



## AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : [ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr](mailto:ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr)

## LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

[http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg\\_droi.php](http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php)

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

**THESE**

Présentée devant l'Université de METZ  
pour obtenir le Diplôme de Doctorat d'Université  
Spécialité : Toxicologie (N° D'ordre : 22)

par

**Jean-Pierre FLAMBEAU**

soutenue le 12 Octobre 1990

**ESSAI DE BIOTRANSFORMATION  
DU CARBAZOLE**

**Annexes**

Membres du Jury : J.C. Block, Président  
J. Le Petit, Rapporteur  
P. Vasseur, Rapporteur  
D. Cagnant  
J.M. Ziegler  
M. Delavarenne

**THESE**

Présentée devant l'Université de METZ  
pour obtenir le Diplôme de Doctorat d'Université  
Spécialité : Toxicologie (N° D'ordre : 22)

par

**Jean-Pierre FLAMBEAU**

soutenue le 12 Octobre 1990

**ESSAI DE BIOTRANSFORMATION  
DU CARBAZOLE****Annexes**

BIBLIOTHEQUE UNIVERSITAIRE - METZ	
N° inv.	19900365
Cote	SM3 90/16
Loc	Magasin

Membres du Jury : J.C. Block, Président  
J. Le Petit, Rapporteur  
P. Vasseur, Rapporteur  
D. Cagnant  
J.M. Ziegler  
M. Delavarenne

# TABLE des MATIERES

## ANNEXES

- I . Spectres de masse des impuretés du Carbazole p. 5
- IIa . Adsorption et désorption sur la résine DUOLITE  
A378 de : - l'acide carbazole monosulfonique  
- l'acide benzoïque  
- le phénol  
- le benzaldéhyde . p. II
- IIb . Capacité d'adsorption de la résine DUOLITE  
A378 envers l'acide carbazole monosulfonique . p. 28
- IIc . Adsorption d'un mélange acide carbazole mono-  
sulfonique - acide benzoïque . p. 3I
- III . Gammes étalons en U.V. de  
- l'acide carbazole monosulfonique  
- l'acide benzoïque  
- le phénol  
- le benzaldéhyde  
dans une solution HCL 2,5 N . p. 34
- IV . Gammes étalons en U.V. de :  
- l'acide carbazole monosulfonique  
- l'acide benzoïque  
dans une solution aqueuse amenée à pH=6,25  
avec une solution NaOH 0,1 N . p. 4I

- V . Caractéristiques Biochimiques des différentes espèces bactériennes identifiées . p. 47
- VI . Masses de carbazole mesurées dans les phases SI et LII sec des cinq échantillons des cultures ensemencées par Agrobacterium sp.2, par Corynebacterium sp.3 et par leur culture mixte . p. 57
- VII . Evolution des populations cellulaires des cultures avec tensioactifs P94 et PI03 et avec ou sans substrat carbazole . p. 60
- VIII . Chromatogrammes des phases Dichlorométhane des cultures Agrobacterium sp.2, Corynebacterium sp.3 et de leur culture mixte . p. 64
- IX . Chromatogrammes des phases Diméthylformamide des cultures Agrobacterium sp.2, Corynebacterium sp.3 et de leur culture mixte . p. 85
- X . Spectres de masse de :
- Tétraoxyéthylène ou propylène
  - Hydroxybenzoate
  - Hydroxybenzène acétate
  - Fragments de Tensioactifs P94 et PI03
  - Antioxydant
  - Phtalate
  - Phosphate .
- p. IOI

- XI . Spectres de masse de
- Carbazole silylé
  - Méthylcarbazole silylé
  - Méthylphénanthrène ou anthracène
  - Monochlorocarbazole .
- p. II0
- XII . Spectres de masse au matériel cellulaire  
(lyse cellulaire) et aux produits excrétés par  
les bactéries .
- p. II8
- XIII . Spectres de masse correspondant aux métabolites de  
dégradation du carbazole .
- p. I38
- XIV . Evolution de la capacité d'adsorption de la  
résine DUOLITE A378 en fonction de l'âge des  
culturesensemencées avec
- Proteus vulgaris (C/N/P = I00/20/4)
  - Pseudomonas sp.5 (C/N/P = I00/20/4)
  - Proteus vulgaris (C/N/P = I00/20/0,I)
  - Pseudomonas sp.5 (C/N/P/ = I00/20/0,I) .
- p. I47
- XV . Chromatogrammes des échantillons des cultures  
Proteus vulgaris et Pseudomonas sp.5 dans les  
conditions C/N/P = I00/20/4 .
- p. I52
- XVI . Chromatogrammes des échantillons des cultures  
Proteus vulgaris et Pseudomonas sp.5 dans les  
conditions C/N/P/ = I00/20/0,I .
- p. I63

XVII . Spectres de masse de :

- Chlorocarbazole triméthyl silylé
- Dichlorocarbazole
- Dichlorocarbazole triméthyl silylé
- Trichlorocarbazole
- Chlorométhyl carbazole
- Bromocarbazole .

p. 174

XVIII . Spectres de masse de :

- Acide Aminométhylphosphonique  
triméthyl silylé
- Acide Aminodiméthylphosphonique  
triméthyl silylé
- Pyrophosphate triméthyl silylé
- Alcane
- Dérivés type polycyclohexane
- Acide gras triméthyl silylé .

p. 180

XIX . Spectres de masse de :

- Aminométhyl 1-éthyl 2-cyclohexane  
triméthyl silylé
- Amino-éthyl 1-éthyl 2-cyclohexane
- Dérivé de l'indole
- Dihydro carbazole dione
- Indole
- Chloroindole
- Acide indole carboxylique
- Catéchol
- Isatine .

p. 190

# ANNEXE I

Spectres de masse des impuretés du Carbazole.

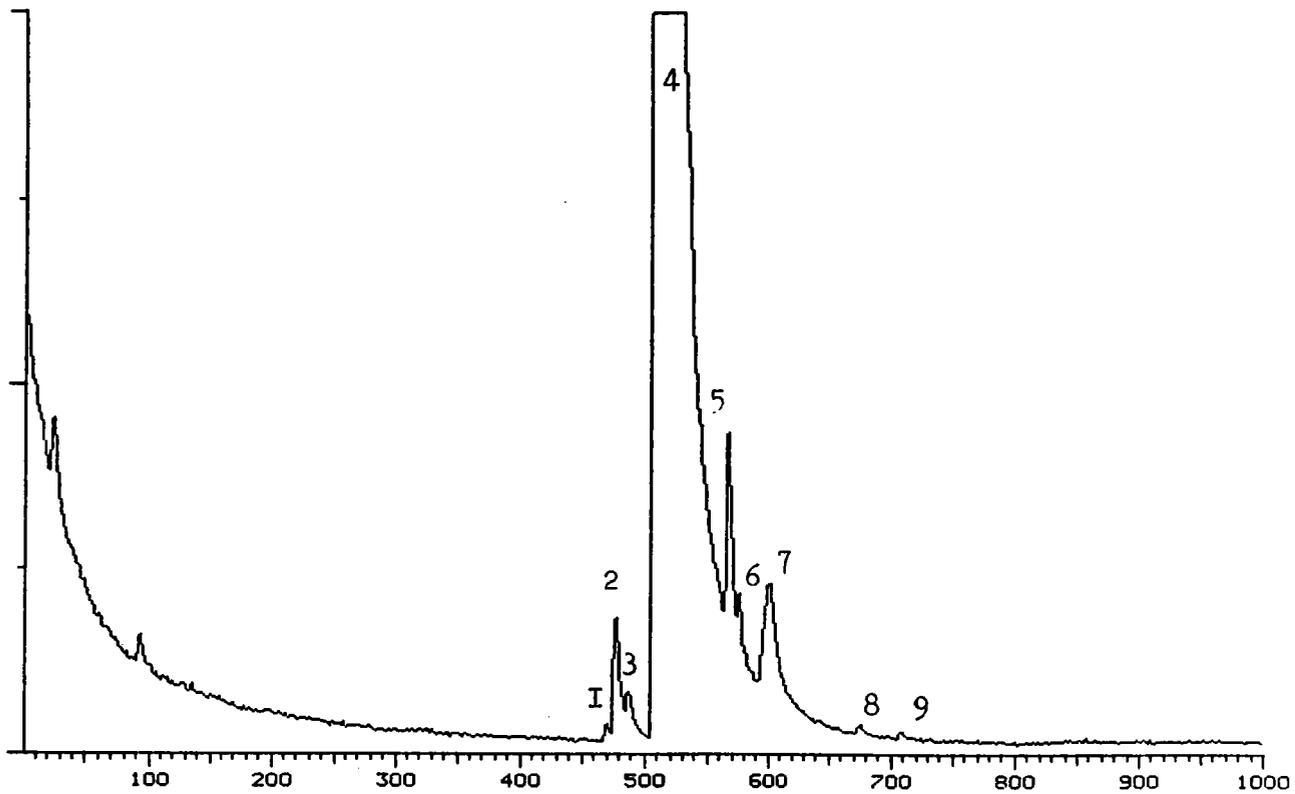
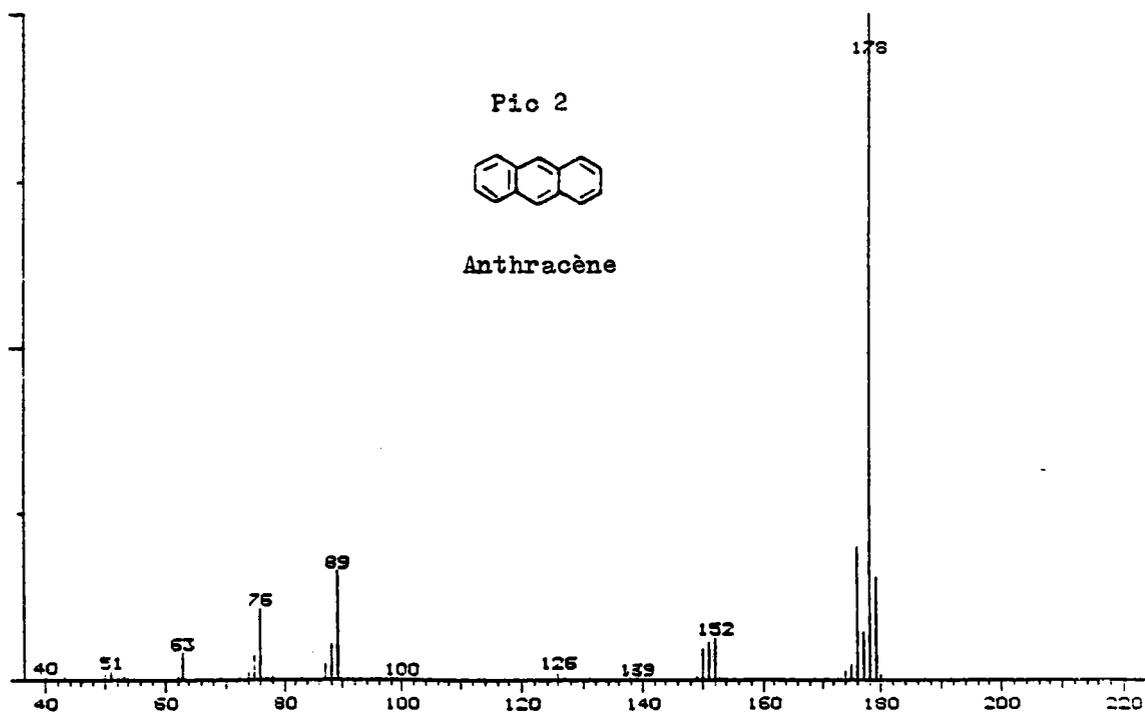
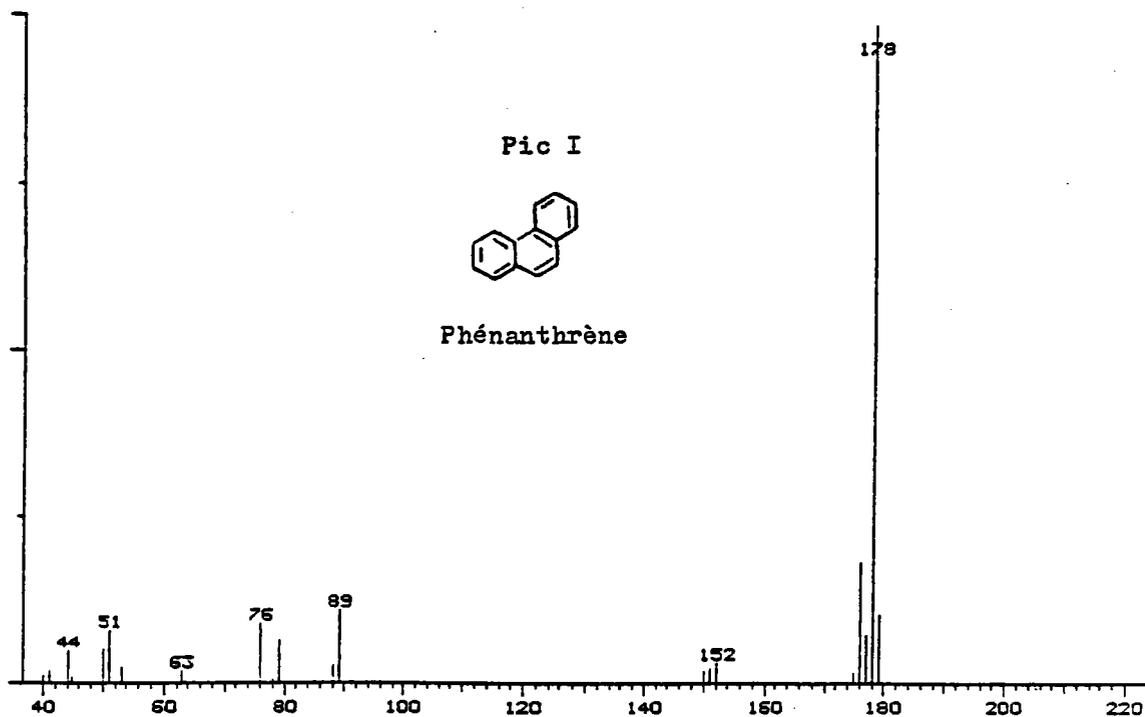
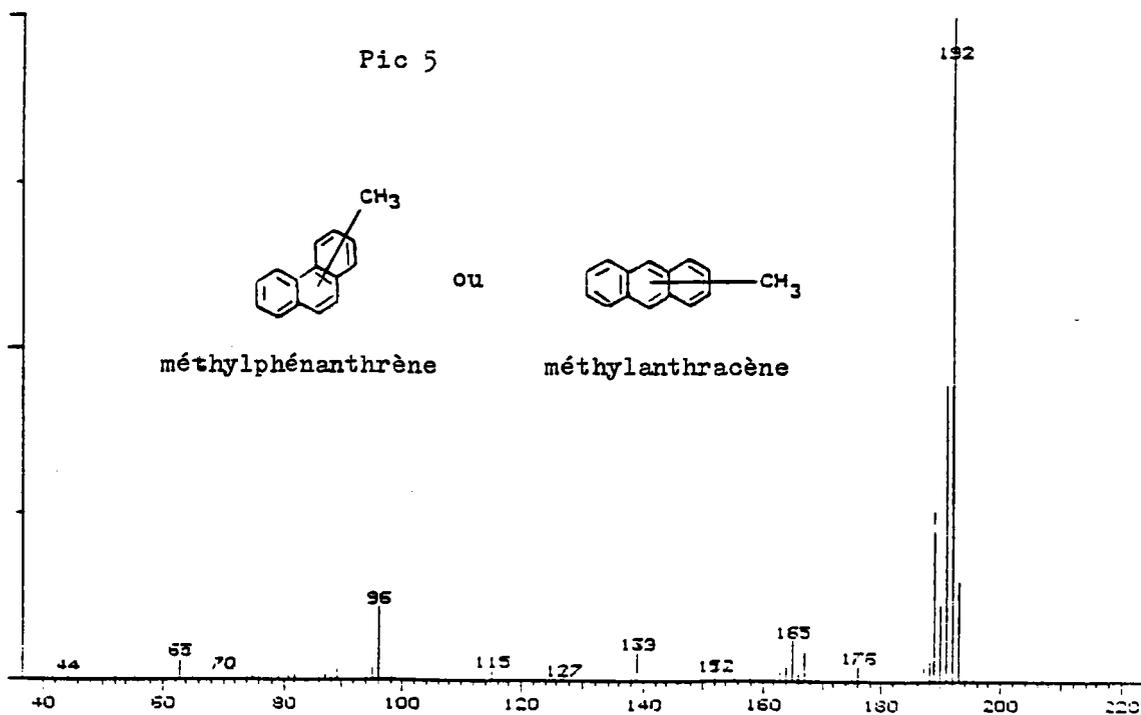
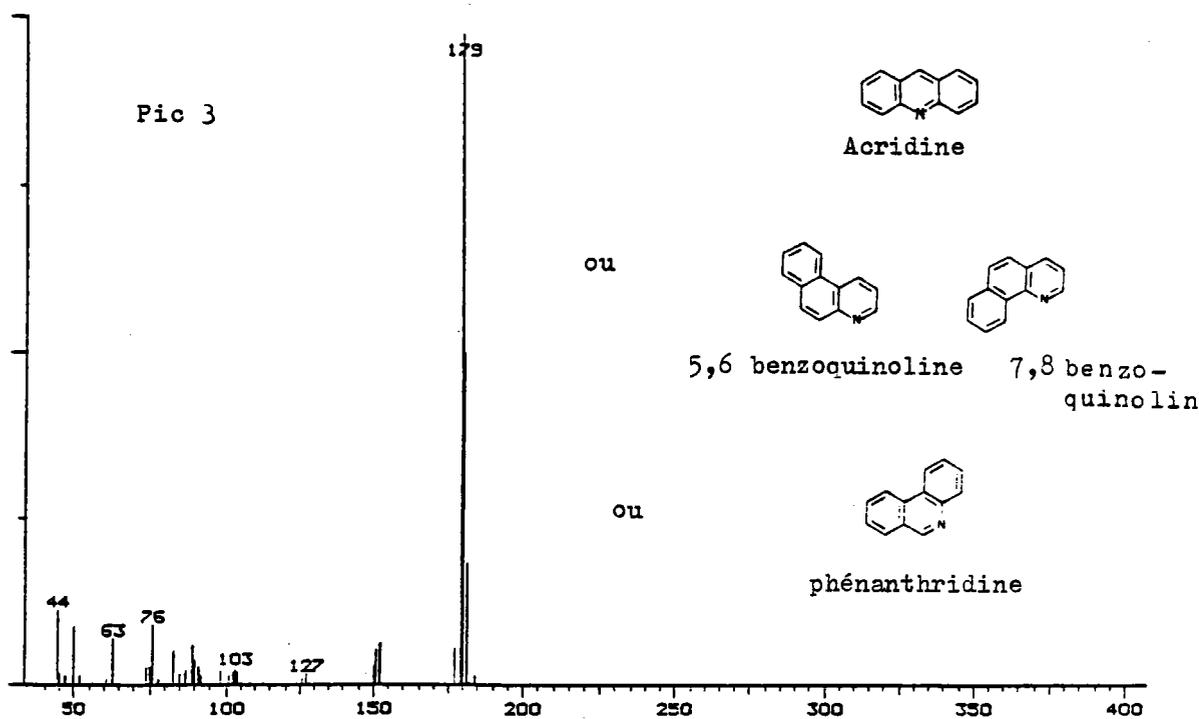


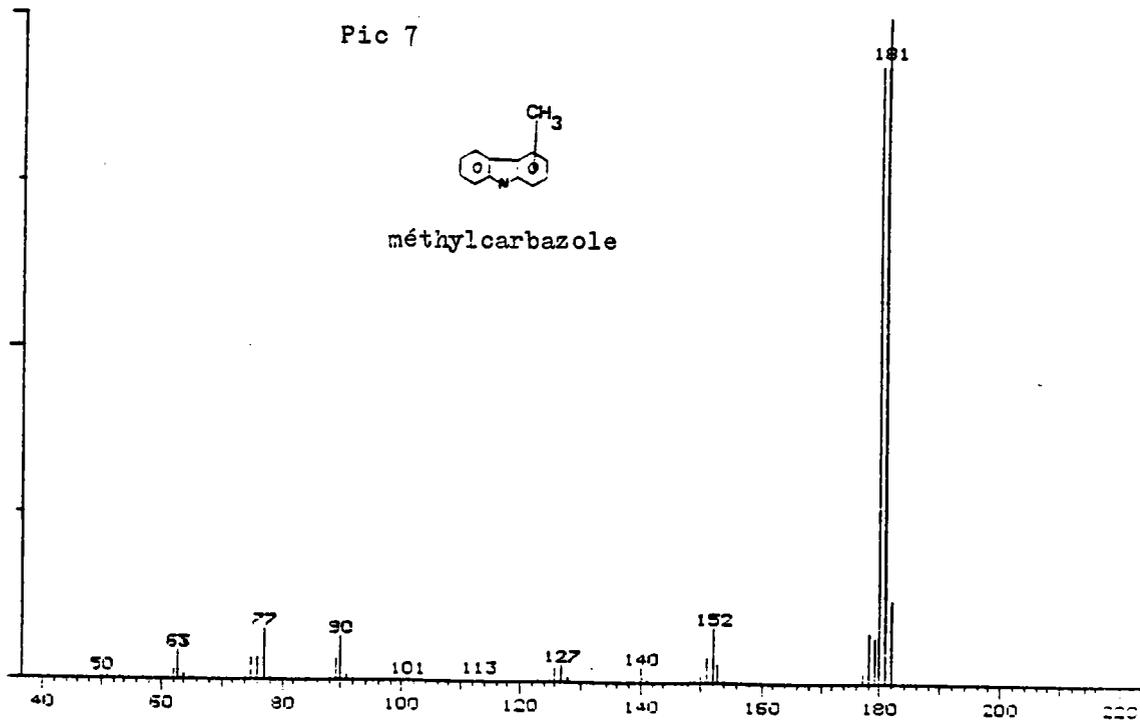
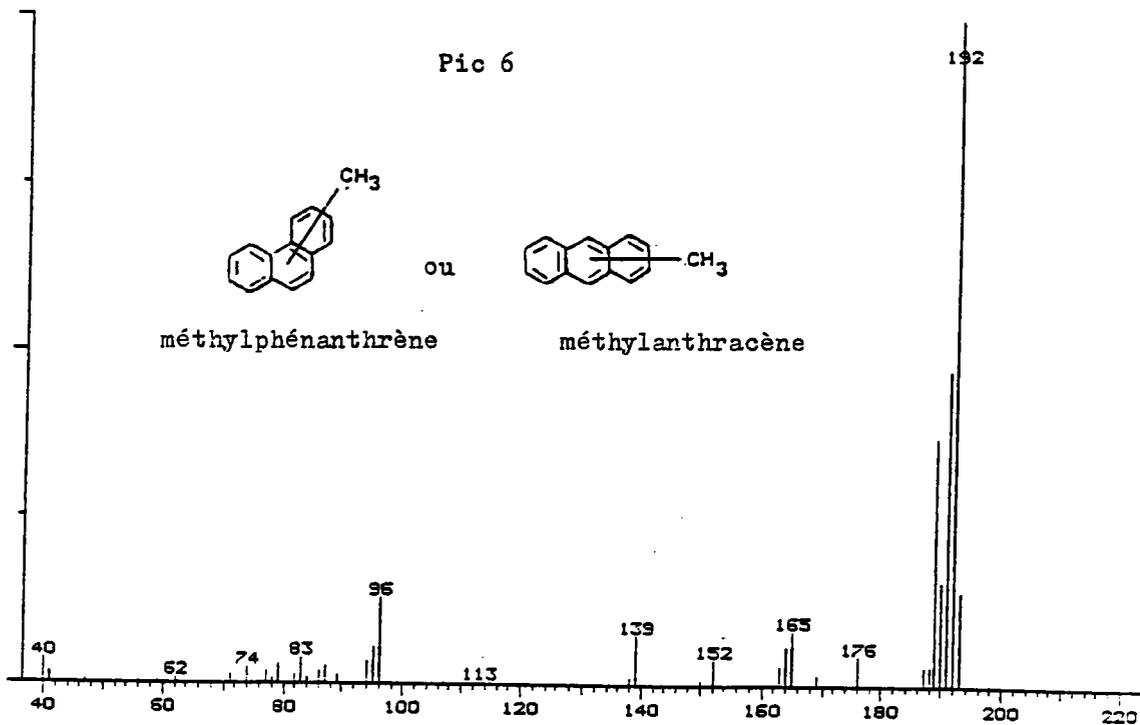
Figure 192 : Chromatogramme du carbazole (Merck 820255).

