins de concentration comparable.

4. APPLICATION ET DISCUSSION

Après sa mise au point, la procédure de vérification complète a été contrôlée en ajoutant des quantités variables (0,1 µg - 1 mg) de VX à 1 litre d'eau déminéralisée et d'eau du Rhin.

En utilisant le méthylphosphonate de diméthyle la récupération moyenne dans l'eau déminéralisée a été de 73 ± 11 %. La partie purification de la procédure a été omise dans ce cas. On a trouvé d'importantes concentrations d'acide phosphorique (environ 0,2 mg/l), qui ont été détectées par chromatographie en phase gazeuse à l'aide de phosphate de triméthyle. L'acide phosphorique se détache probablement des parois des récipients en verre pendant l'hydrolyse.

On a analysé d'une manière similaire des échantillons obtenus après addition d'une quantité relativement élevée (1 mg) de VX à 1 litre d'eau du Rhin. La purification de l'échantillon avant l'analyse par chromatographie en phase gazeuse s'est avérée superflue parce qu'aucune matière gênante n'était présente à ce niveau de concentration et parce que la chromatographie en phase gazeuse permettait d'isoler d'une manière suffisante des quantités comparables de méthylphosphonate de diméthyle et de phosphate de triméthyle. En utilisant le méthylphosphonate de diméthyle, on a obtenu une récupération de 78 ± 10 % (n = 6).

Dans la procédure d'analyse consistant à ajouter de petites quantités de VX (0,1 - 1 µg) à 1 litre d'eau du Rhin, il a fallu recourir à la purification en raison d'interférences dans l'analyse par chromatographie en phase gazeuse. Tout d'abord, l'isolation de petites quantités de méthylphosphonate de diméthyle à partir d'un excédent 1 000 fois supérieur de phosphate de triméthyle s'est avérée insuffisante à cause du chevauchement des pics. En outre, le sulfate de diméthyle gênait considérablement la détection du méthylphosphonate de diméthyle. Selon le débit d'hydrogène, le détecteur termo-ionique a donné des pics négatifs ou positifs pour le sulfate de diméthyle; ce qui a influencé la réponse en ce qui concerne le méthylphosphonate de diméthyle à cause du chevauchement des pics. Le sulfate de diméthyle a été identifié en combinant la chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse (type JEOL JMS-01-SG). Il est très probable qu'il se forme par méthylation de l'acide sulfurique présent dans les échantillons d'eau du Rhin (niveau de concentration du sulfate : voisin de 80 mg/l).

Les interférences dues au phosphate de triméthyle et au sulfate de diméthyle excédentaires pourraient être éliminées en purifiant l'échantillon méthylé avant l'analyse par chromatographie en phase gazeuse. Il s'est révélé possible, en procédant ainsi, d'analyser des concentrations de VX ajoutées à des échantillons d'eau du Rhin descendant jusqu'à des valeurs aussi faibles que 250 ng/l. L'emploi du méthylphosphonate de diméthyle a donné une récupération de 80-90 % dans des échantillons d'eau du Rhin prélevés le 25 août 1975.

Ces récupérations ont été corrigées pour tenir compte d'une certaine quantité de méthylphosphonate de diméthyle (0,7 - 0,8 ng/litre) détectée dans les mêmes échantillons d'eau du Rhin auxquels on n'avait pas ajouté de VX. L'identité de ce composé a été confirmée par une fragmentographie de masse effectuée sur un chromatographe à gaz - spectromètre de masse quadripole Finnigan type 3100-003D. Le pic a été examiné pour trois valeurs caractéristiques de m/e : 79, 94 et 109, qui correspondent à $(\text{CH}_3\text{O})\text{P}(\text{O})\text{H}^+$, à $(\text{CH}_3\text{O})\text{P}(\text{O})\text{H}(\text{CH}_3)^+$ et à $(\text{CH}_3)_2\text{P}(\text{O})^+$. Le rapport d'intensité des pics était de 6:4,4:1, ce qui équivaut au résultat obtenu avec un échantillon témoin de méthylphosphonate de diméthyle. En raison de la quantité réduite du matériau, l'intensité de l'ion moléculaire était trop faible pour pouvoir être examinée.

Ultérieurement, le 3 mars 1976, on a décelé le même composé, dans des échantillons d'eau du Rhin (conc. 760 ng/litre) et, le 23 février 1976, dans un échantillon d'eau de la Meuse (180 ng/litre). Manifestement, la présence d'un composé contenant un groupe PCH_3 dans sa molécule était due à une ou plusieurs sources d'émissions dans les deux fleuves ou dans leur voisinage. La littérature scientifique ne fournit aucune indication à l'effet que des composés de ce genre existeraient dans la nature. On sait que plusieurs insecticides contenant une liaison phosphore-carbone sont disponibles dans le commerce, par exemple, le Dyfonate (éthyl dithiophosphonate de O-éthyle et de S-phényle). La procédure d'analyse décrite fera apparaître de l'éthylphosphonate de diméthyle. En raison de son indice de rétention (1468), ce composé ne gênera pas l'analyse

chromatographique en phase gazeuse du méthylphosphonate de diméthyle (indice de rétention : 1427; voir section 2.6). Toutefois, le Mécaphon^{5/} qui, à notre connaissance, est le seul pesticide disponible dans le commerce qui contienne un groupe PCH_3 , fournira du méthylphosphonate de diméthyle lors de l'application de la procédure d'analyse et gênera donc le processus de la vérification.