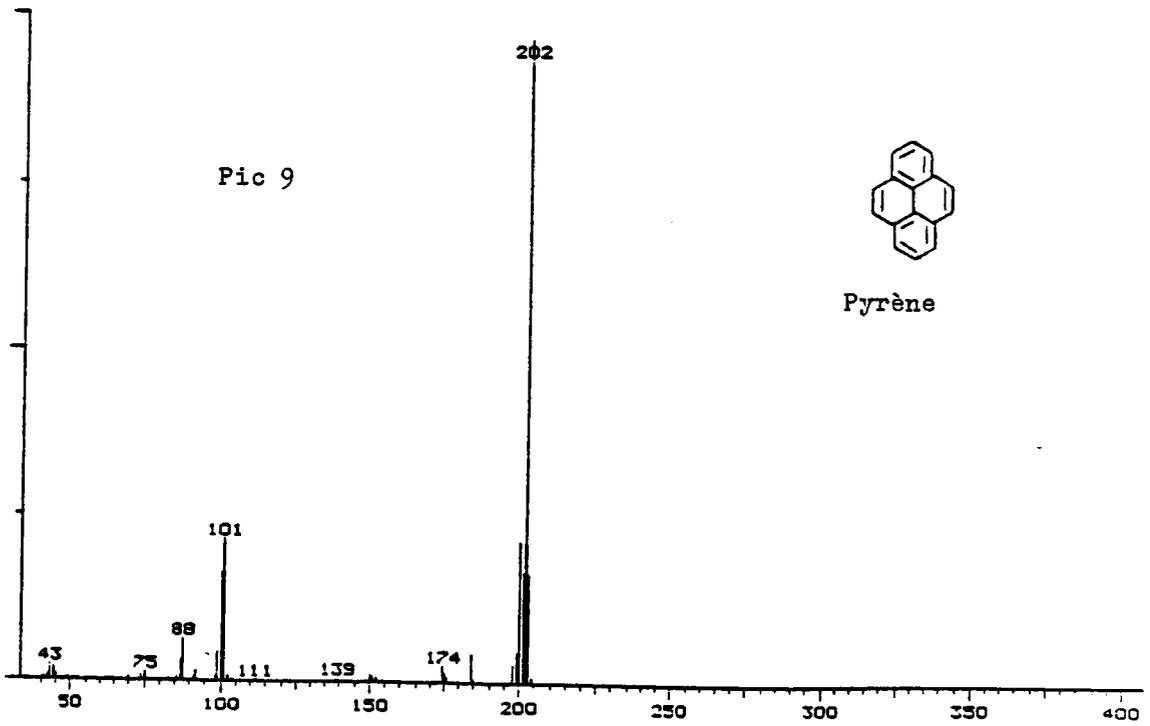
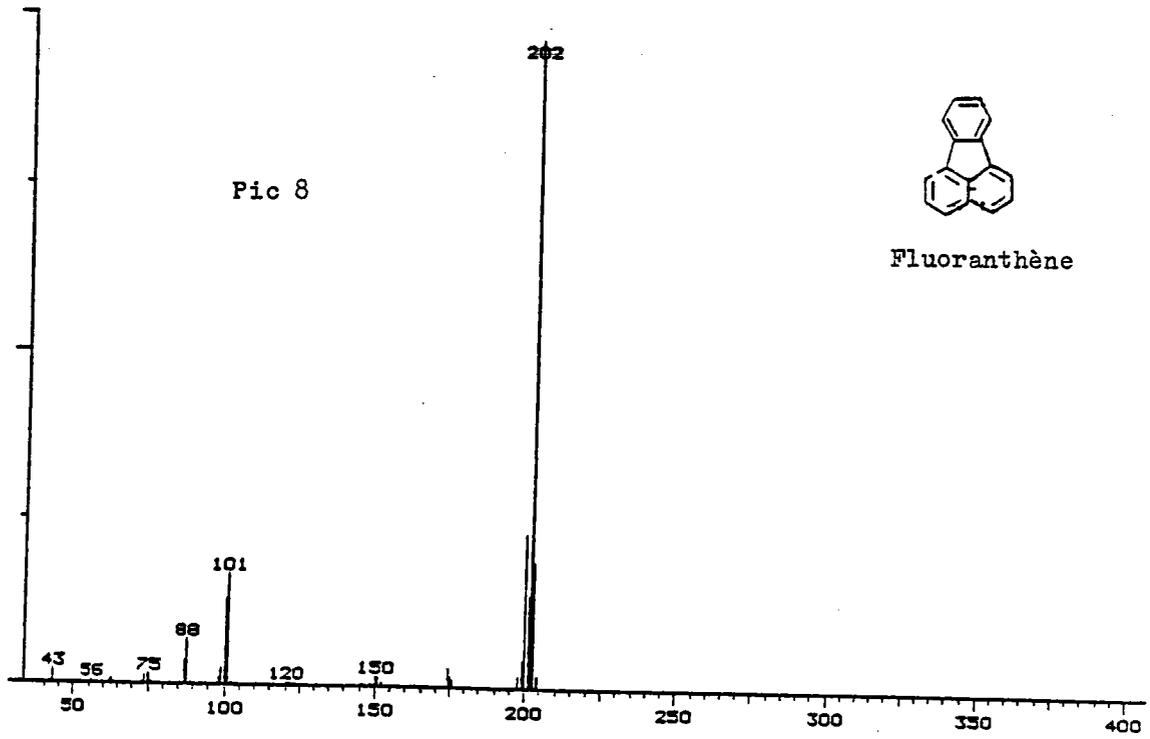
Le pic 4 correspond au carbazole.

8 impuretés ont été identifiées et rapportées dans les pages suivantes.









## ANNEXE IIa

Etude de l'adsorption et la désorption sur la résine

DUOLITE A378 de :

- l'acide carbazole monosulfonique

- l'acide benzoïque

- le phénol

- le benzaldéhyde.

L'étude de l'adsorption et la désorption sur la résine DUOLITE A 378 des composés sulfonés, carboxylés, hydroxylés et formylés a été effectuée avec les quatre molécules suivantes :

- Acide carbazole monosulfonique
- Acide benzoïque (Merck 136)
- Phénol (Merck 206)
- Benzaldéhyde (Merck 801756)

L'analyse de désorption par un acide concentré HCl (Merck 319) 2,5N permettra de définir l'affinité des différents produits étudiés et de prévoir raisonnablement le comportement de la résine lors d'une étude de l'adsorption d'un mélange.

Cette étude a nécessité douze expériences correspondant en un suivi de leur désorption par HCl 2,5N par spectrométrie U.V. des quatre composés cités ci-dessus, à trois concentrations différentes sur un volume constant de résine DUOLITE A 378 de 50 ml.

Chaque produit était dissous dans un litre de HCl 2,5N et la résine (50 ml conférant une hauteur de 6cm de résine dans la colonne) baignait de même dans l'acide.

La masse de produit désorbé était mesurée en U.V. et déterminée à l'aide d'une gamme étalon préparée dans les mêmes conditions (les gammes étalons des quatre produits sont rapportées en Annexe III), chaque fois qu'un volume de 1 litre de HCl 2,5N avait circulé à travers la résine (débit de 1 goutte par seconde).

Les mesures d'adsorption ou de désorption sont menées par spectrométrie U.V. sur le spectrophotomètre KONTRON UVIKON 810 avec des cuves en quartz (HELLMA QS K281/2r).

6 litres de HCl 2,5N (volume de HCl 2,5N dans lequel est dissous l'échantillon compris) ont été utilisés pour chaque expérience.

L'ensemble des résultats sont rapportés sur les figures 193 , 194 , 195 et 196 pour l'acide carbazole sulfurique, l'acide benzoïque, le phénol et le benzaldéhyde respectivement.

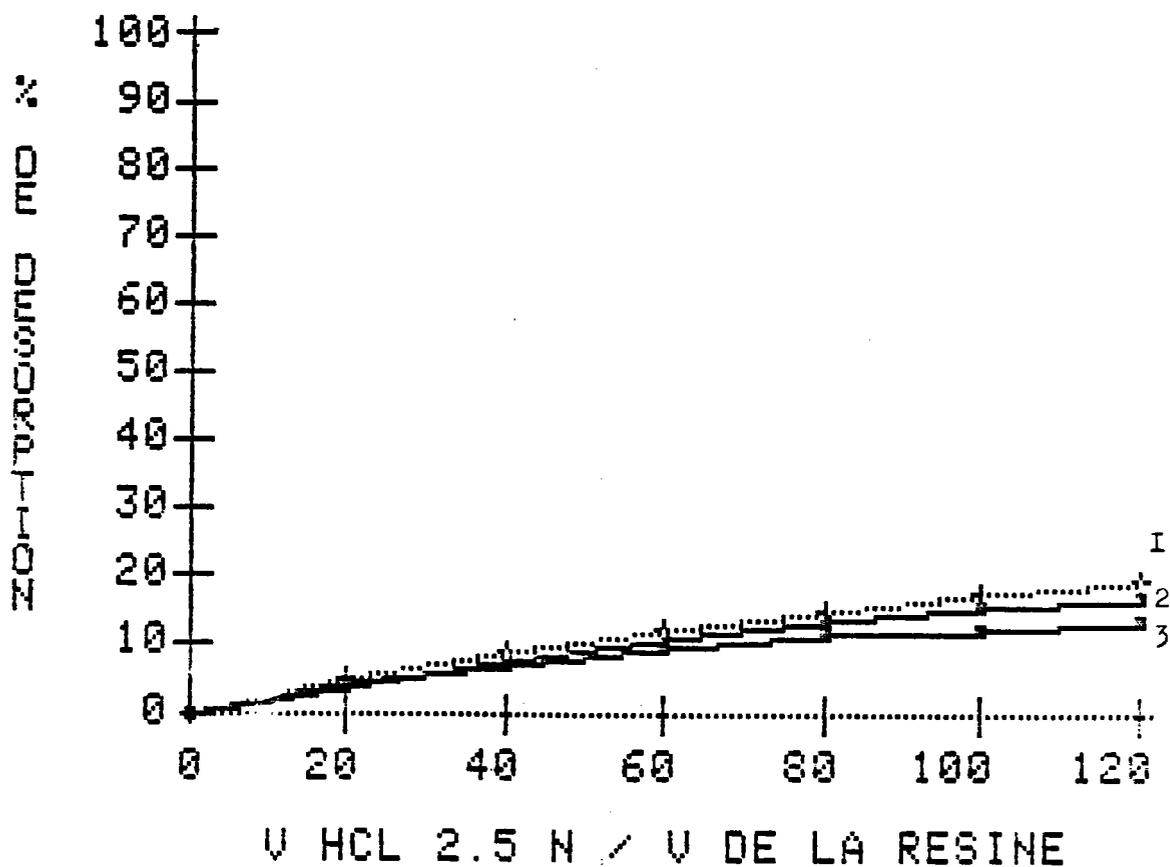


Figure 193 : Evolution de la désorption de l'acide carbazole monosulfonique en fonction du volume d'acide chlorhydrique 2,5N (exprimé en rapport volumique  $\frac{V \text{ HCl } (2,5N)}{V \text{ de la résine}}$  ).

courbe I :  $Q_i = 50$  mg d'acide carbazole monosulfonique .

courbe 2 :  $Q_i = 1000$  mg .

courbe 3 :  $Q_i = 500$  mg .

$Q_i$  étant la quantité initiale d'acide carbazole monosulfonique utilisée dans l'étude.

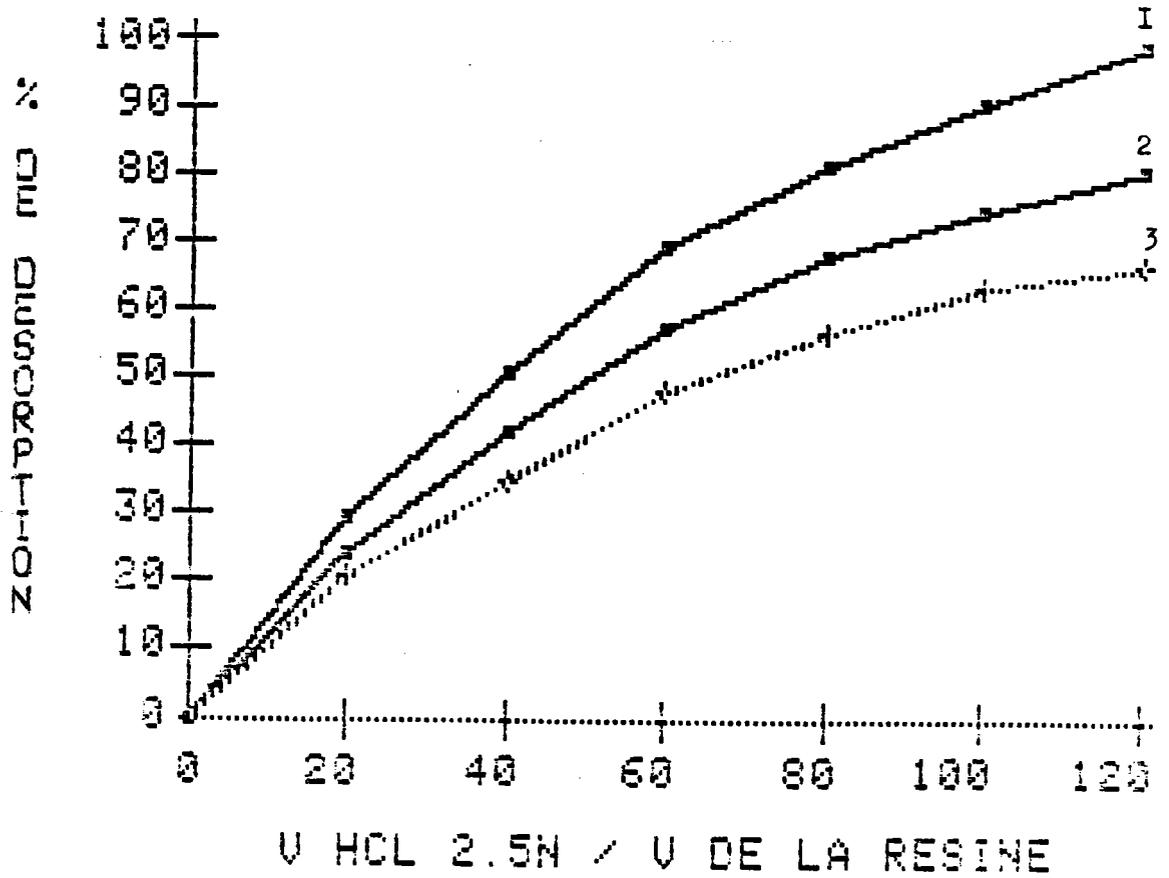


Figure 194 : Evolution de la désorption de l'acide benzoïque (% par rapport à la quantité initiale  $Q_i$ ) en fonction du volume d'acide chlorhydrique 2,5N (exprimé en rapport volumique  $\frac{V \text{ HCl } 2,5N}{V \text{ de la résine}}$  ).

- courbe 1 :  $Q_i = 7 \text{ mg d'acide benzoïque .}$
- courbe 2 :  $Q_i = 23 \text{ mg d'acide benzoïque .}$
- courbe 3 :  $Q_i = 50 \text{ mg d'acide benzoïque .}$

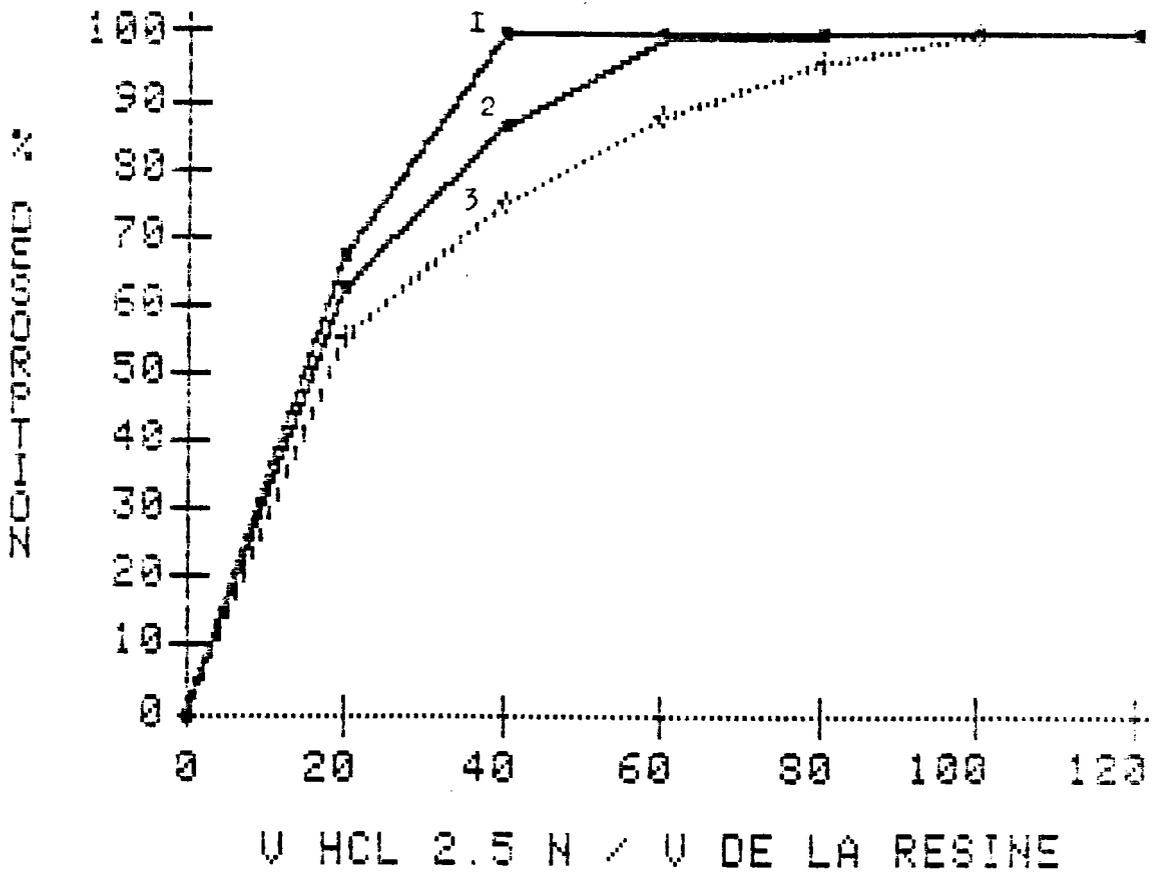


Figure 195 : Evolution de la désorption du phénol (% par rapport à la quantité initiale  $Q_i$ ) en fonction du volume d'acide chlorhydrique 2,5N (exprimé en rapport volumique  $\frac{V \text{ HCl } 2,5N}{V \text{ de la résine}}$ ).

courbe 1 :  $Q_i = 35$  mg de phénol .

courbe 2 :  $Q_i = 70$  mg de phénol .

courbe 3 :  $Q_i = 150$  mg de phénol .

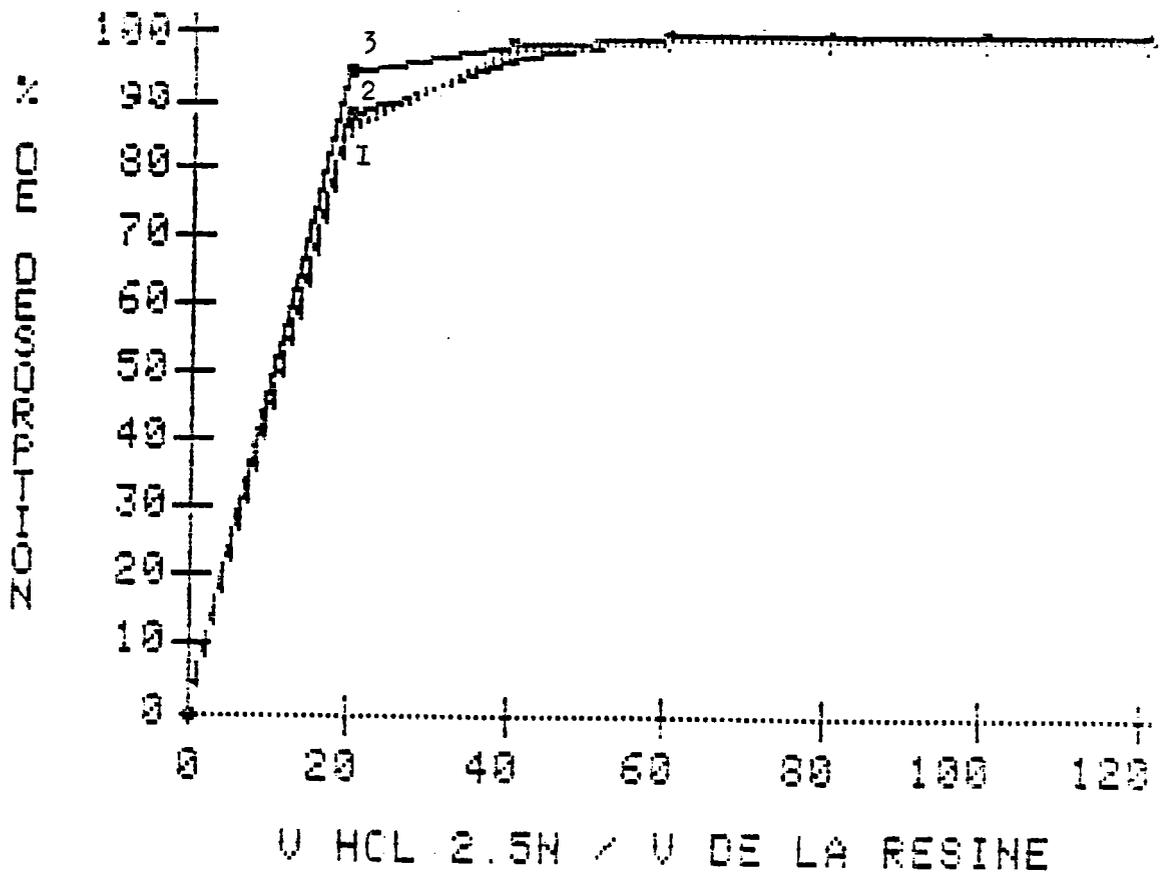


Figure 196 : Evolution de la désorption du benzaldéhyde (% par rapport à la quantité initiale  $Q_i$ ) en fonction du volume d'acide chlorhydrique 2,5N (exprimé en rapport volumique  $\frac{V \text{ HCl } 2,5N}{V \text{ de la résine}}$ ).

courbe 1 :  $Q_i = 50$  mg de benzaldéhyde.

courbe 2 :  $Q_i = 100$  mg de benzaldéhyde.

courbe 3 :  $Q_i = 200$  mg de benzaldéhyde.

La figure 193 montre que le pourcentage d'acide carbazole monosulfonique désorbé reste du même ordre de grandeur (en fonction du volume de HCl 2,5N utilisé) quelle que soit la quantité d'acide carbazole monosulfonique initialement adsorbée.

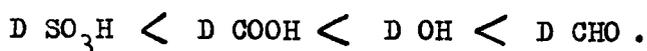
Cela signifie que la quantité désorbée pour un volume d'HCl 2,5N utilisé, augmente linéairement en fonction de la quantité initialement adsorbée.

Par contre, les figures 194 et 195 montrent que le pourcentage d'acide benzoïque et de phénol désorbé diminue pour un volume d'élution donné, en fonction de l'augmentation de la quantité initialement adsorbée. La désorption totale est d'autant plus difficile à obtenir que la quantité initialement adsorbée est élevée.

En ce qui concerne le benzaldéhyde (figure 196), les phénomènes d'adsorption et de désorption n'apparaissent pas véritablement, il semble plutôt que le benzaldéhyde ne fasse que traverser la résine.

Un faible ralentissement du passage des molécules semble cependant être observé.

Les figures 193, 194, 195 et 196 permettent d'observer qu'avec la résine DUOLITE A 378, la désorption dépend du type de groupement polaire substitué sur un cycle aromatique; il semble que la désorption D augmente de la façon suivante :



Il semble que les molécules sulfonées aient l'affinité la plus importante pour la résine DUOLITE A 378.

Les mathématiques vont d'ailleurs permettre de généraliser cette observation en étudiant l'évolution de la désorption en fonction de la quantité initialement adsorbée pour l'acide carbazole monosulfonique (figure 197 ), pour l'acide benzoïque (figure 198 ), pour le phénol (figure 199 ) et le benzaldéhyde (figure 200 ) et ceci pour un volume d'HCl donné.

Dans tous les cas, il apparaît que la quantité désorbée d'un des produits donnés évolue linéairement en fonction de la quantité initialement adsorbée, et ceci pour un volume d'HCl 2,5N donné, comme le confirme avec un risque de 0,01 les tests du F de Snedecor et du T de Student (tableau LVIII ).

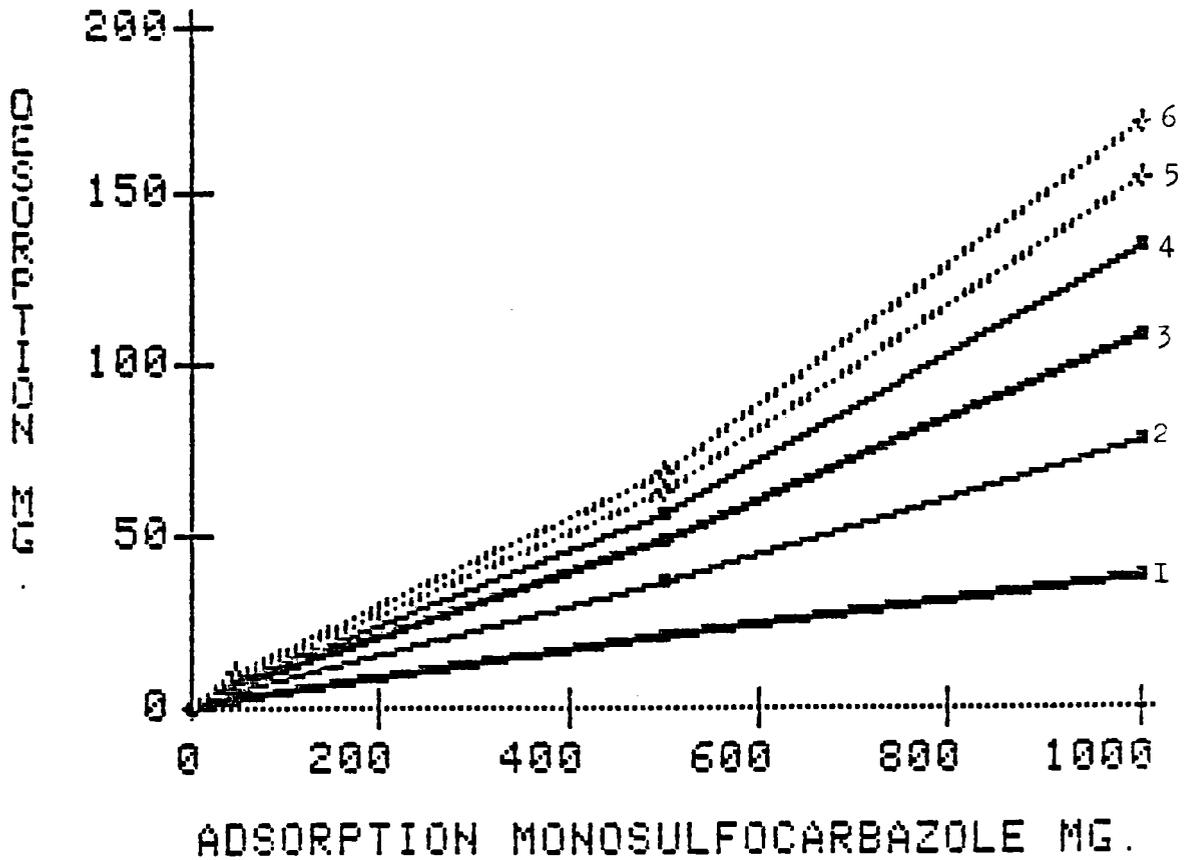


Figure 197 : Etude de la quantité d'acide carbazole monosulfonique désorbée en fonction de la quantité adsorbée.  
courbe 1 pour 11 HCl 2,5N  
courbe 2 pour 21 HCl 2,5N  
courbe 3 pour 31 HCl 2,5N  
courbe 4 pour 41 HCl 2,5N  
courbe 5 pour 51 HCl 2,5N  
courbe 6 pour 61 HCl 2,5N .

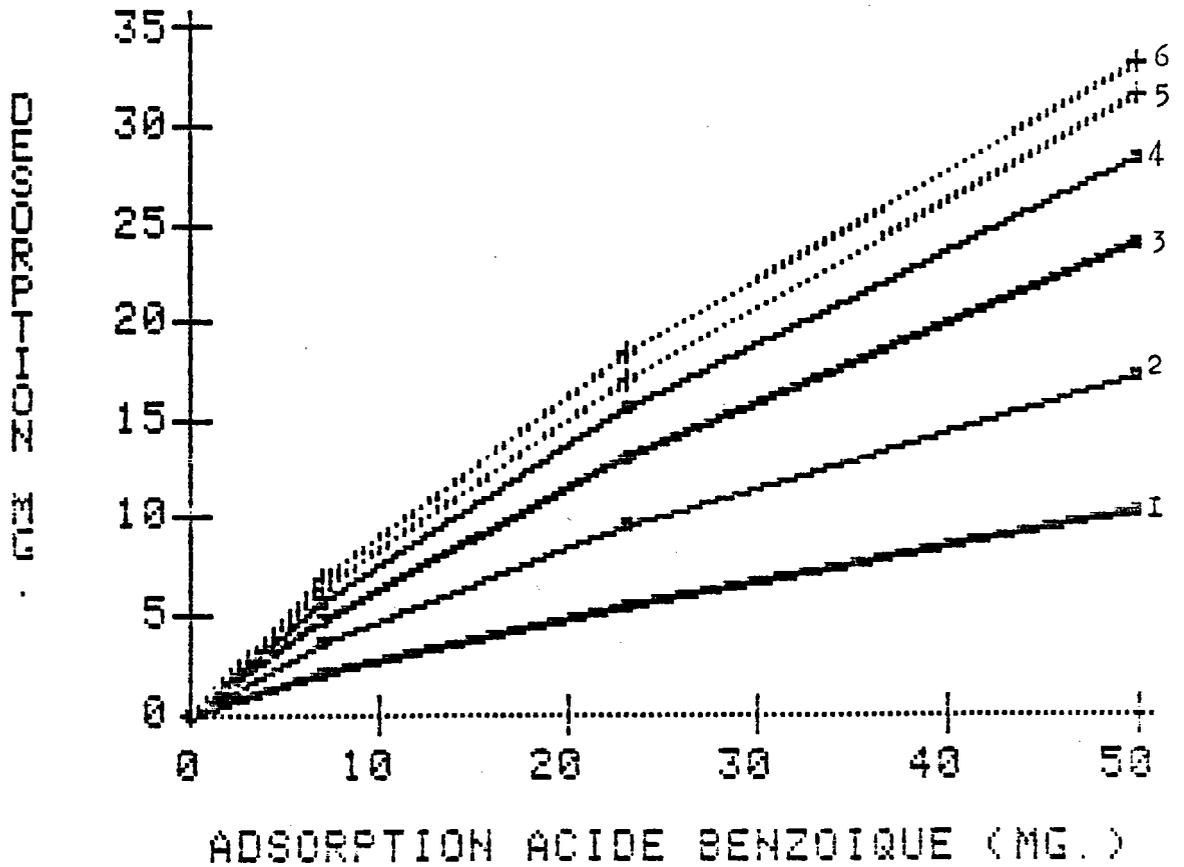


Figure I98 : Etude de la quantité d'acide benzoïque désorbée en fonction de la quantité adsorbée.

- courbe 1 pour I1 HCl 2,5N
- courbe 2 pour 21 HCl 2,5N
- courbe 3 pour 31 HCl 2,5N
- courbe 4 pour 41 HCl 2,5N
- courbe 5 pour 51 HCl 2,5N
- courbe 6 pour 61 HCl 2,5N.

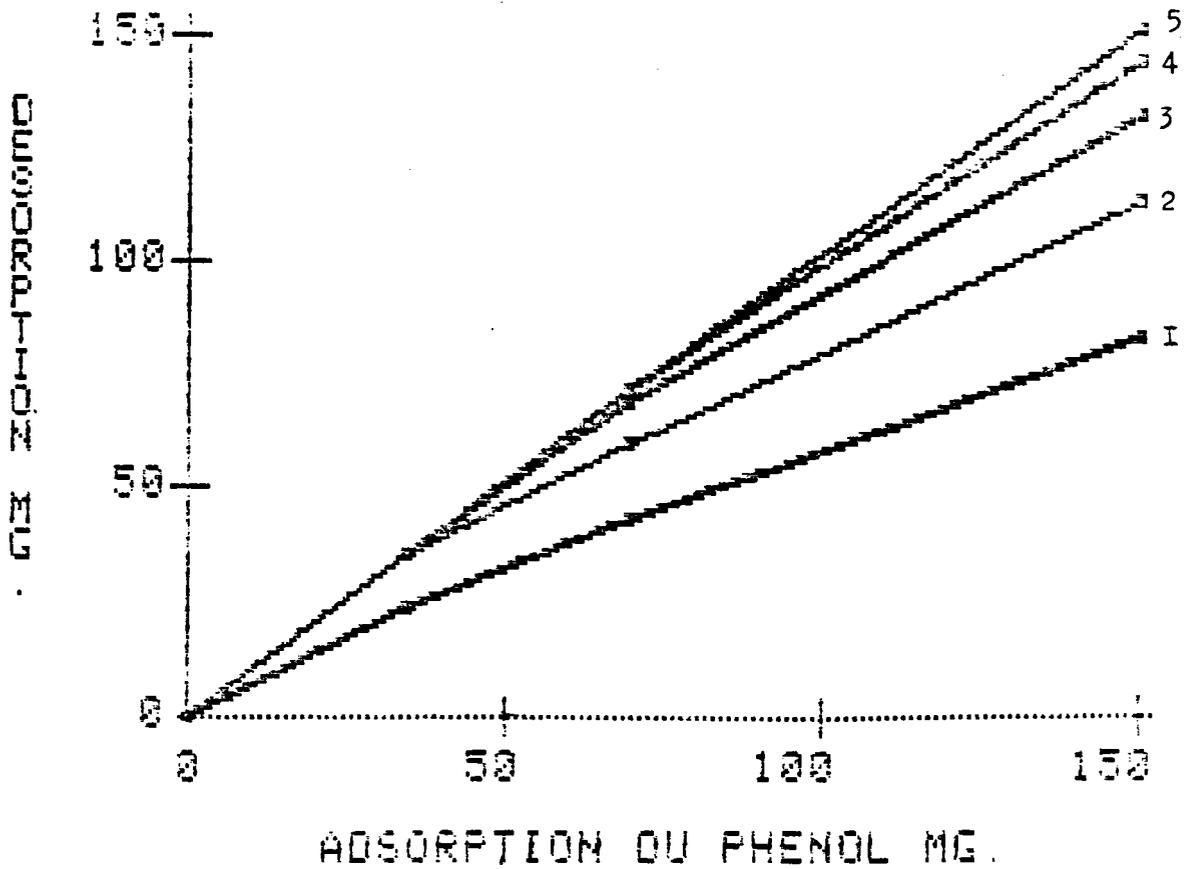


Figure 199 : Etude de la quantité de phénol désorbée en fonction de la quantité adsorbée.  
courbe 1 pour 11 HCl 2,5N  
courbe 2 pour 21 HCl 2,5N  
courbe 3 pour 31 HCl 2,5N  
courbe 4 pour 41 HCl 2,5N  
courbe 5 pour 5 et 61 HCl 2,5N.

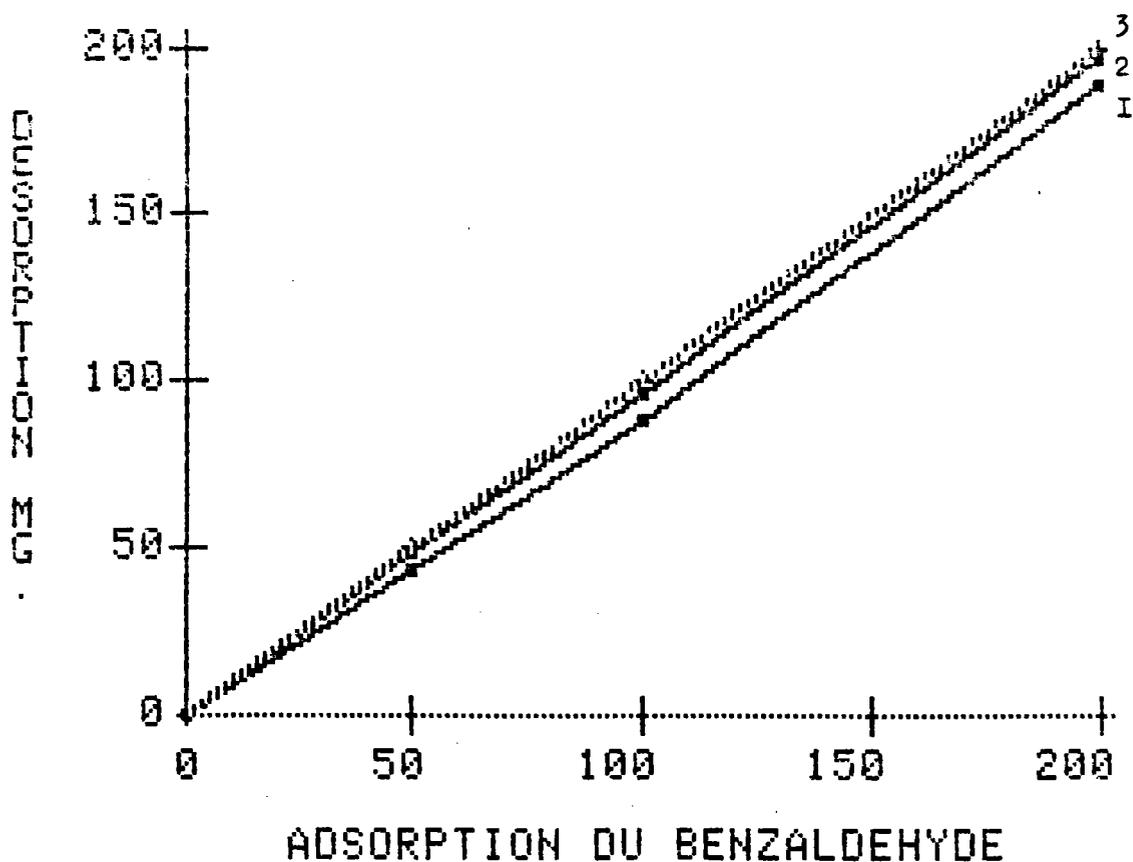


Figure 200 : Etude de la quantité de benzaldéhyde désorbée en fonction de la quantité adsorbée.

courbe 1 pour 1 l HCl 2,5N

courbe 2 pour 2 l HCl 2,5N

courbe 3 pour 3 l, 4 l, 5 l, 6 l HCl 2,5N .

Tableau LVIII : Evolution de l'équation Y (masse de produit désorbé) = DX (masse de produit adsorbé initialement) + B en fonction du volume d'élution HCl 2,5N pour respectivement : l'acide carbazole monosulfonique, l'acide benzoïque, le phénol et le benzaldéhyde pour un volume de 50 ml de résine DUOLITE A 378.

Type de molécule	Acide carbazole monosulfonique	Acide benzoïque	Phénol	Benzaldéhyde
Volume d'élution HCl 2,5N				
Equation	$Y=0,0374X+0,5619$	$Y=0,202X+0,421$	$Y=0,547X+2,687$	$Y=0,948X-3,00$
Coefficient de corrélation r	r = 0,9987	r = 0,996	r = 0,9973	r = 0,9992
	significatif à I% n = 4	significatif à I% n = 4	significatif à I% n = 4	significatif à I% n = 4
1 l. Test du T I%	Tcalc = 27,76 Tth = 9,925	Tcalc = 16,01 Tth = 9,925	Tcalc = 19,54 Tth = 9,925	Tcalc = 35,55 Tth = 9,925
Test du F I%	Fcalc = 770,6 Fth = 98,5	Fcalc = 256,3 Fth = 98,5	Fcalc = 382,0 Fth = 98,5	Fcalc = 1264 Fth = 98,5
Equation	$Y=0,0763X-0,2144$	$Y=0,341X+0,805$	$Y=0,735X+5,12$	$Y=0,985-0,640$
Coefficient de corrélation r	r = 0,9994	r = 0,9945	r = 0,9952	r = 0,9999
	significatif à I% n = 4	significatif à I% n = 4	significatif à I% n = 4	significatif à I% n = 4
2 l. Test du T I%	Tcalc = 39,96 Tth = 9,925	Tcalc = 13,41 Tth = 9,925	Tcalc = 14,39 Tth = 9,925	Tcalc = 109,46 Tth = 9,925
Test du F I%	Fcalc = 1597,2 Fth = 98,5	Fcalc = 179,9 Fth = 98,5	Fcalc = 207,3 Fth = 98,5	Fcalc = 11982 Fth = 98,5
Equation	$Y=0,1099X-3,329$	$Y=0,469X+1,091$	$Y=0,874X+3,319$	$Y=0,997X-0,158$
Coefficient de corrélation r	r = 0,998	r = 0,9947	r = 0,9978	r = 0,99999
	significatif à I% n = 4	significatif à I% n = 4	significatif à I% n = 4	significatif à I% n = 4
3 l. Test du T I%	Tcalc = 22,014 Tth = 9,925	Tcalc = 13,68 Tth = 9,925	Tcalc = 21,408 Tth = 9,925	Tcalc = 555 Tth = 9,925
Test du F I%	Fcalc = 484,6 Fth = 98,5	Fcalc = 187,2 Fth = 98,5	Fcalc = 458,29 Fth = 98,5	Fcalc = 308149 Fth = 98,5

Type de molécule	Acide carbazole	Acide benzoïque	Phénol	Benzaldéhyde
Volume	monosulfonique			
d'élution				
HCl 2,5N				
Equation	$Y=0,1319X-1,565$	$Y=0,556X+1,293$	$Y=0,959X+1,57$	
Coefficient de corrélation r	r = 0,9964 significatif à I% n = 4	r = 0,9945 significatif à I% n = 4	r = 0,9993 significatif à I% n = 4	Id 3 1
4 1				
Test du T I%	Tcalc = 16,68 Tth = 9,925	Tcalc = 13,44 Tth = 9,925	Tcalc = 38,14 Tth = 9,925	
Test du F I%	Fcalc = 278,27 Fth = 98,5	Fcalc = 180,67 Fth = 98,5	Fcalc = 1454,9 Fth = 98,5	
Equation	$Y=0,1516X - 2,176$	$Y=0,622X+1,336$	$Y=1,005X+0,269$	
Coefficient de corrélation r	r = 0,9948 significatif à I% n = 4	r = 0,9958 significatif à I% n = 4	r = 0,9999 significatif à I% n = 4	Id 3 1
5 1				
Test du T I%	Tcalc = 13,82 Tth = 9,925	Tcalc = 15,37 Tth = 9,925	Tcalc = 101,56 Tth = 9,925	
Test du F I%	Fcalc = 190,92 Fth = 98,5	Fcalc = 236,4 Fth = 98,5	Fcalc = 10315 Fth = 98,5	
Equation	$Y=0,1665X-2,539$	$Y=0,653X+1,617$		
Coefficient de corrélation r	r = 0,9937 significatif à I% n = 4	r = 0,9941 significatif à I% n = 4	Id 5 1	Id 3 1
6 1				
Test du T I%	Tcalc = 12,57 Tth = 9,925	Tcalc = 13,01 Tth = 9,925		
Test du F I%	Fcalc = 158,07 Fth = 98,5	Fcalc = 169,3 Fth = 98,5		

Comme le montrent les figures 197 , 198 , 199 et 200 et comme le présente le tableau LVIII , la désorption des produits augmente en fonction du volume d'élution utilisé, quelle que soit la quantité initialement adsorbée.