Ainsi qu'il est dit dans la section 2.6, la plus faible quantité moyenne de méthylphosphonate de diméthyle décelable par la chromatographie en phase gazeuse est 0,23 ng de méthylphosphonate de diméthyle ou 250 ng de VX par litre d'eau, y compris une correction pour tenir compte d'une récupération moyenne de 80 % et d'un volume initial d'échantillon d'eau de 0,5 litre, concentré ensuite jusqu'à un volume de 1 ml. Cela signifie que si une usine déverse en 24 heures, dans un cours d'eau ayant un débit de 250 m³/s au moins 5 kg de VX ou une quantité équivalente de produits de sa décomposition ou de ses précurseurs, ce déversement sera détecté. Un examen de la technologie avancée de traitement des eaux usées a montré que des processus d'adsorption du carbone seraient en mesure de réduire une concentration de 1 mg/litre d'insecticides phosphorés dans un cours d'eau charriant des rejets à moins de 1 ng/litre^{4/}. Cette dernière concentration se situe nettement au-dessus de la limite de détection de la procédure décrite.

Etant donné que la présence éventuelle de composés contenant un groupe PCH_3 pourrait provenir d'une cause naturelle ou industrielle, il faudra analyser, en plus d'un échantillon prélevé en aval de l'usine de produits chimiques un échantillon témoin prélevé en amont de celle-ci.

5. TRAVAUX FUTURS

Il faut procéder à de nouvelles recherches pour se familiariser avec la présence d'origine naturelle ou industrielle de composés qui fournissent du méthylphosphonate de diméthyle lorsqu'ils sont soumis à la procédure décrite.

Des expériences seront effectuées pour étudier les possibilités d'appliquer la procédure dans le cas de systèmes d'agents neurotoxiques binaires, où l'agent neurotoxique se forme par mélange de deux composés pendant la livraison au but du projectile.

Bibliographie

1. Possible Techniques for Inspection of Production of Organophosphorus Compounds, SIPRI Symposium Report, ed. S.J. Lundin, Stockholm, 1971.
2. Ooms A.J.J. and Boter H.L., Pugwash Conference, London, April 1976.
3. Memm J.J., Pesticide Terminal Residues, IUPAC Symposium Tel-Aviv, ed. A.S. Tahori. Butterworths, London, 1971, p. 57.
4. Meiners A.F. and Wiegand C.J.W., Factors affecting the verification of chemical warfare production and the impact of current technology on chemical warfare inspection indicators, Midwest (US) Research Institute, Vol. I and II, 1973.
5. Mecarphon, $(\text{CH}_3\text{O})\text{CH}_2\text{P}(\text{S})\text{SCH}_2\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{CH}_3)\text{COOCH}_3$ reported in Pesticide Manual, eds. H. Martin and C.R. Worthing, 4th Edn. British Crop. Protection Council, 1974, p. 329.
6. Document de travail (CCD/301) présenté par le Japon à la Conférence du Comité du désarmement, 6 août 1970.
7. Vogel A.I., Practical Organic Chemistry, Longmans Green and Co.Ltd., London, Toronto, New York 1970, 3rd ed.
8. Reuland-Meereboer M.A.C., CL essay 75 R 89.
9. Kugel L. and Halmann M., J. Org. Chem., 32 (1967) 642.
10. Bunton C.A., Mhala M.M., Oldham K.G. and Vernon C.A., J. Chem. Soc., 1960, 3293.
11. Cherbuliez E., Hunkeler F. and Robinowitz J., Helv. Chim. Acta, 44 (1961) 1817.
12. Dittmer D.C., Ramsey O.B. and Spalding R.E., J. Org. Chem., 28 (1963) 1273.
13. Mühlmann R. and Schrader G., Z. Naturforschg., 126 (1957) 196.
14. Dittmer D.C. and Ramsey O.B., J. Org. Chem., 28 (1963) 1268.
15. Bunton C.A., Llewellyn D.R., Oldham K.G. and Vernon C.A., J. Chem. Soc., 1958, 357
16. Shafik M.T., Bradway D. and Enos H.F., J. Agr. Food Chem., 19 (1971) 885.
17. Shafik M.T., Bradway D. and Enos H.F., Bull. Env. Cont. and Tox., 6 (1971) 55.
18. Kováts E. sz., Advances in Chromatography, Marcel Dekker, Inc. New York 1965, Vol. I, p. 229

DOCUMENT IDENTIQUE A L'ORIGINAL

DOCUMENT IDENTICAL TO THE ORIGINAL