Les pentes de désorption D pour chacun des produits évoluent en fonction du volume V d'élution HCl 2,5N suivant la forme de courbe  $D = A \ln (V(\text{litre})) + B'$  comme l'indique le tableau LIX .

Tableau LIX : Evolution de la pente de désorption D en fonction du volume d'élution HCl 2,5N pour respectivement l'acide carbazole monosulfonique, l'acide benzoïque, le phénol et le benzaldéhyde pour un volume de 50 ml de résine DUOLITE A 378.

Type de molécule :	acide carbazole	acide benzoïque	phénol	benzaldéhyde
Equation	D=0,07294 Ln(V)	D=0,2621 Ln(V)	D=0,2528 Ln(V)	D=0,287 Ln(V)
et paramètres	+ 0,03226	+ 0,1865	+ 0,5687	+ 0,957
statistiques				
Coefficient de corrélation	r = 0,996	r = 0,9959	r = 0,9777	r = 0,9241
	significatif à I% n = 6			
Test du F	Risque d'erreur : 0,01			
	Fcalc = 496,4	Fcalc = 488,6	Fcalc = 86,6	Fcalc = 23,4
	Fth = 21,2	Fth = 21,2	Fth = 21,2	Fth = 21,2
Test du T	Risque d'erreur : 0,01			
	Tcalc = 22,27	Tcalc = 22,10	Tcalc = 9,307	Tcalc = 4,84
	Tth = 4,604	Tth = 4,604	Tth = 4,604	Tth = 4,604

C'est ainsi que, grâce aux tableaux LVIII et LIX , les quantités d'acide carbazole monosulfonique , d'acide benzoïque, de phénol et de benzaldéhyde désorbées peuvent être calculées en connaissant le volume d'élution HCl 2,5N utilisé et les quantités de produits initialement adsorbés.

## **ANNEXE II b**

Capacité d'adsorption de la résine DUOLITE A378 envers

l'acide carbazole monosulfonique.

La capacité d'adsorption de la résine DUOLITE A 378 envers l'acide carbazole monosulfonique a été mesurée de la façon suivante :

Les mesures sont effectuées sur un volume de résine de 5 ml dans une colonne de 8,5 mm de diamètre conférant une hauteur de 8,5 cm à l'ensemble.

Le volume de la solution est de 4 l avec une concentration de 520 mg/l d'acide carbazole monosulfonique, équilibrée à pH = 6,25.

Le débit dans la colonne est de 1 goutte / seconde.

Des aliquots de 50 ml sont prélevés, dosés en U.V. à 294 nm à l'aide de la gamme étalon préparée dans les mêmes conditions (Annexe IV).

La courbe d'adsorption obtenue est présentée sur la figure 20I .

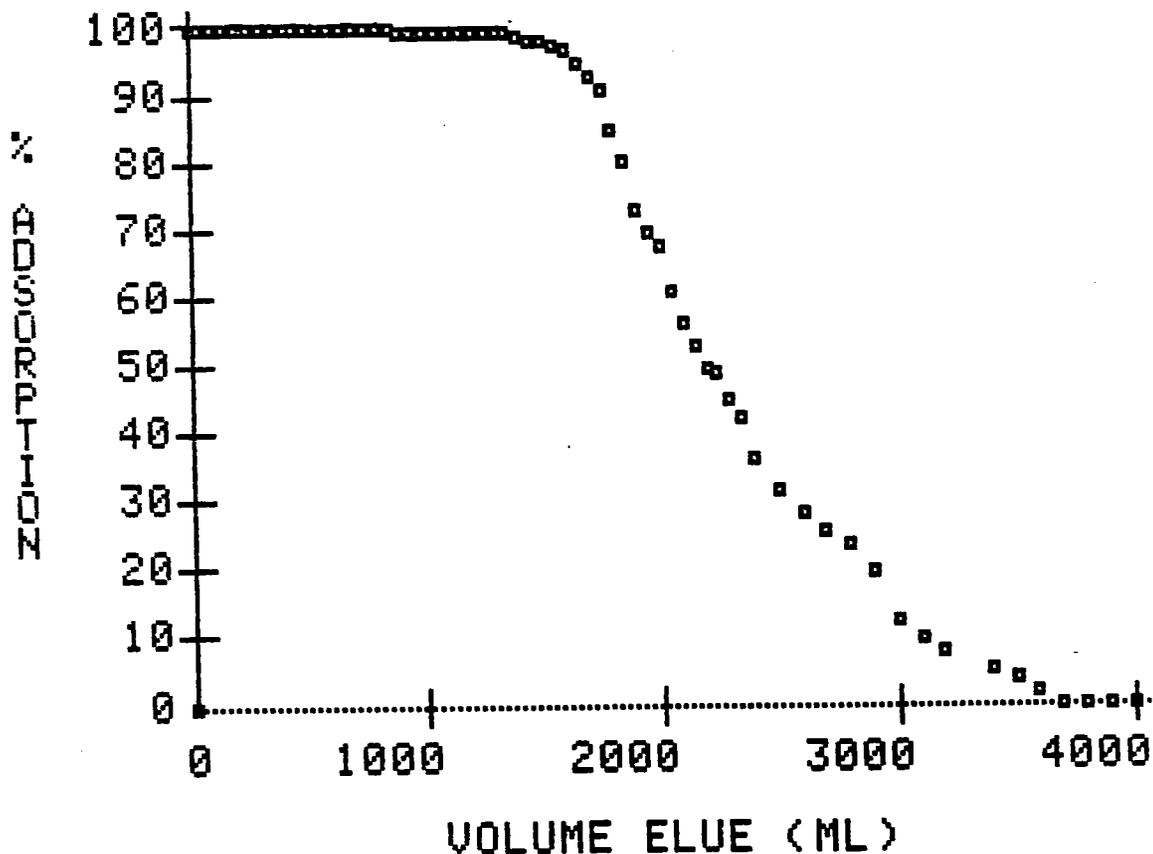


Figure 20I : Courbe d'adsorption de l'acide carbazole monosulfonique par la résine DUOLITE A 378.

L'adsorption est de 99% jusqu'au volume élué = 1700 ml

Adsorption 99%/ml de résine = 175mg/ml

—————> 0,709 eq/l de résine .

L'adsorption est terminée à partir de 3600 ml de volume élué; la résine est saturée.

La résine, dans ces conditions peut adsorber 237mg d'acide carbazole monosulfonique/millilitre de résine

—————> 0,960 eq/l de résine .

Au débit choisi, l'adsorption de l'acide carbazole sulfonique est de 99% (1% de relargage) avec la capacité d'échange de 0,709 eq/l de résine.

L'acide carbazole monosulfonique est retrouvé dans le milieu élué lorsque 74% des sites susceptibles d'adsorber l'acide carbazole monosulfonique sont saturés.

## **ANNEXE IIc**

Etude de l'adsorption d'un mélange acide carbazole monosulfonique

- acide benzoïque.

L'étude est menée sur un mélange de composition similaire au milieu de culture utilisé dans la dégradation de l'acide carbazole monosulfonique par Proteus vulgaris et Pseudomonas sp.5.

La composition est la suivante :

-C/N/P=100/20/4.

- Acide carbazole monosulfonique : 5 g/l.

- Sels minéraux (voir chapitre 3-6-5/)

pH = 6,25 équilibré avec NaOH 0,1N .

- Acide benzoïque 100 mg/l utilisé comme "témoin métabolite".

L'expérience consiste à éluer un litre de la solution préparée ci-dessus dans 29 ml de résine DUOLITE A 378 à raison de 1 goutte / seconde.

Le volume de 29 ml de résine a été choisi comme étant capable d'adsorber 99% de l'acide carbazole monosulfonique du milieu préparé, sans relargage.

—————> Adsorption 99%/ml x 29ml de résine = 5075mg  
d'acide carbazole monosulfonique.

Après passage dans la résine des 1000 ml de solution :

- 1) La concentration de l'acide carbazole monosulfonique est mesurée à 294nm (Annexe IV) ,
- 2) L'adsorbance à 229nm est mesurée ,
- 3) L'interférence de l'acide carbazole monosulfonique à 229nm se déduit de 1) à l'aide de la gamme étalon de l'acide carbazole monosulfonique obtenue à 229nm (Annexe IV) ,

4) La différence d'adsorbance à 229nm donne la concentration en acide benzoïque (Annexe IV).

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau LX.

Tableau LX : Concentration (mg/l) de l'acide carbazole monosulfonique et de l'acide benzoïque avant et après passage dans la résine DUOLITE A 378.

Concentration initiale (mg/l)		Concentration après élution (mg/l)	
Acide carbazole monosulfonique	Acide benzoïque	Acide carbazole monosulfonique	Acide benzoïque
5000 ± 10	100 ± 3	94 ± 7	68 ± 2

Les mesures montrent que dans les conditions utilisées moins de 2% d'acide carbazole monosulfonique est retrouvé dans le milieu élué tandis que 68% de l'acide benzoïque est retrouvé.

Cette expérience montre que les produits carboxylés sont retrouvés à toutes concentrations même aux plus faibles. De ce fait, il en est de même pour les composés hydroxylés et aldéhydes.

## ANNEXE III

Gammes étalons en U.V. de :

- l'acide carbazole monosulfonique

- l'acide benzoïque

- le phénol

- le benzaldéhyde

dans une solution HCl 2,5N.

I) L'acide carbazole monosulfonique.

Le spectre U.V. de l'acide carbazole monosulfonique montre que la molécule peut être dosée de façon quantitative à la longueur d'onde de 294 nm (figure 202 ).

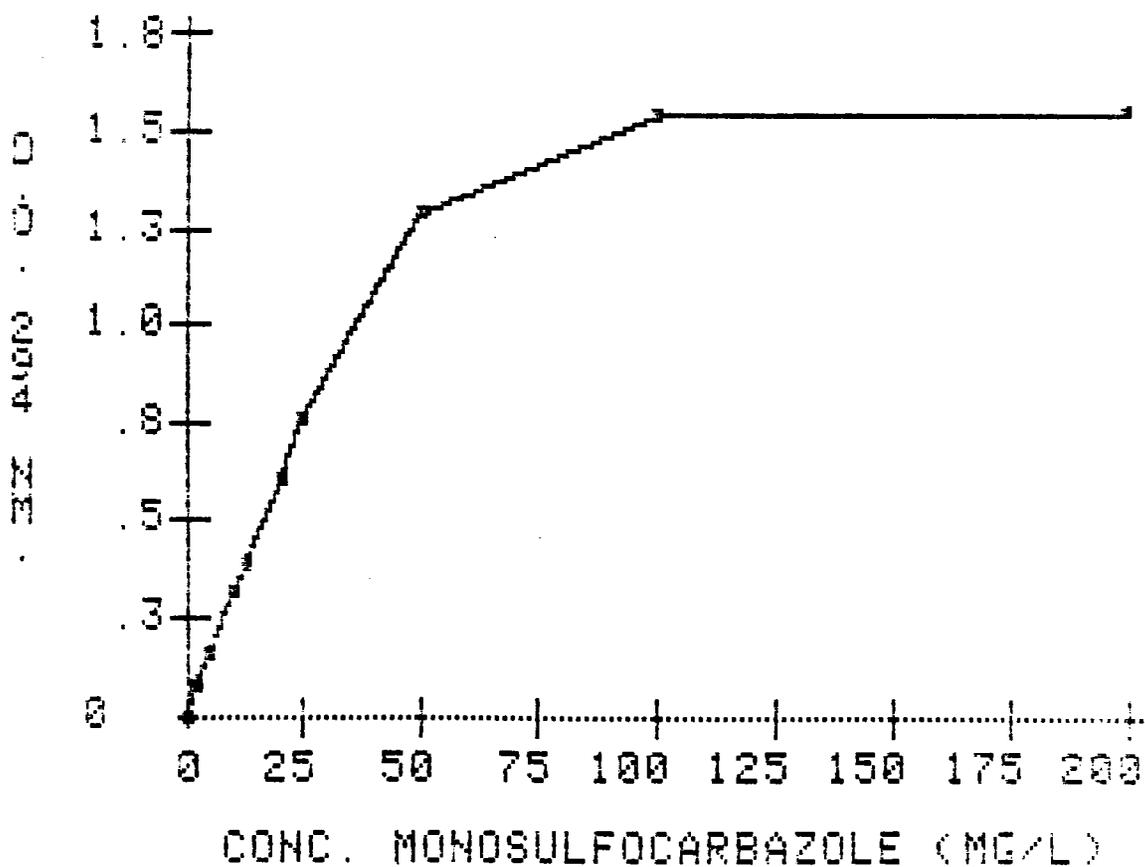


Figure 202 : Evolution de l'absorbance à 294nm en fonction de la concentration en acide carbazole monosulfonique.

Les mesures montrent que l'absorbance évolue de façon linéaire jusqu'à la concentration de 25 mg/l d'acide carbazole sulfonique suivant l'équation :

$$Y = 0,03027X + 4,84 \cdot 10^{-3}$$

$r = 0,9998$  significatif à 1% pour  $n=7$  .

L'ajustement au modèle  $y=ax + b$  a été accepté avec un risque de 0,01 par le test du F de Snedecor ( $F_{th} = 16,26$  ;  $F_{calc} = 12749$ ) et par le test du T de Student ( $T_{th} = 4,032$  ;  $T_{calc} = 112,9$ ).

## 2) L'acide benzoïque.

Le spectre U.V. de l'acide benzoïque montre que la molécule peut être dosée de façon quantitative à la longueur d'onde de 229 nm (figure 203 ).

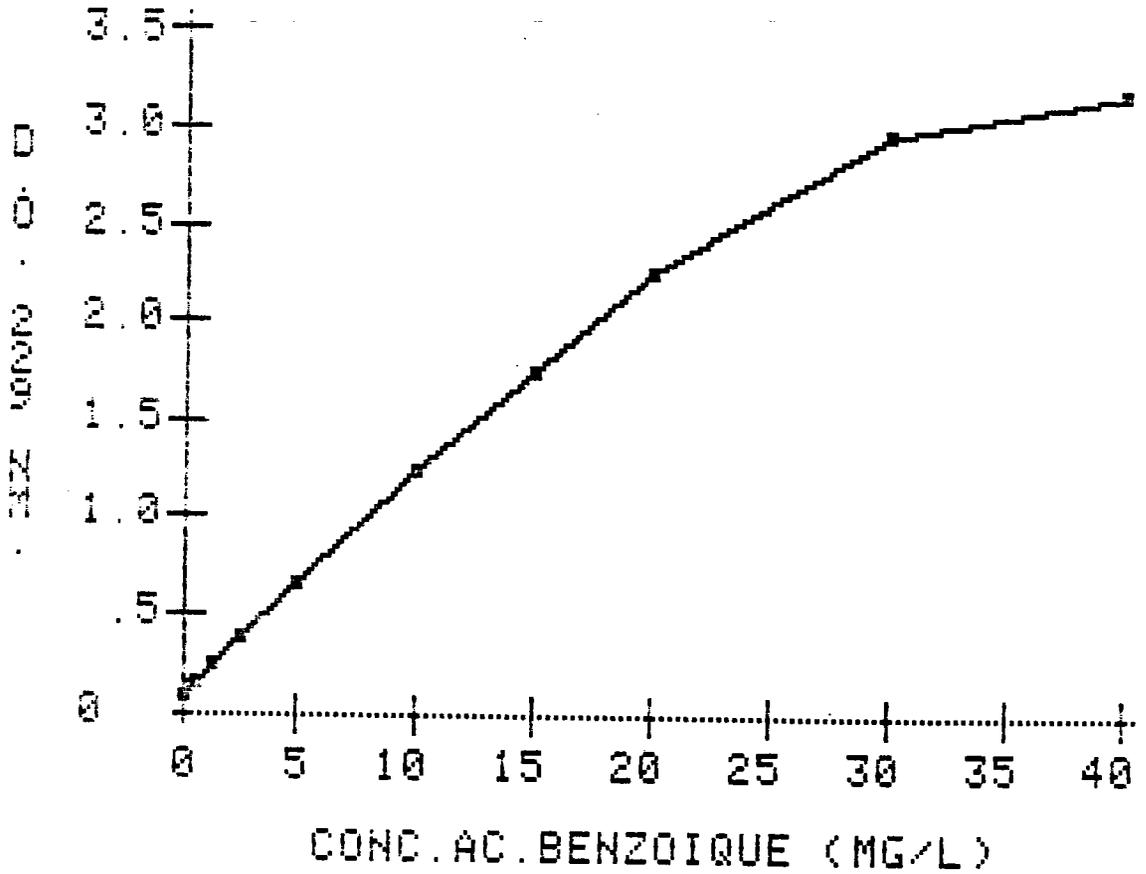


Figure 203 : Evolution de l'absorbance à 229 nm en fonction de la concentration en acide benzoïque .

Les mesures montrent que l'absorbance évolue de façon linéaire jusqu'à la concentration de 20 mg/l d'acide benzoïque suivant l'équation :

$$Y = 0,1096 X + 0,1054$$

$r = 0,9997$  significatif à 1% pour  $n = 9$  .

L'ajustement au modèle  $y=ax + b$  a été accepté avec un risque de 0,01 par le test du F de Snedecor ( $F_{th} = 12,25$  ;  $F_{calc} = 14224,2$ ), et par le test du T de Student ( $T_{th} = 3,499$  ;  $T_{calc} = 119,3$ ).

3) Le phénol.

Le spectre U.V. du phénol montre que la molécule peut être dosée de façon quantitative à la longueur d'onde de 268 nm (figure 204 ).

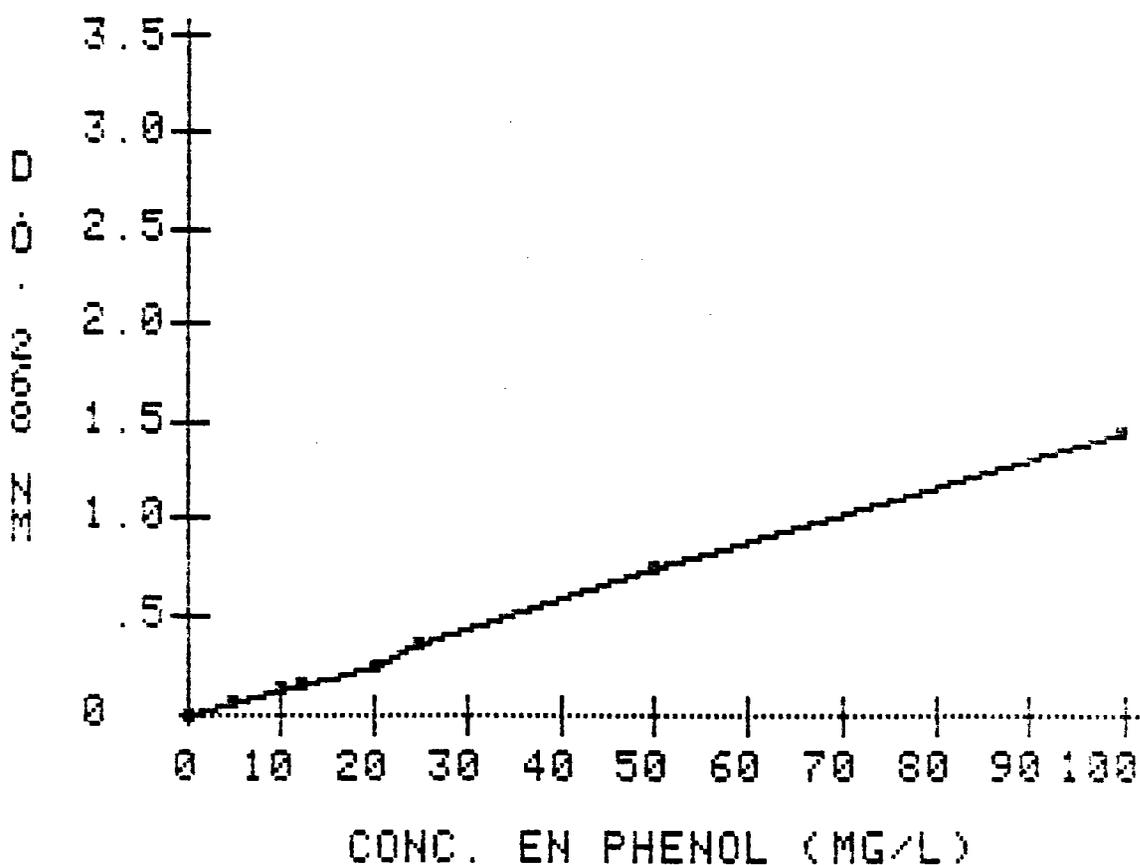


Figure 204 : Evolution de l'absorbance à 268 nm en fonction de la concentration en phénol.

Les mesures montrent que l'absorbance évolue de façon linéaire jusqu'à la concentration de 100 mg/l de phénol suivant l'équation :

$$Y = 0,01486X - 0,0221$$

$$r = 0,9994 \text{ significatif à } 1\% \text{ pour } n = 8 .$$

L'ajustement au modèle  $y=ax + b$  a été accepté avec un risque de 0,01 par le test du F de Snedecor ( $F_{th} = 13,75$  ;  $F_{calc} = 5373$ ) et par le test du T de Student ( $T_{th} = 3,707$  ;  $T_{calc} = 73,30$ ).

#### 4) Le benzaldéhyde.

Le spectre U.V. du benzaldéhyde montre que la molécule peut être dosée de façon quantitative à la longueur d'onde de 210 nm (figure 205 ).

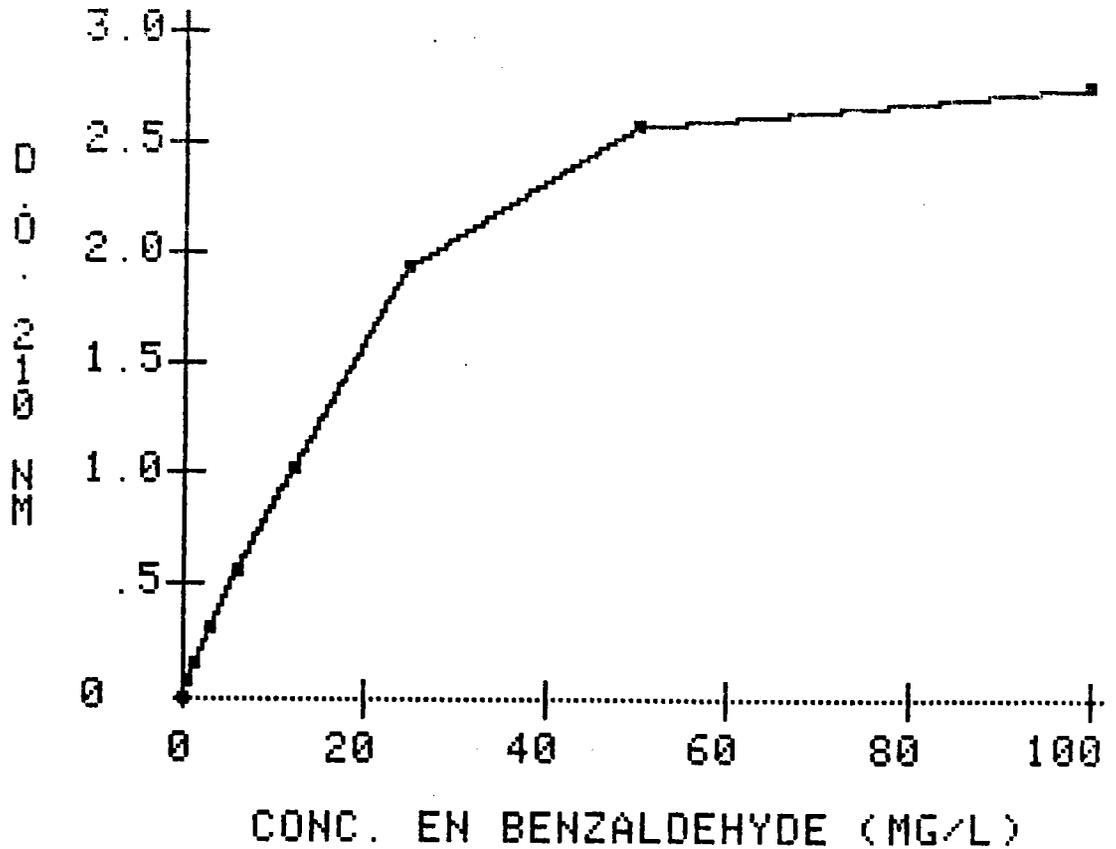


Figure 205 : Evolution de l'absorbance à 210 nm en fonction de la concentration en benzaldéhyde.

Les mesures montrent que l'absorption évolue de façon linéaire jusqu'à la concentration de 25 mg/l de benzaldéhyde suivant l'équation :

$$Y = 0,0772X + 0,0404$$

$r = 0,9989$  significatif à 1% pour  $n = 7$  .

L'ajustement au modèle  $y=ax + b$  a été accepté avec un risque de 0,01 avec le test du F de Snedecor ( $F_{th} = 16,26$  ;  $F_{calc} = 2239$ ) et du T de Student ( $T_{th} = 4,032$  ;  $T_{calc} = 47,33$ ).

## ANNEXE IV

Gammes étalons en U.V. de :

- l'acide carbazole monosulfonique

- l'acide benzoïque

dans une solution aqueuse amenée à pH = 6,25 avec une

solution NaOH 0,1N.

I) L'acide carbazole monosulfonique à 294 nm.

Le spectre U.V. de l'acide carbazole monosulfonique montre que la molécule peut être dosée de façon quantitative à la longueur d'onde de 294 nm (figure 206 ).

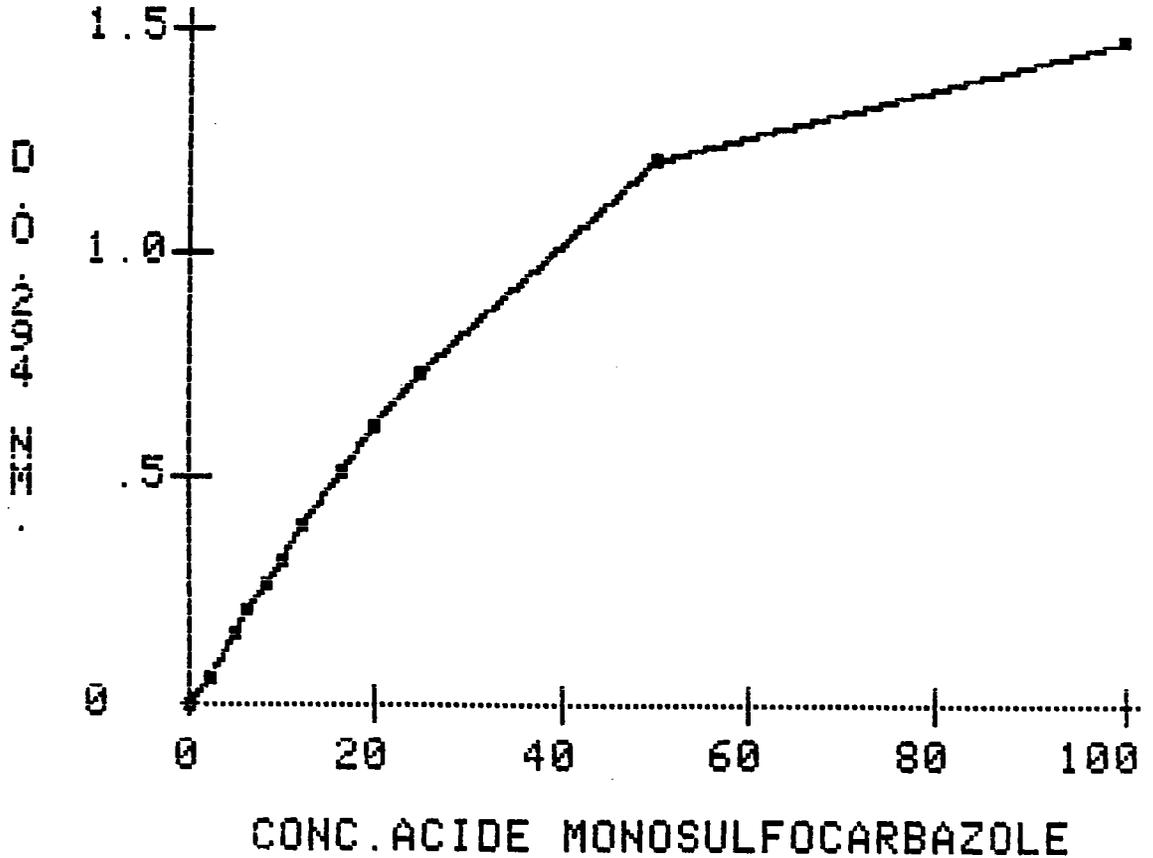


Figure 206 : Evolution de l'absorbance à 294 nm en fonction de la concentration en acide carbazole monosulfonique.

Les mesures montrent que l'absorbance évolue de façon linéaire jusqu'à la concentration de 25 mg/l d'acide carbazole monosulfonique suivant l'équation :

$$Y = 0,0298X + 6,88 \cdot 10^{-3}$$

$$r = 0,9987 \text{ significatif à } 1\% \text{ pour } n = 10$$

L'ajustement au modèle  $y=ax + b$  a été accepté avec un risque de 0,01 par le test du F de Snedecor ( $F_{th} = 11,26$  ;  $F_{calc} = 3169$ ) et du T de Student ( $T_{th} = 3,355$  ;  $T_{calc} = 56,30$ )

## 2) L'acide benzoïque à 229 nm

Le spectre U.V. de l'acide benzoïque montre que la molécule peut être dosée de façon quantitative à la longueur d'onde de 229 nm (figure 207 ).

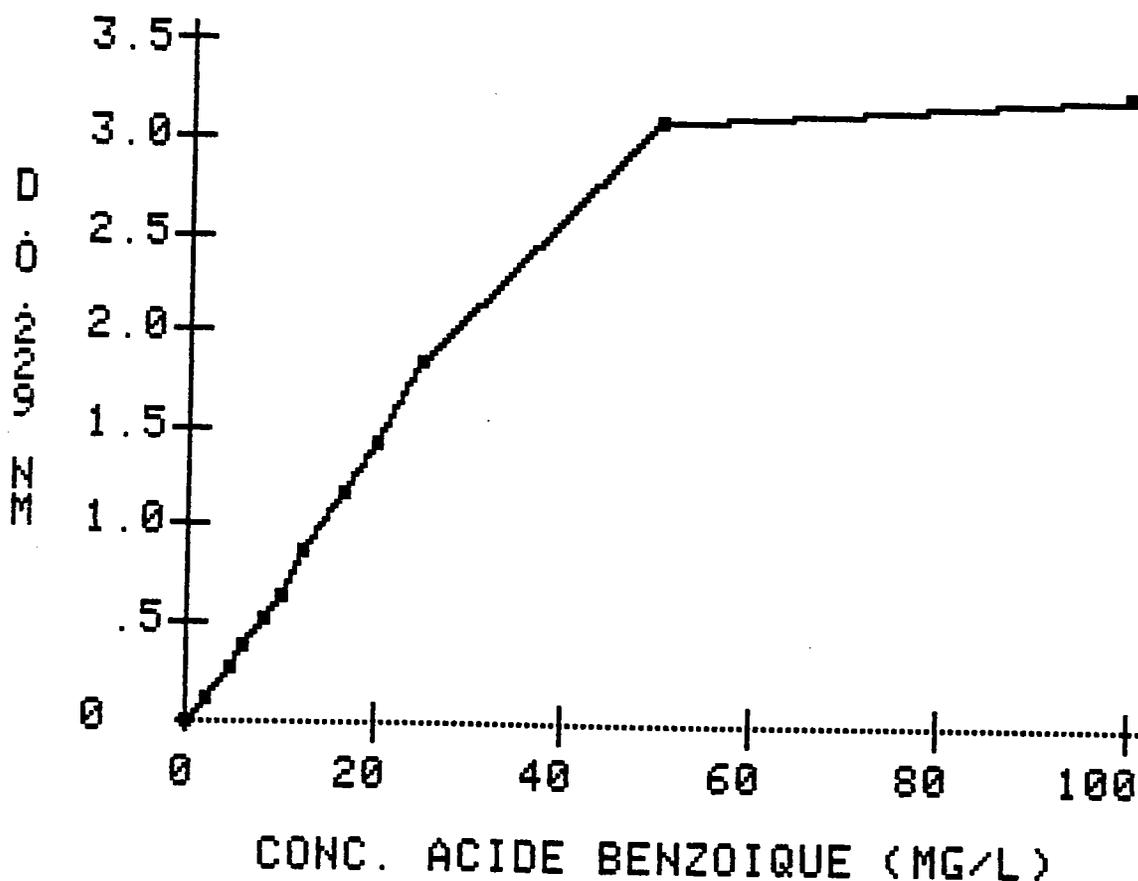


Figure 207 : Evolution de l'absorbance à 229 nm en fonction de la concentration en acide benzoïque.

Les mesures montrent que l'absorbance évolue de façon linéaire jusqu'à la concentration de 25 mg/l d'acide benzoïque suivant l'équation :

$$Y = 0,0749X - 0,0713$$

$r = 0,9986$  significatif à 1% pour  $n = 10$  .

L'ajustement au modèle  $y=ax + b$  a été accepté avec un risque de 0,01 par le test du F de Snedecor ( $F_{th} = 11,26$  ;  $F_{calc} = 2846$ ) et du T de Student ( $T_{th} = 3,355$  ;  $T_{calc} = 53,35$ ).

3) L'acide carbazole sulfonique à 229 nm.

Le spectre U.V. montre que l'acide carbazole sulfonique adsorbe à 229 nm.

L'étude de son absorbance en fonction de la concentration est représentée par la figure 208 .

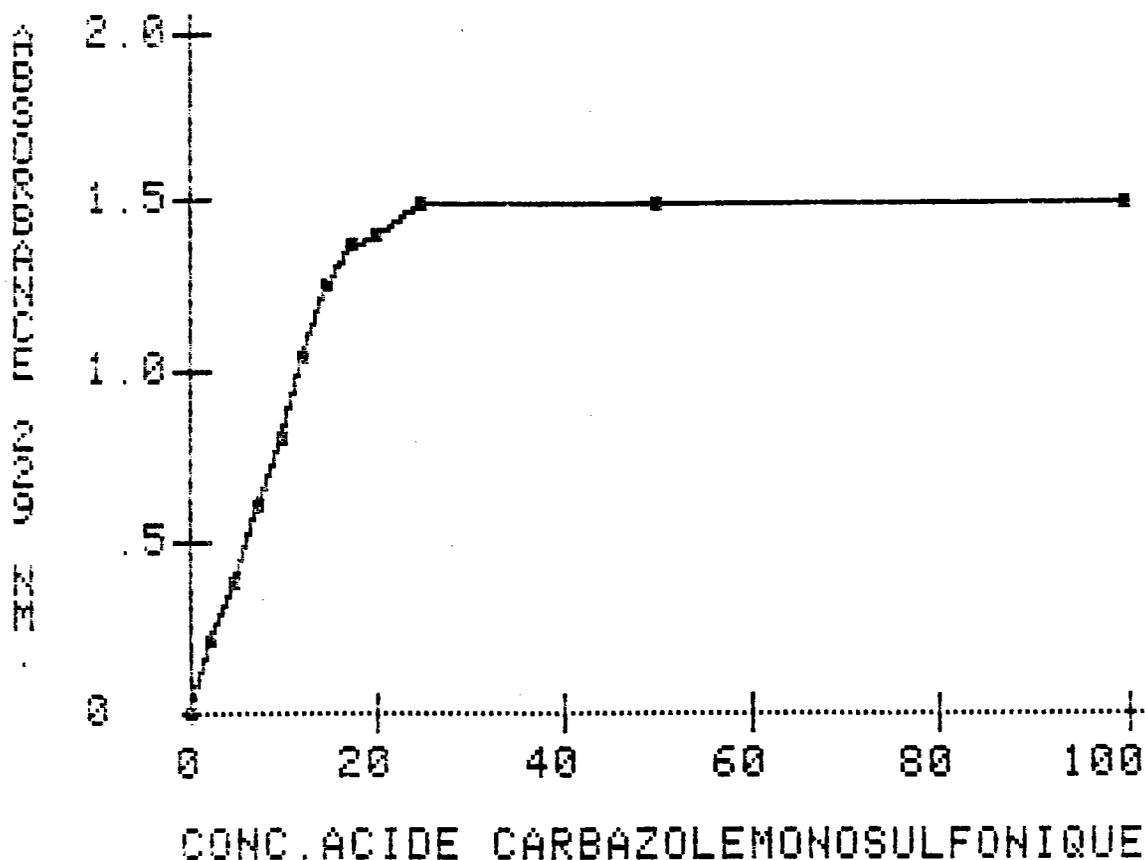


Figure 208 : Evolution de l'absorbance à 229 nm en fonction de la concentration en acide carbazole monosulfonique.

Les mesures montrent que l'absorbance évolue de façon linéaire jusqu'à la concentration de 15 mg/l d'acide carbazole monosulfonique :

$$Y = 0,0832X - 0,0139$$

$r = 0,9993$  significatif à 1% pour  $n = 7$ .

L'ajustement au modèle  $y=ax + b$  a été accepté avec un risque de 0,01 par le test du F de Snedecor ( $F_{th} = 16,26$  ;  $F_{calc} = 3417$ ) et du T de Student ( $T_{th} = 4,032$  ;  $T_{calc} = 58,45$ ).

# **ANNEXE V**

**Caractéristiques Biochimiques des différentes espèces**

**bactériennes identifiées.**

Tableau LXI : Caractéristiques biochimiques des souches de la suspension à 0,5g/l de carbazole (culture n° I).

Souches : caractères étudiés	Flavobacterium sp.1	Flavobacterium sp.2	Kurthia sp.1	Kurthia sp.2	Agrobacterium sp.1
Gélatine	-	-	+1	+	-
Nitrates	-	-	-	+	-
ONPG	-	-	-	-	+
Saccharose	-	-	-	-	+
L(+)-Arabinose	-	+1	-	-	+
Mannitol	-	-	-	-	-
Fructose	-	+1	-	-	+
Glucose	+	+	-	-	+
Maltose	-	-	-	-	+
Amidon	-	-	-	-	+
Rhamnose	-	-	-	-	-
Galactose	+	+	-	-	+
Mannose	+	+	-	-	+
Sorbitol	-	-	-	-	-
Glycérol	-	+	-	-	-
Urée	-	-	-	+	+
Indole	-	-	-	-	-
H <sub>2</sub> S	-	-	-	-	-
V.P.	-	-	-	-	-
Citrate	+	+	+	-	-
Oxydase	+	+	+	+	-
Catalase	+	+	+	+	+
OF.F	O	O	I	I	I
Lactose	-	-	-	-	-
Lévilose	-	-	-	-	-
Mobilité	-	-	+	-	+
Morphologie	B	B	B	B	B
Gram	-	-	+	+	-

Tableau LXII : Caractéristiques biochimiques des souches de la suspension à 2 et 10g/l de carbazole (cultures n° 2 et 3).

Souches : caractères étudiés	Flavobac- terium sp.1	Flavobac- terium sp.2	Kurthia sp.1	Kurthia sp.2	Kurthia sp.3	Agrobac- terium sp.1
Gélatine	-	-	+1	+	-	-
Nitrates	-	-	-	+	+	-
ONPG	-	-	-	-	-	+
Saccharose	-	-	-	-	-	+
L(+)-Arabinose	-	+1	-	-	-	+
Mannitol	-	-	-	-	-	-
Fructose	-	+1	-	-	-	+
Glucose	+	+	-	-	-	+
Maltose	-	-	-	-	-	+
Amidon	-	-	-	-	-	+
Rhamnose	-	-	-	-	-	-
Galactose	+	+	-	-	-	+
Mannose	+	+	-	-	-	+
Sorbitol	-	-	-	-	-	-
Glycérol	-	+	-	-	-	-
Urée	-	-	-	+	+	+
Indole	-	-	-	-	-	-
H <sub>2</sub> S	-	-	-	-	-	-
V.P.	-	-	-	-	-	-
Citrate	+	+	+	-	-	-
Oxydase	+	+	+	+	-	-
Catalase	+	+	+	+	+	+
OF.F	O	O	I	I	I	I
Lactose	-	-	-	-	-	-
Lévilose	-	-	-	-	-	-
Mobilité	-	-	+	-	-	+
Morphologie	B	B	B	B	B	B
Gram	-	-	+	+	+	-

Tableau LXIII : Caractéristiques biochimiques des souches de la suspension à 10 et 50g/l de carbazole ensemencées avec la boue activée du 5/I2/84 (cultures n° 4 et 5).

Souches: caractères étudiés	Flavobacterium sp.3	Flavobacterium sp.4	Kurthia sp.4
Gélatine	-	-	-
Nitrates	-	-	-
ONPG	-	-	-
Saccharose	-	-	-
L(+)Arabinose	-	-	-
Mannitol	-	-	-
Fructose	-	-	-
Glucose	+	+	-
Maltose	-	-	-
Amidon	-	-	-
Rhamnose	-	-	-
Galactose	-	-	-
Mannose	-	-	-
Sorbitol	-	-	-
Glycérol	-	-	-
Urée	-	-	-
Indole	-	-	-
H <sub>2</sub> S	-	-	-
V.P.	-	-	-
Citrate	+	+	-
Oxydase	+	+	+
Catalase	+	+	+
OF.F	I	I	I
Lactose	-	-	-
Lévulose	-	-	-
Mobilité	-	-	-
Morphologie	B	B	B
Gram	-	-	+

Tableau LXIV : Caractéristiques biochimiques des deux souches isolées de la suspension à 10g/l ensemencée avec les bactéries de l'huile anthracénique de MARIENAU (culture n° 6).

Souches : caractères étudiés	Flavobacterium sp.5	Pseudomonas sp.2
Gélatine	+	+
Nitrates	+	-
ONPG	-	-
Saccharose	-	-
L(+)Arabinose	+1	+1
Mannitol	+	+
Fructose	+1	+1
Glucose	+	+
Maltose	+	-
Amidon	-	-
Rhamnose	-	+1
Galactose	+	+
Mannose	+	+
Sorbitol	-	+1
Glycérol	+	+
Urée	-	-
Indole	-	-
H <sub>2</sub> S	-	-
V.P.	-	-
Citrate	+	+
Oxydase	+	+
Catalase	+	+
OF.F	0	0
Lactose	-	-
Lévilose	-	-
Mobilité	-	-
Morphologie	B	B
Gram	-	-

Tableau LXV : Caractéristiques biochimiques des trois souches isolées de la suspension à 10g/lensemencée avec les bactéries de l'huile de Chrysène de MARIENAU (culture n° 7).

Souches : caractères étudiés	Arthrobac- terium sp.1	Arthrobac- terium sp.2	Flavobac- terium sp.6
Gélatine	+	-	+
Nitrates	+	-	-
ONPG	-	+	-
Saccharose	-	+1	+
L(+)-Arabinose	-	+1	+
Mannitol	-	+1	+
Fructose	+	+1	+
Glucose	+	+1	-
Maltose	+	+1	-
Amidon	+	+1	-
Rhamnose	-	+1	+
Galactose	-	+1	+
Mannose	-	+1	-
Sorbitol	-	+1	+
Glycérol	-	+1	-
Urée	-	+1	-
Indole	-	+1	-
H <sub>2</sub> S	-	+1	-
V.P.	+	-	-
Citrate	-	-	+
Oxydase	+1	-	+
Catalase	+	+	+
OF.F	I	I	O
Lactose	-	-	-
Lévuiose	-	-	-
Mobilité	-	-	-
Morphologie	B	B	B
Gram	+	+	-

Tableau LXVI : Caractéristiques biochimiques des sept souches isolées de la suspension à 10g/l ensemencée avec les bactéries provenant de l'échantillon de Brai de MARIENAU (culture n° 8).

Souches : caractères étudiés	Kurthia : sp.5	Kurthia : sp.6	Pseudomonas : sp.3	Pseudomonas : sp.4	Flavobacterium : sp.7	Arthrobacterium : sp.3	Corynebacterium : sp.2
Gélatine	+	+	-	-	-	+	+
Nitrates	+	-	-	-	-	+	-
ONPG	+	-	-	-	-	+	+
Saccharose	-	+1	-	-	-	+	+
L(+)Arabinose	-	+	-	-	-	+	+
Mannitol	-	+	-	-	-	+	+
Fructose	-	-	-	-	-	+	+
Glucose	-	-	+	+	+	+	+
Maltose	-	-	-	-	-	+	+
Amidon	-	-	-	-	-	+	+1
Rhamnose	-	-	-	-	-	+1	+
Galactose	-	-	-	-	-	+1	+
Mannose	-	-	-	-	-	+1	+
Sorbitol	-	-	-	-	-	+1	-
Glycérol	-	-	-	-	-	+1	-
Urée	-	+	-	-	-	-	-
Indole	-	-	-	-	-	-	-
H <sub>2</sub> S	-	-	-	-	-	-	-
V.P.	-	-	-	-	-	-	+
Citrate	-	-	-	-	-	-	+
Oxydase	-	-	-	-	-	+1	+
Catalase	+	+	+	+	-	+	+
OF.F	I	I	I	I	I	I	I
Lactose	-	-	-	-	-	-	-
Lévilose	-	-	-	-	-	-	-
Mobilité	-	-	-	-	-	-	-
Morphologie	B	B	B	B	B	B	B
Gram	+	+	-	-	-	+	+

Tableau LXVII : Caractéristiques biochimiques des deux bactéries isolées après le premier repiquage de la culture ensemencée avec les bactéries de l'échantillon du 24/II/I984 prélevé à la station d'épuration de METZ (culture n° 9).

Souches : caractères étudiés	Corynebacterium sp.3	Agrobacterium sp.2
Gélatine	-	-
Nitrates	-	-
ONPG	+	-
Saccharose	+	+
L(+)Arabinose	+1	+
Mannitol	+1	+
Fructose	+	+
Glucose	+	+
Maltose	+	+
Amidon	+1	+1
Rhamnose	+1	+
Galactose	+1	+
Mannose	+1	+
Sorbitol	+1	+
Glycérol	+1	+
Urée	+	-
Indole	-	-
H <sub>2</sub> S	-	-
V.P.	-	-
Citrate	-	+
Oxydase	+	+
Catalase	+	+
OF.F	I	O
Lactose	-	-
Lévilose	-	-
Mobilité	-	+
Morphologie	B	B
Gram	+	-

Tableau LXVIII: Caractéristiques biochimiques des quatre bactéries isolées lors du premier repiquage de la culture ensemencée avec les bactéries de l'échantillon du 5/12/1984 prélevé à la station d'épuration de METZ (culture n° 10).

Souches : caractères étudiés	Flavobac- terium sp.8	Corynebac- terium sp.4	Corynebac- terium sp.5	Agrobac- terium sp.3
Gélatine	-	-	-	+
Nitrates	+	+	-	+
ONPG	+	-	-	-
Saccharose	+	+	+	+1
L(+)Arabinose	+	-	+1	+
Mannitol	+	-	+1	+
Fructose	+	+	+	+
Glucose	+	+	+	+
Maltose	+	+	+	-
Amidon	+	+1	+1	-
Rhamnose	+1	+1	+1	+1
Galactose	+	+1	+1	+
Mannose	+	+1	+1	+
Sorbitol	-	+1	+1	+
Glycérol	-	+	+	+
Urée	+	+	+	-
Indole	-	-	-	-
H <sub>2</sub> S	-	-	-	-
V.P.	-	-	-	-
Citrate	-	-	-	+
Oxydase	+	-	-	+
Catalase	+	+	+	+
OF.F	F	F	F	O
Lactose	-	-	-	-
Lévilose	-	-	-	-
Mobilité	-	-	-	+
Morphologie	B	B	B	B
Gram	-	+	+	-

Tableau LXIX : Caractéristiques biochimiques des souches du milieu  
 100/20/4, pH = 6,20, Acide carbazole sulfonique à  
 10g/l (culture n° II) .

Souches:	:Pseudomo- :nas sp.5	:Pseudomo- :nas sp.6	:Pseudomo- :nas sp.7	:Pseudomo- :nas sp.8	:Pseudomo- :nas sp.9	:Flavobac- :terium sp.10	:Flavobac- :terium sp.11
Gélatine	-	-	-	-	-	-	+
Nitrates	-	-	+	-	+	-	+
ONPG	-	-	-	-	-	-	-
Saccharose	-	-	-	-	-	-	-
L(+)-Arabinose	+1	-	+1	-	-	-	+
Mannitol	-	-	+	-	-	-	+
Fructose	-	-	-	-	-	-	-
Glucose	+	-	+	-	-	-	-
Maltose	-	-	-	-	-	-	-
Amidon	-	-	-	-	-	-	-
Rhamnose	-	-	-	-	-	-	-
Galactose	+1	-	+	-	-	-	-
Mannose	+1	-	+	-	-	-	-
Sorbitol	-	-	-	-	-	-	-
Glycérol	-	-	-	-	-	-	-
Urée	-	-	-	-	-	+	-
Indole	-	-	-	-	-	-	-
H <sub>2</sub> S	-	-	-	-	-	-	-
V.P.	-	-	-	-	-	-	-
Citrate	+	-	+	+	+	-	-
Oxydase	+	+	+	+	-	+	-
Catalase	+	+	+	+	+	+	-
OF.F	O	O	O	O	I	O	O
Lactose	-	-	-	-	-	-	-
Lévuiose	-	-	-	-	-	-	-
Mobilité	+	+	+	+	+	+	+
Morphologie	B	B	B	B	B	B	B
Gram	-	-	-	-	-	-	-

## ANNEXE VI

Masses de carbazole mesurées dans les phases SI et LIIsec des

cinq échantillons des culturesensemencées par Agrobacterium sp.2,

par Corynebacterium sp.3 et par leur culture mixte.

Tableau LXX : Masse de carbazole contenue dans les phases SI et LII sec de la culture ensemencée avec Agrobacterium sp.2.

Age du prélèvement après ensemencement (j)	SI (g)	Q SI (g)	LII sec (g)	QLII sec (g)
2	0,16235	0,0362 ± 0,0005	5,82699	0,0026 ± 0,0004
3	0,15777	0,0571 ± 0,0008	5,53628	0,009 ± 0,001
4	3,97439	3,4 ± 0,1	6,76272	0,015 ± 0,002
6	15,62105	15,4 ± 0,3	6,63574	0,007 ± 0,001
8	29,93045	29,1 ± 0,5	5,99504	0,007 ± 0,001

Tableau LXXI : Masse de carbazole contenue dans les phases SI et LII sec de la cultureensemencée avec Corynebacterium sp.3.

Age du prélèvement après ensemencement(j)	SI (g)	Q SI (g)	LII sec (g)	Q LII sec (g)
2	11,05046	10,7 ± 0,2	7,01031	0,0055 ± 0,0009
3	9,37416	9,2 ± 0,1	6,74202	0,006 ± 0,001
4	8,90397	8,7 ± 0,1	13,74231	0,047 ± 0,008
6	4,72035	4,6 ± 0,1	7,83035	0,015 ± 0,002
8	14,78941	14,5 ± 0,2	5,05183	0,0051 ± 0,0008

## **ANNEXE VII**

Evolution des populations cellulaires des cultures avec  
tensioactifs P94 et P103 et avec ou sans substrat carbazole.

Tableau LXXII : Masse de carbazole contenue dans les phases SI et LII sec de la culture ensemencée avec Agrobacterium sp.2 et Corynebacterium sp.3.

Age du prélèvement après ensemencement (j):	SI (g)	Q SI (g)	LII sec (g)	Q LII sec (g)
2	11,31074	11,0 ± 0,2	4,84	0,0008 ± 0,0002
3	8,70194	8,6 ± 0,1	3,76	0,0075 ± 0,0002
4	5,0789	4,8 ± 0,3	5,52	0,039 ± 0,0003
6	4,6057	4,4 ± 0,1	5,04	0,025 ± 0,02
8	17,1649	16,9 ± 0,3	4,37	0,0015 ± 0,0005

Tableau LXXIII : Evolution des populations bactériennes des cultures ensemencées avec BAI ou BA2 et qui contiennent le carbazole et les tensioactifs P94 et PI03.

		: Population bactérienne $10^6$ UFC / ml			
: Numéro de	: Provenance des	: Après	: 3 jours	: 7 jours	: 10 jours
: la culture	: microorganismes	: ensemencement	: après ensemencement	: après ensemencement	: après ensemencement
: I4	:	: 0,5 - 0,9	: 0,3 - 0,6	: 0,6 - 1	: 0,2 - 0,5
: 22	: BAI	: 0,6 - 1	: $10^2$ - $3 \cdot 10^2$	: $2 \cdot 10^3$ - $4 \cdot 10^3$	: $3 \cdot 10^3$ - $6 \cdot 10^3$
: 23	:	: 0,7 - 1,1	: $3 \cdot 10^2$ - $6 \cdot 10^2$	: $4 \cdot 10^3$ - $7 \cdot 10^3$	: $5 \cdot 10^3$ - $18 \cdot 10^3$
: 24	:	: 0,5 - 0,9	: $9 \cdot 10^2$ - $1,3 \cdot 10^3$	: $1,7 \cdot 10^3$ - $2,3 \cdot 10^3$	: $5,2 \cdot 10^3$ - $8,5 \cdot 10^3$
: 18	:	: 0,5 - 0,9	: 0,4 - 0,8	: 0,2 - 0,5	: 0,1 - 0,3
: 25	: BA2	: 3,0 - 5,6	: $10^2$ - $1,4 \cdot 10^2$	: $3 \cdot 10^3$ - $6 \cdot 10^3$	: $10^4$ - $3 \cdot 10^4$
: 26	:	: 2,7 - 5,2	: $1,1 \cdot 10^2$ - $1,5 \cdot 10^2$	: $6 \cdot 10^3$ - $9 \cdot 10^3$	: $2 \cdot 10^4$ - $4 \cdot 10^4$
: 27	:	: 2,9 - 5,5	: $1,2 \cdot 10^2$ - $1,6 \cdot 10^2$	: $10^4$ - $2 \cdot 10^4$	: $2 \cdot 10^4$ - $4 \cdot 10^4$

Les cultures I4 et I8 sont les témoins de l'expérience sans carbazole et sans tensioactif.

Tableau LXXIV : Evolution des populations bactériennes des cultures  
ensemencées avec BAI ou BA2 et qui contiennent les  
tensioactifs P94 et PI03 seuls.

Numéro de la culture	Provenance des microorganismes	Population bactérienne initiale $10^6$ UFC/ml	Population bactérienne 10 jours après ensemencement $10^6$ UFC/ml
I4	BAI	0,5 - 0,9	0,2 - 0,5
I5		0,6 - 1	0,2 - 0,4
I6		0,4 - 0,9	0,3 - 0,6
I7		0,5 - 0,9	0,3 - 0,5
I8		0,5 - 0,9	0,1 - 0,3
I9	BA2	0,8 - 1,2	0,6 - 0,9
20		0,9 - 1,3	0,8 - 1,2
21		0,5 - 0,9	0,8 - 1,2

Les cultures I4 et I8 sont les témoins de l'expérience sans carba-  
zole et sans tensioactif.

## ANNEXE VIII

Chromatogrammes des phases Dichlorométhane des cultures

Agrobacterium sp.2, Corynebacterium sp.3 et de leur culture

mixte.



HERNIM-SILHAK V 3.0  
FILE # 101  
CHECK 10

[ 64, 8 ]

13-DEC-86 15:14  
13-DEC-86 10:48

100% = 214256768

TIC=0

BASE PEAK=38 (214256768)

25 49 74 98 123 147 171 195

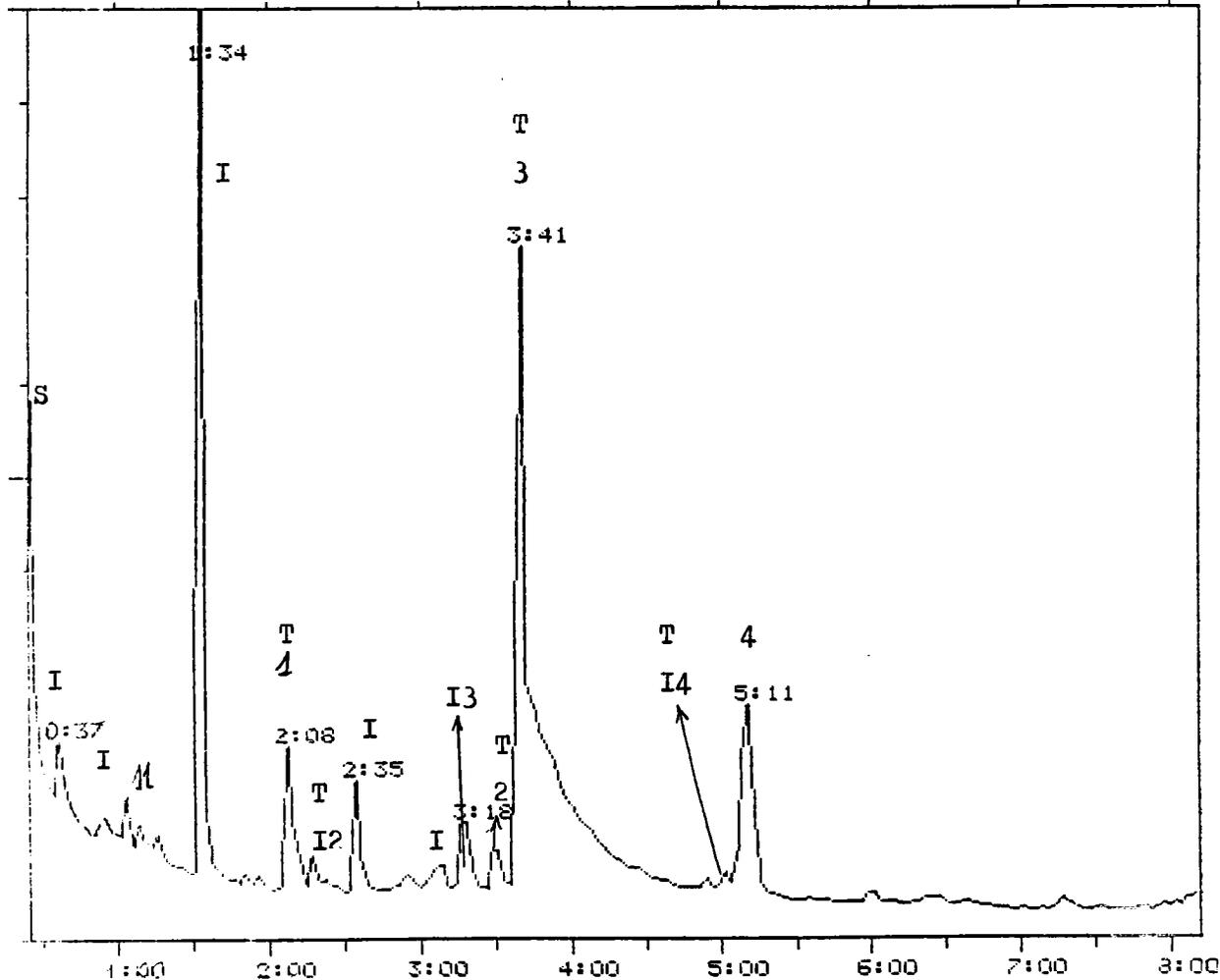


Figure 210a: Chromatogramme de la phase dichlorométhane silylée de l'échantillon âgé de trois jours après ensemencement avec Agrobacterium sp.2.

000000000000 0 3.0  
FILE: 81: T01  
000000000000

[ 64, 81

13-DEC-86 15:17  
13-DEC-86 10:48

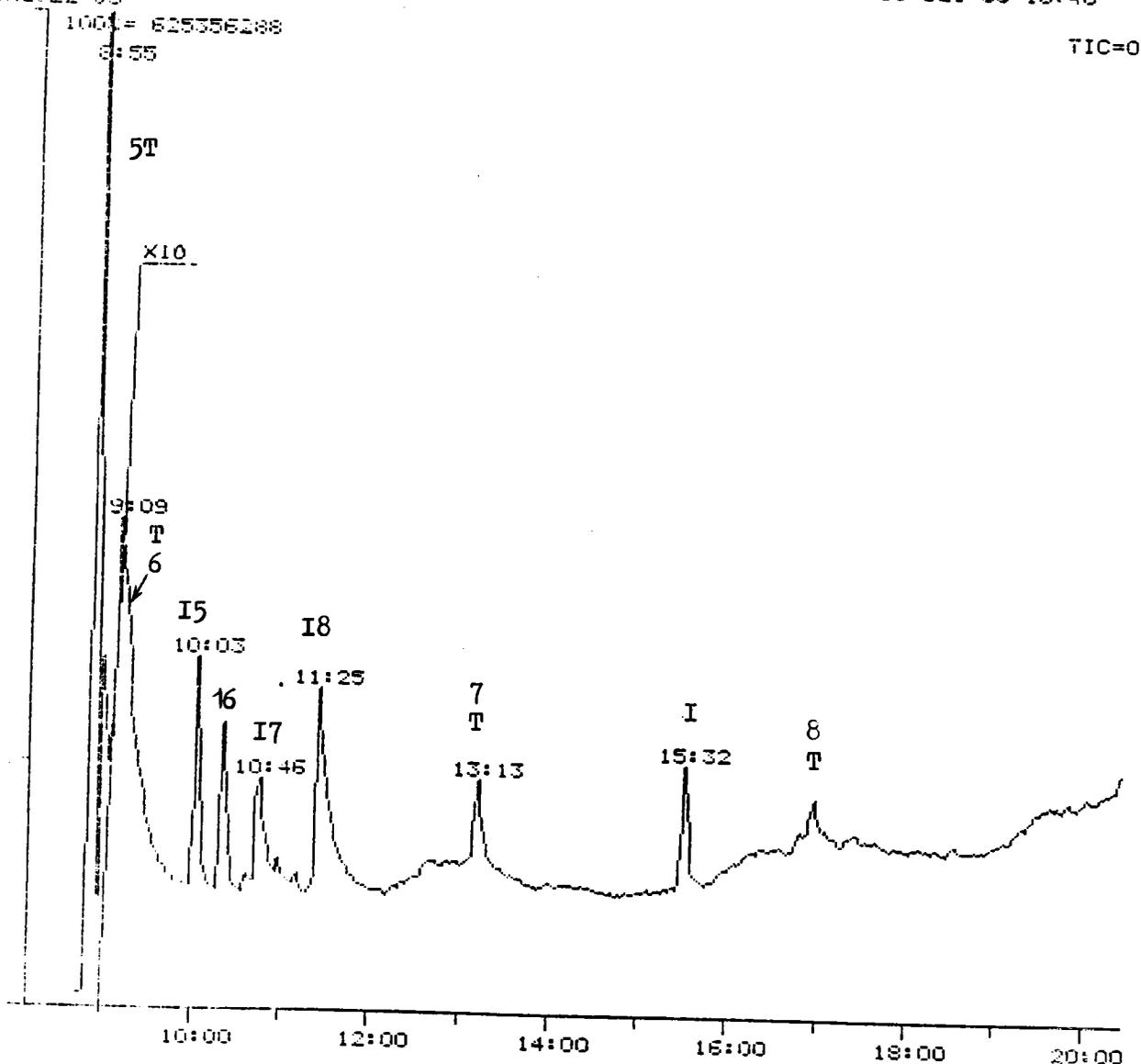


Figure 210 b : Chromatogramme de la phase dichlorométhane silylée de l'échantillon âgé de trois jours après ensemencement avec Agrobacterium sp.2. (suite de la figure 210 a).

HEPNAO/SIDAR U 3.0  
FILE A: TOK  
CH2CL2 J4

[ 64, 8]

13-DEC-86 11:45  
13-DEC-86 10:09

100% = 109597568

TIC=0

BASE PEAK=390 (109597568)

49

98

147

196

245

294

343

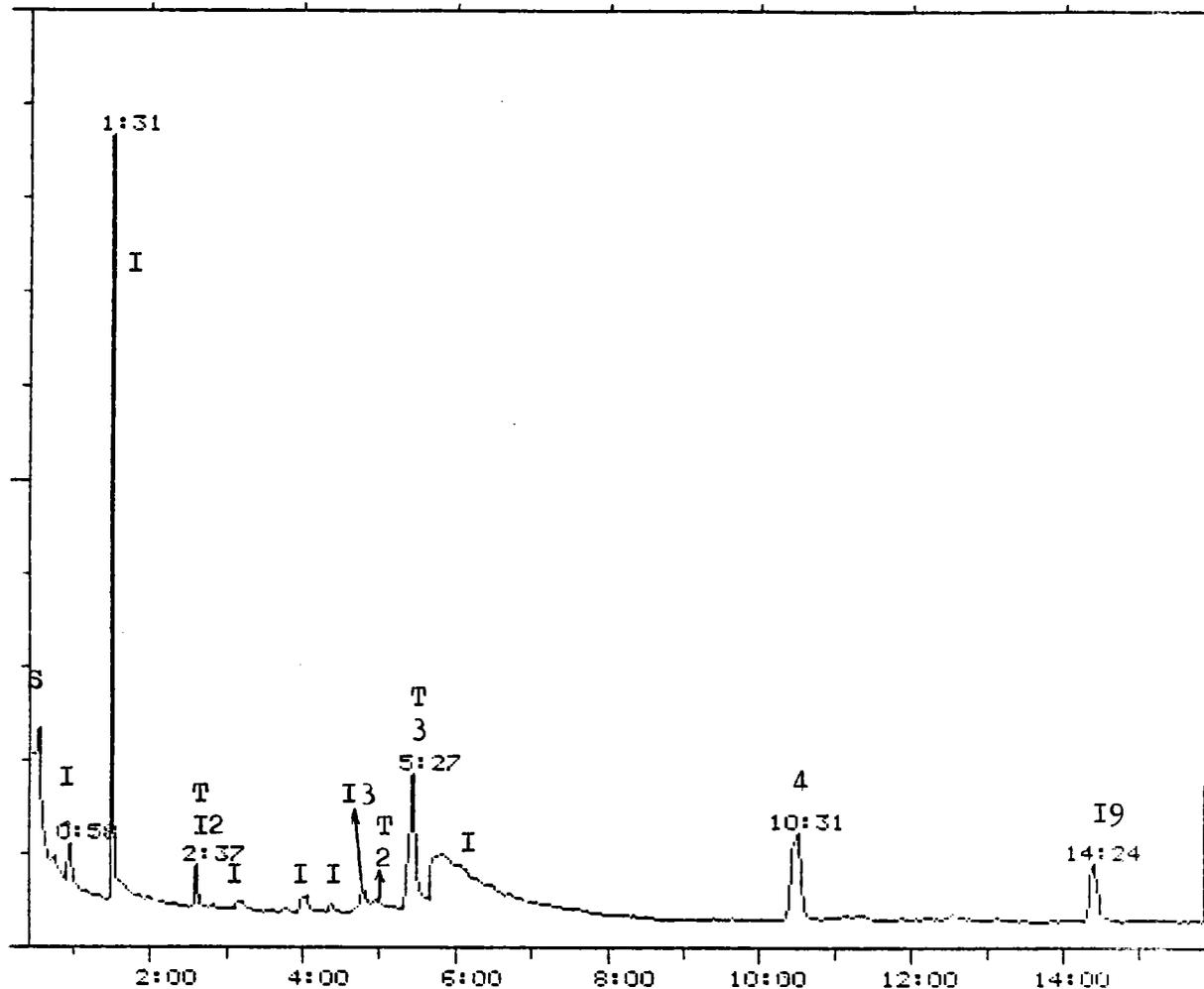


Figure 2II a : Chromatogramme de la phase dichlorométhane silylée de l'échantillon âgé de quatre jours après ensemencement avec Agrobacterium sp.2.

HERNHO/SIDAR U 3.0  
FILE #4: TD:  
CH2CL2 J4

[ 64, 8 ]

13-DEC-86 11:47  
13-DEC-86 10:09

100% = 168361344  
BASE PEAK = 391 (168361344)  
392            441            490

TIC=0

539            588            637            686

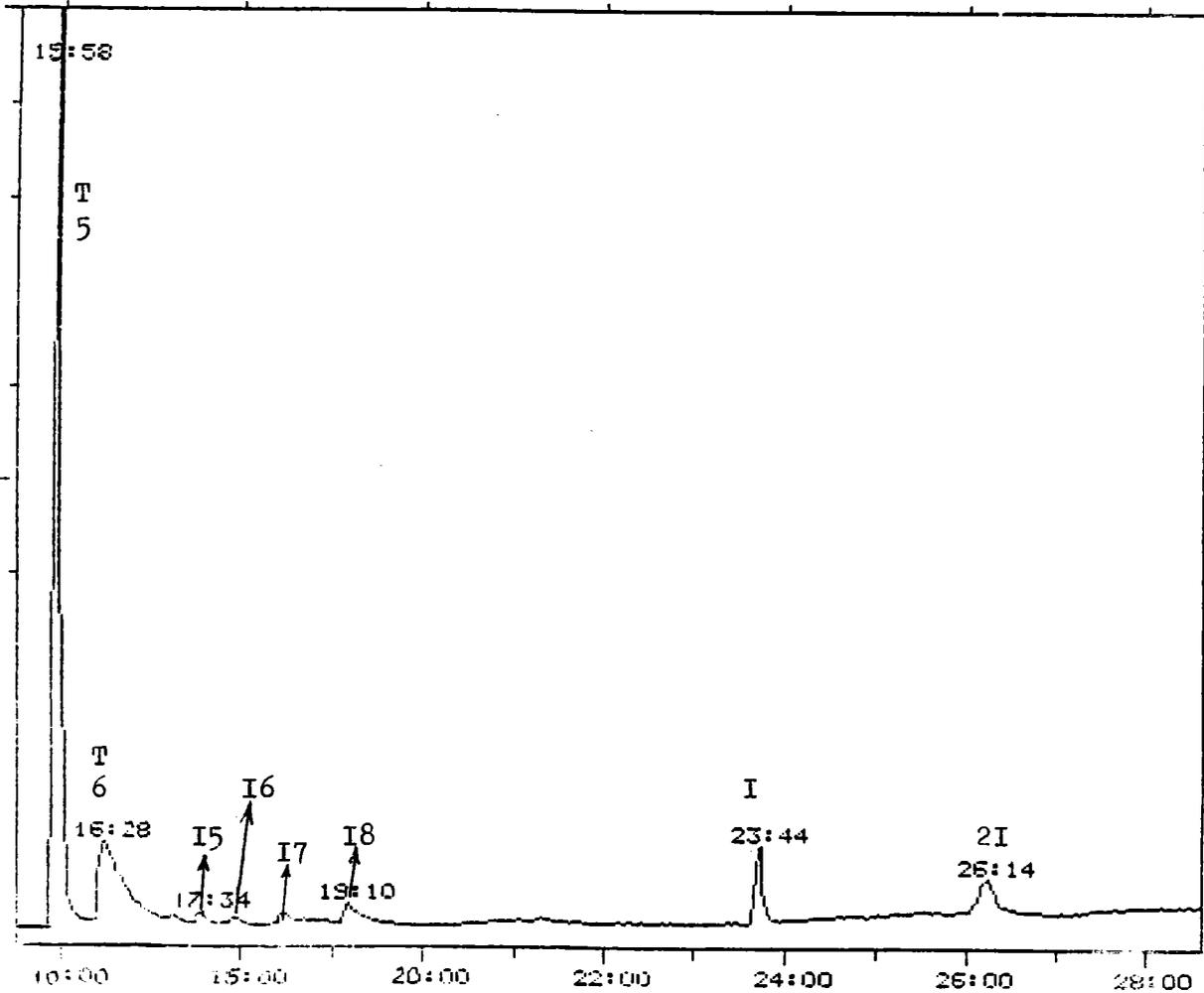


Figure 2II b : Chromatogramme de la phase dichlorométhane silylée de l'échantillon âgé de quatre jours après ensemencement avec Agrobacterium sp.2. (suite de la figure 2II a).

NERMAC/SIDAR V 3.0  
FILE # : 10X  
J6-CH2CL2-ESTFA

[ 64. 81

01-OCT-96 01:03  
13-DEC-96 17:38

100% = 203015168  
BASE PEAK = 215 (203015168)

TIC=0

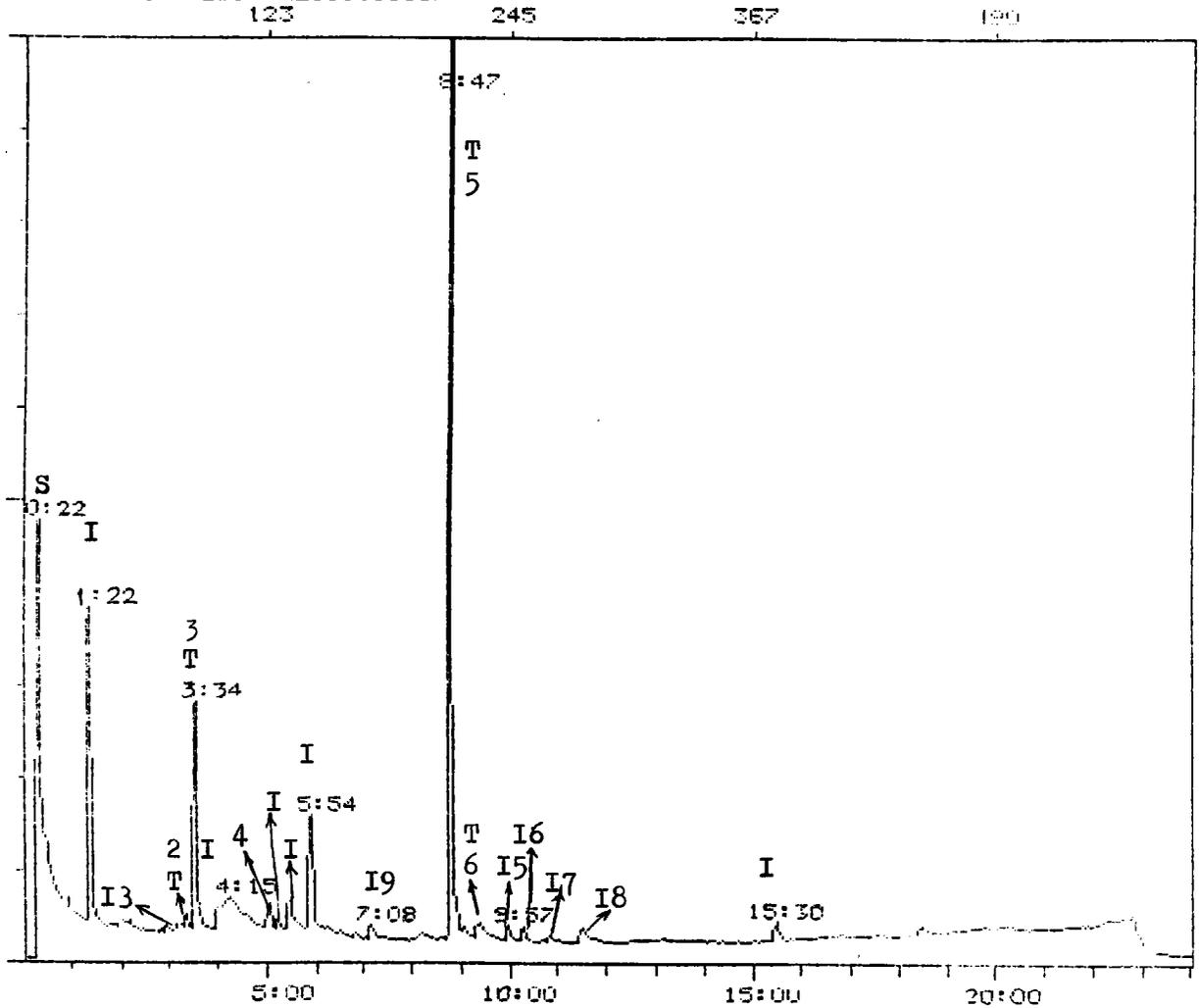


Figure 2I2 : Chromatogramme de la phase dichlorométhane silylée de l'échantillon âgé de six jours après ensemencement avec Agrobacterium sp.2.



HERMAG/SIDAR U 310  
FILE # J200RY  
J200RY CHECL1

[ 64, 81

28-MAR-87 09:59  
14-MAR-87 15:49

T1000

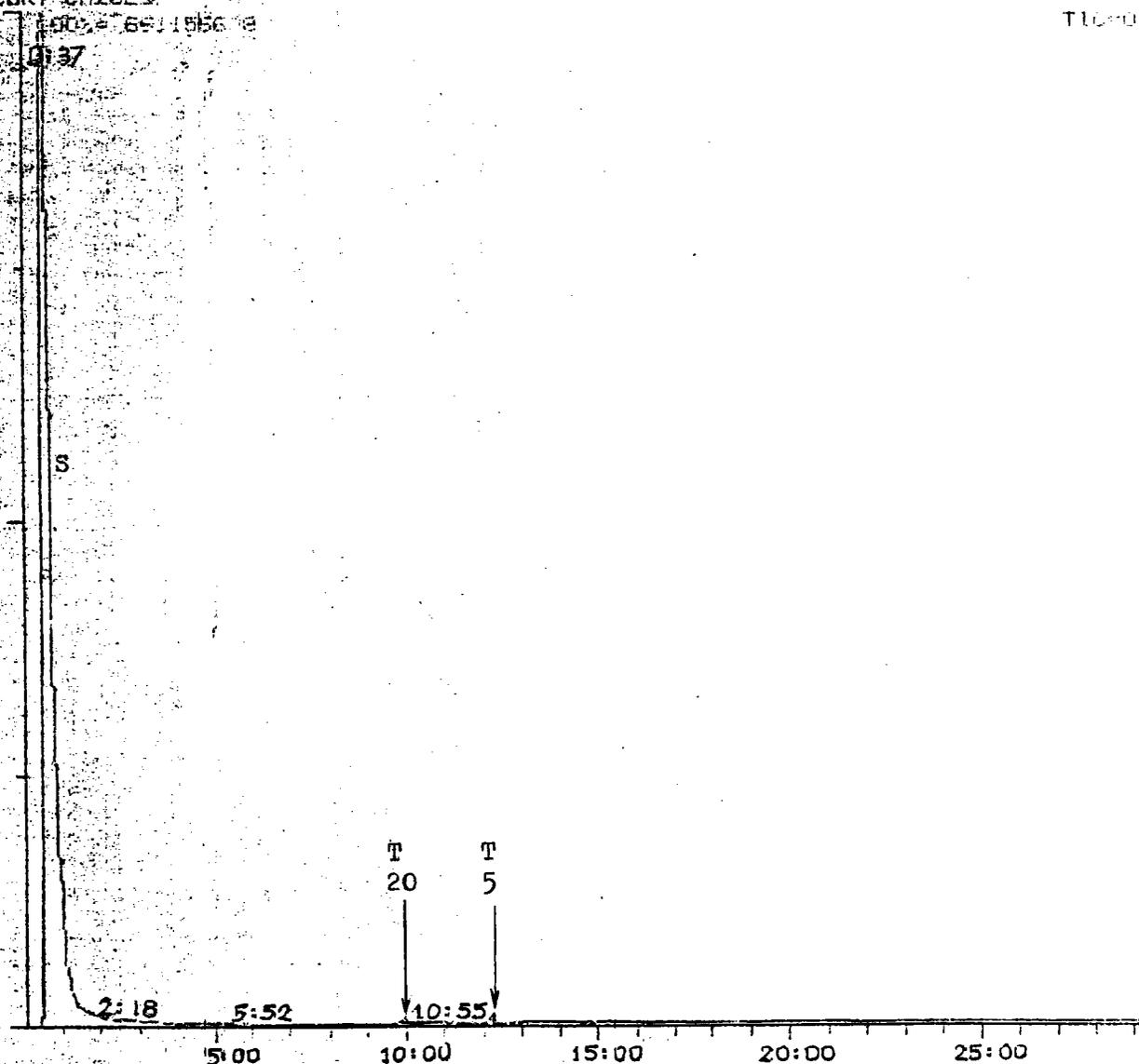


Figure 2I4 : Chromatogramme de la phase dichlorométhane silylée de l'échantillon âgé de deux jours après ensemencement avec Corynebacterium sp.3.

FILE: 100-138544  
138544-138544  
138544-138544

[ 64, 81

24-FEB-87 09:04  
21-FEB-87 14:55

TIC=0

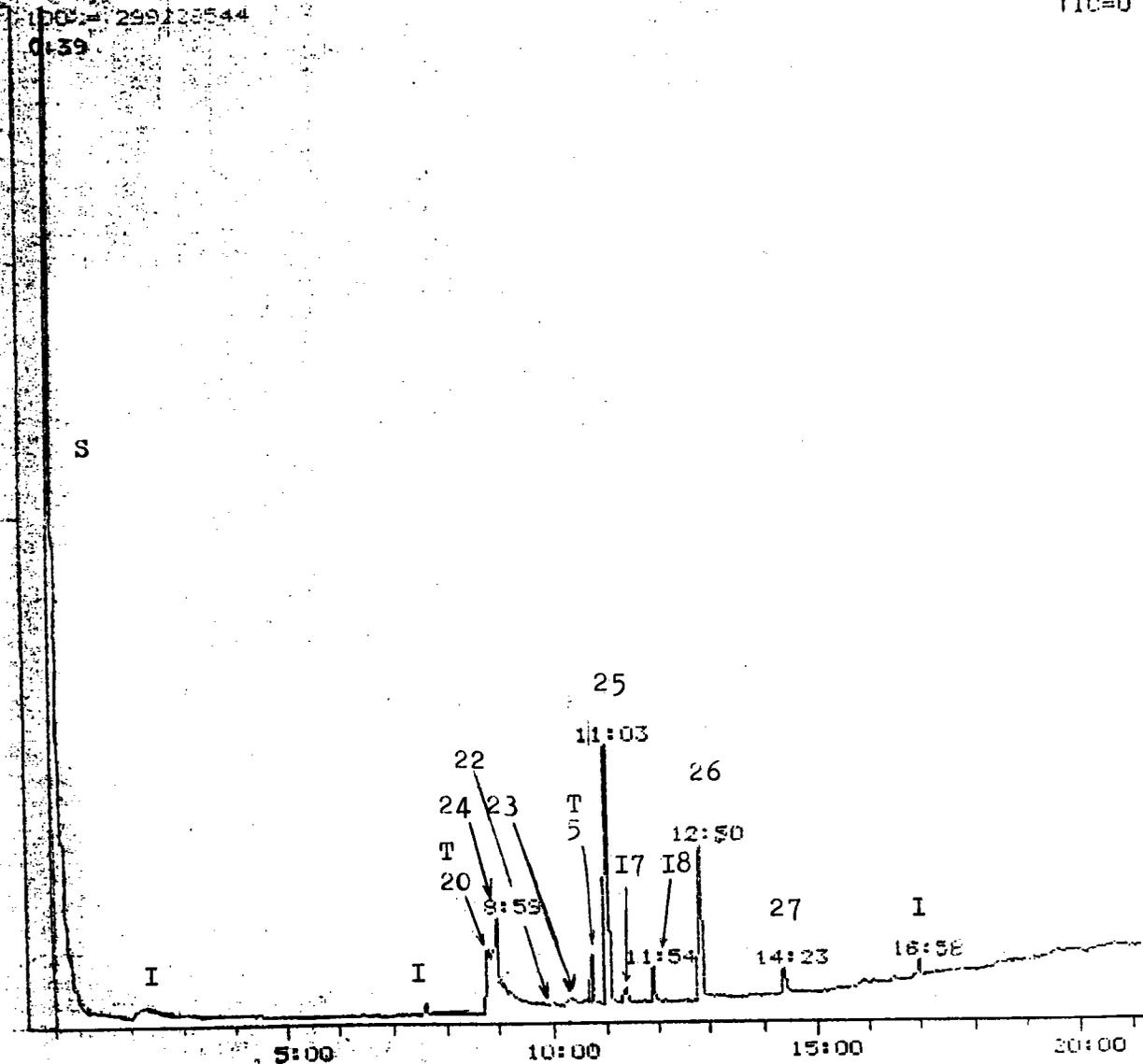


Figure 215 : Chromatogramme de la phase dichlorométhane silylée de l'échantillon âgé de trois jours après ensemencement avec Corynebacterium sp.3.



MERTRON STAR S.O.  
FILE: JMSCH2CL2  
JMSCH2CL2 CORYNEBACT.

[ 64, 8 ]

24-FEB-87 11:27  
21-FEB-87 15:57

TIC=0

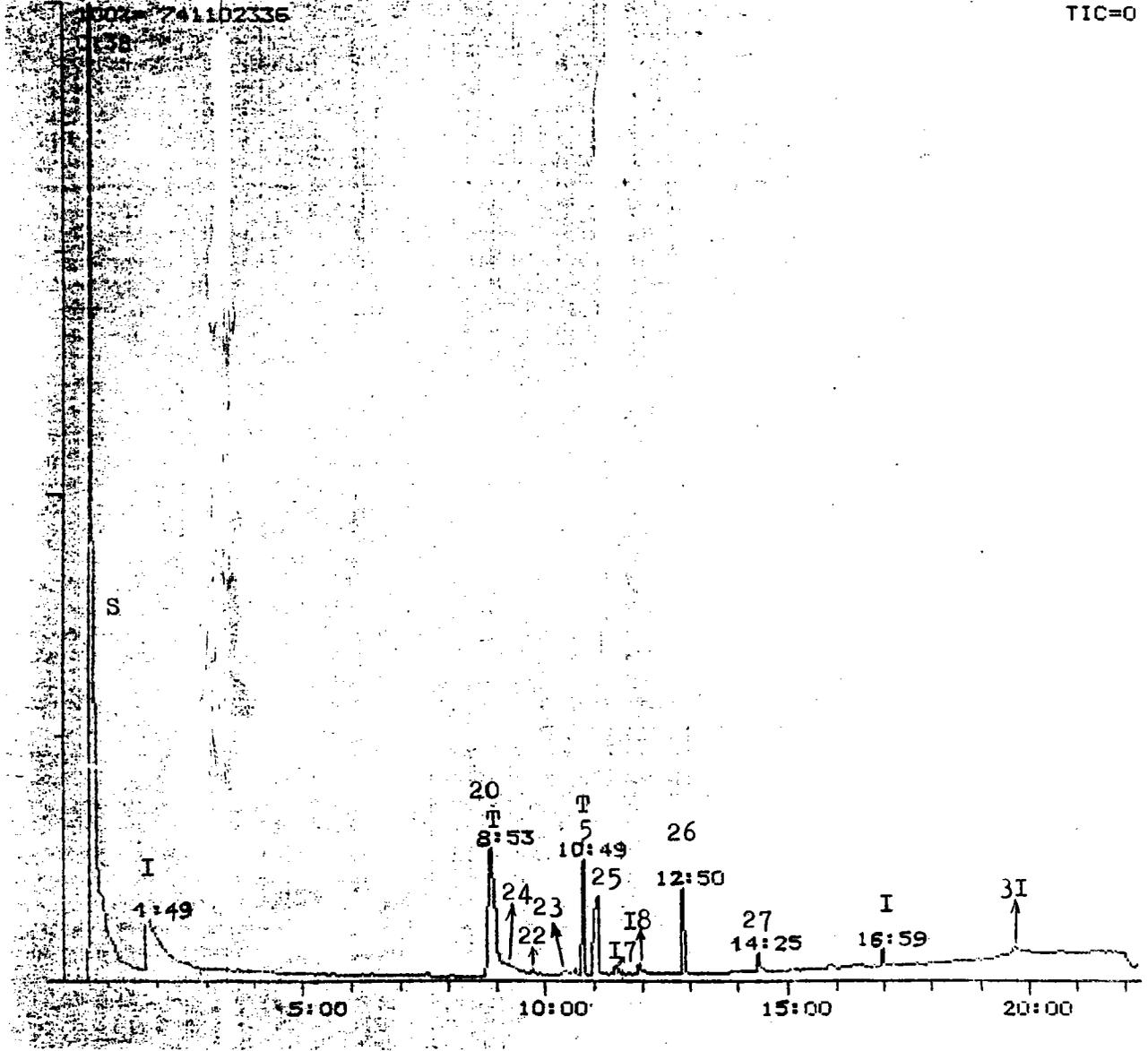


Figure 2I7 : Chromatogramme de la phase dichlorométhane silylée de l'échantillon âgé de six jours après ensemencement avec Corynebacterium sp.3.

NERMAG/SIDAR V 3.0  
FILE A: J8CH2CL2

[ 64, 81

24-FEB-87 13:20  
23-FEB-87 08:55

TIC=0

100% 88621056  
0:39

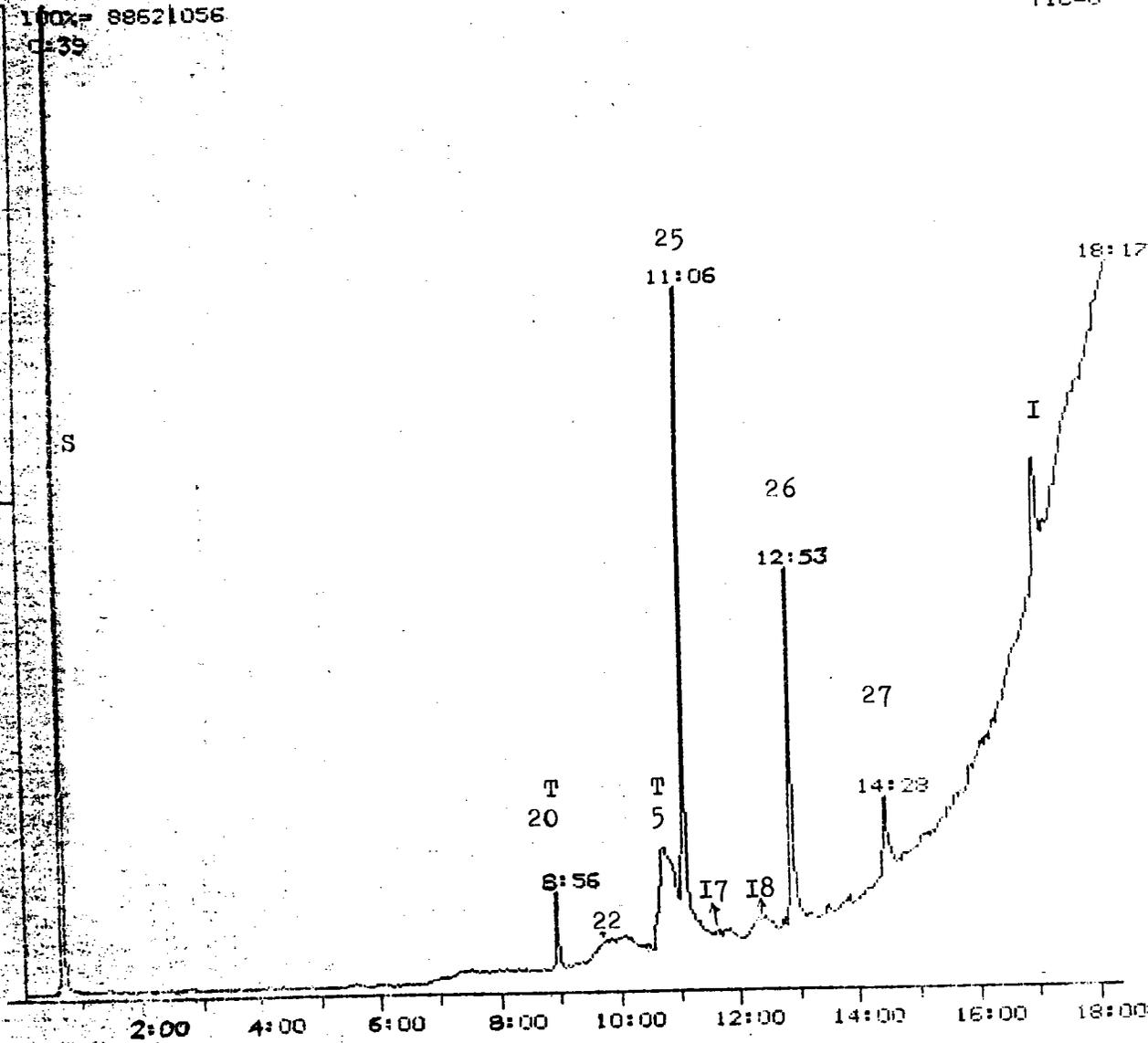


Figure 218 : Chromatogramme de la phase dichlorométhane silylée de l'échantillon âgé de huit jours après ensemencement avec Corynebacterium sp.3.

NERMAG/SIDAR U 3.0  
FILE: A: J2CH20L2 .  
AGRO, CORY

[ 54, 8 ]

02-MAR-87 11:35  
28-FEB-87 14:35

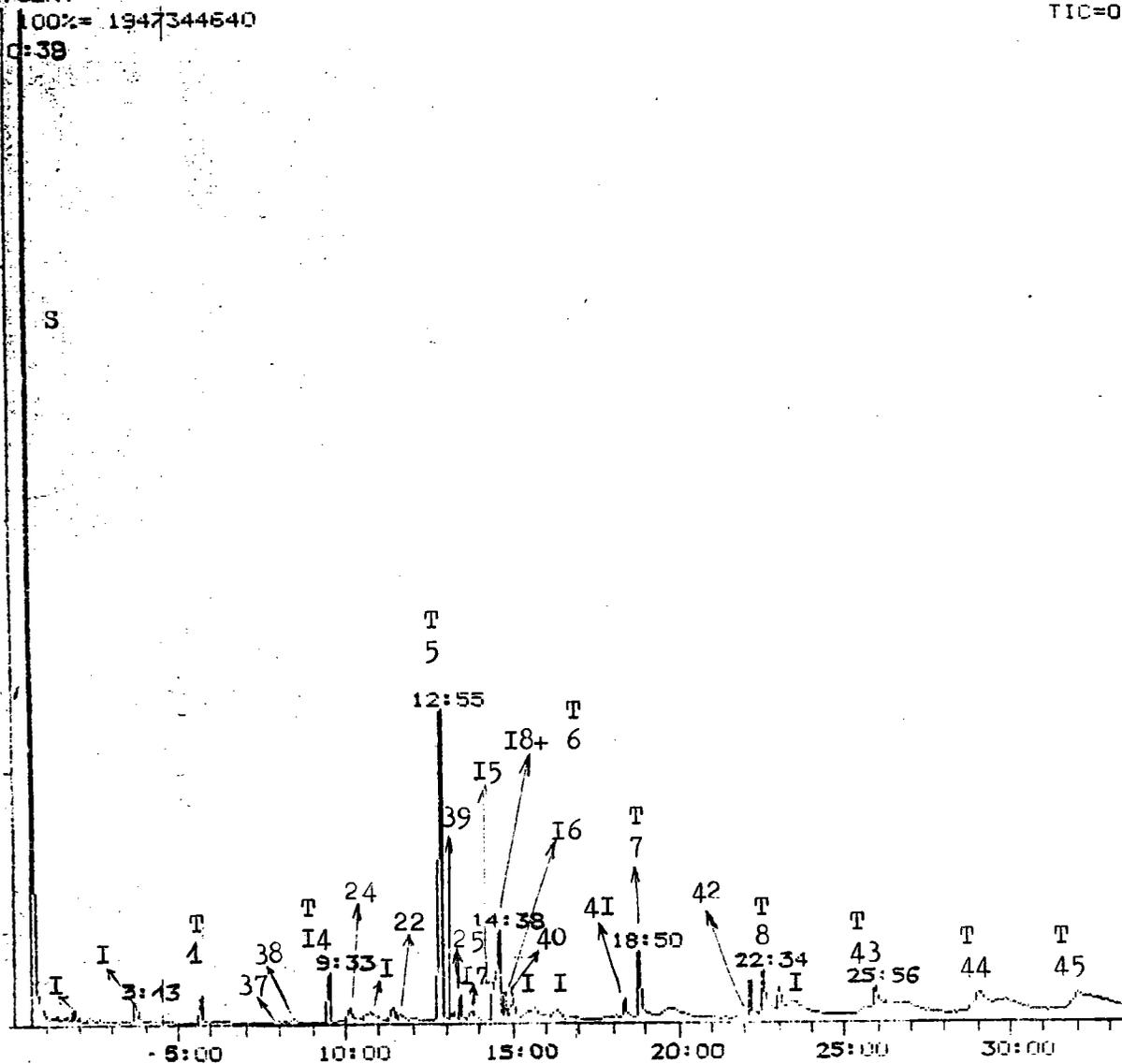


Figure 2I9 : Chromatogramme de la phase dichlorométhane silylée de l'échantillon âgé de deux jours après ensemencement avec Agrobacterium sp.2 et Corynebacterium sp.3.

HPMS 31 MAR 11 3.0  
FILE # 1002002  
PROCED

02-MAR-87 13:10  
28-FEB-87 15:16

TIC=0

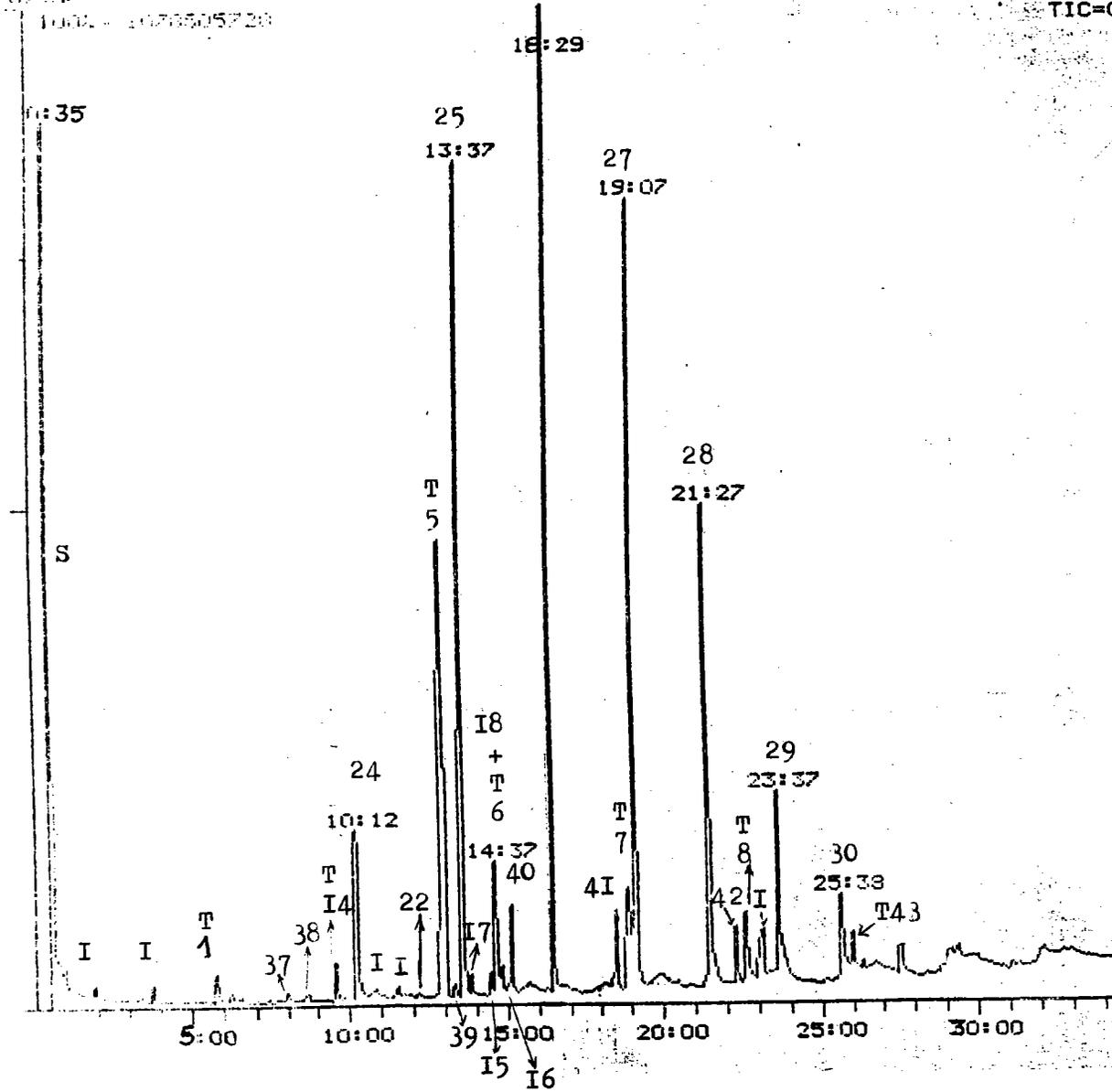


Figure 220 : Chromatogramme de la phase dichlorométhane silylée de l'échantillon âgé de trois jours après ensemencement avec Agrobacterium sp.2 et Corynebacterium sp.3.

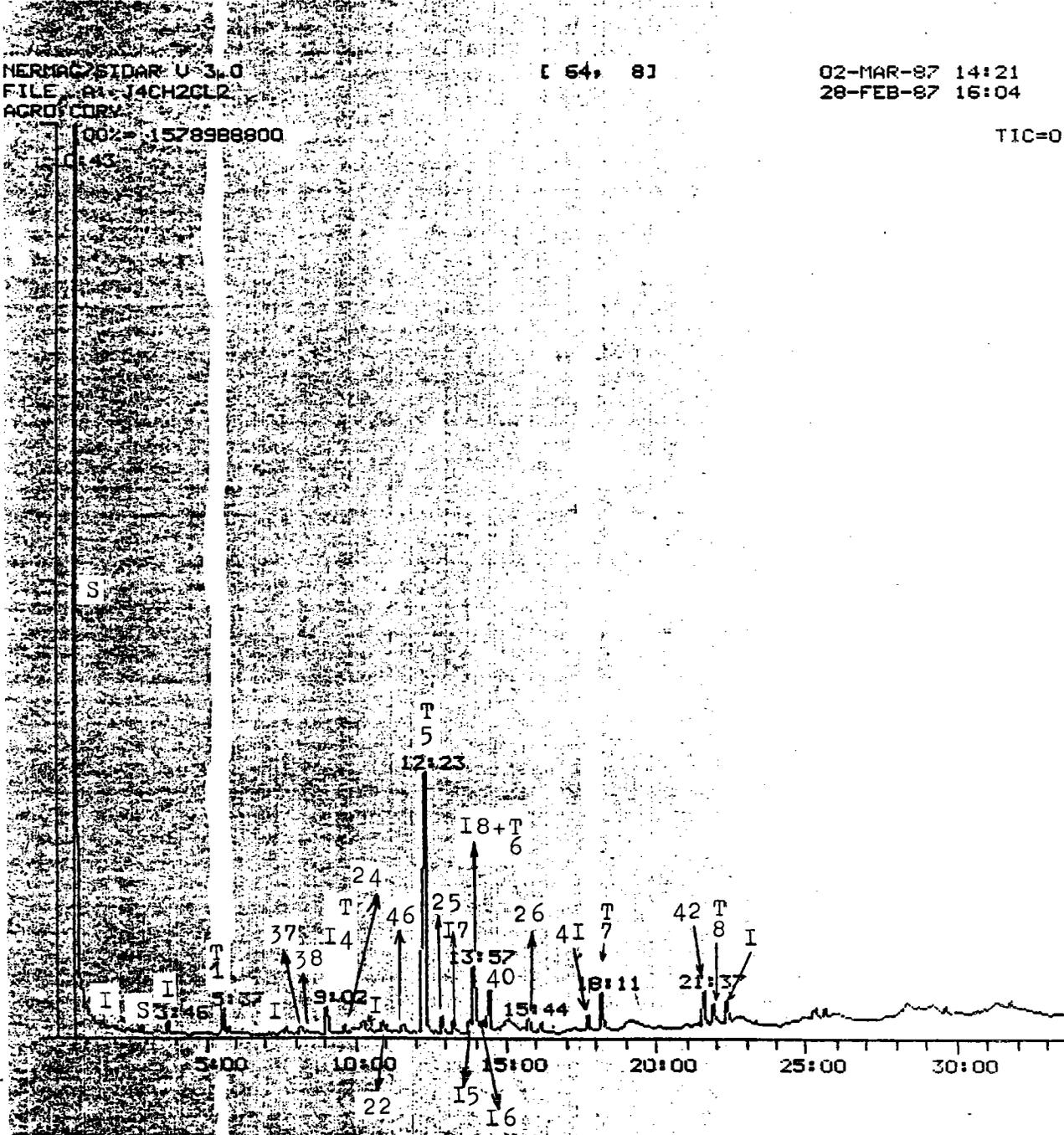


Figure 22I : Chromatogramme de la phase dichlorométhane silylée de l'échantillon âgé de quatre jours après ensemencement avec Agrobacterium sp.2 et Corynebacterium sp.3.

SHAW BIDER D 3.0  
FILE # 16012012  
K1601201

[ 64, 8]

03-MAR-87 10:14  
28-FEB-87 16:52

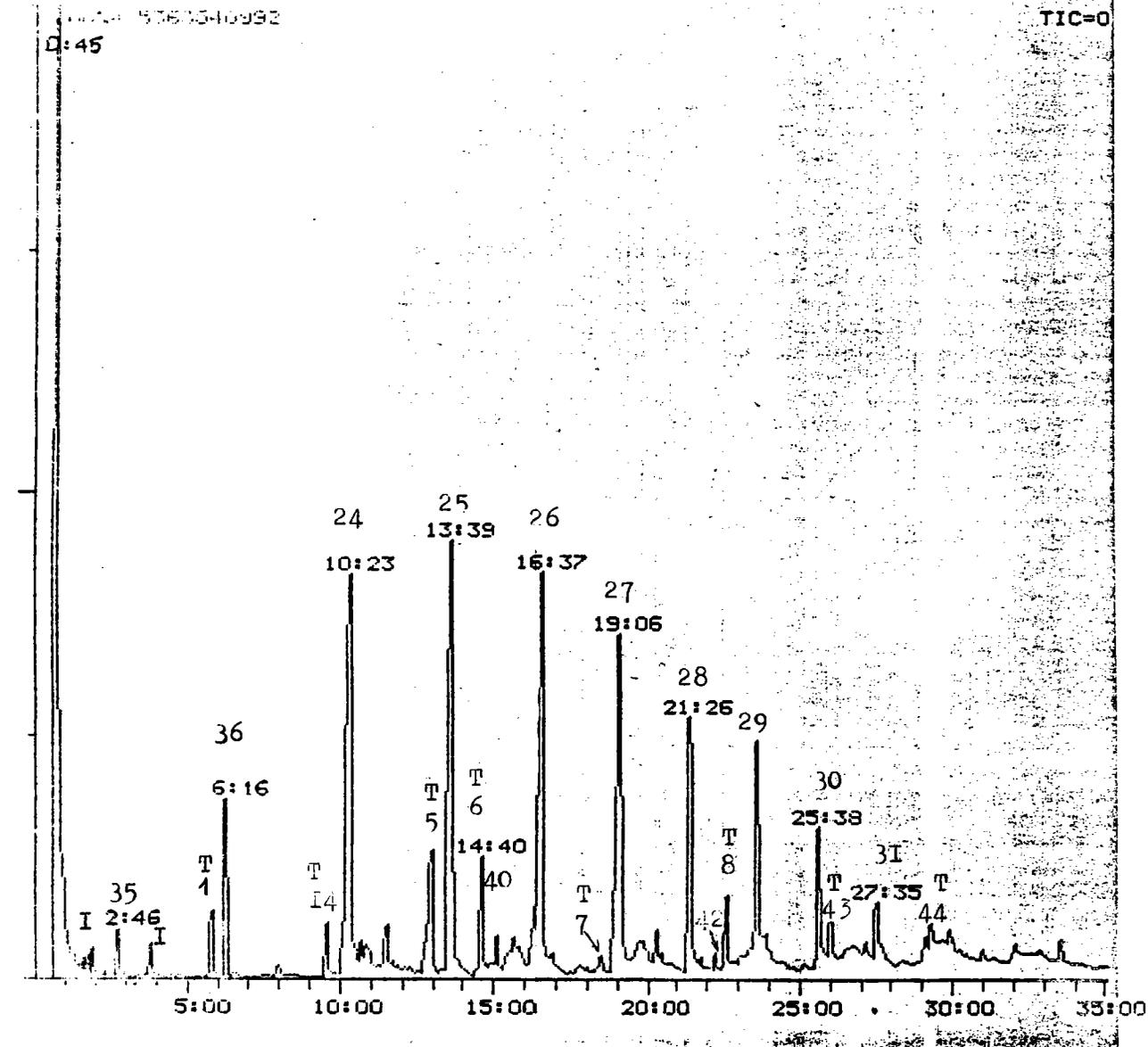


Figure 222 : Chromatogramme de la phase dichlorométhane silylée de l'échantillon âgé de six jours après ensemencement avec Agrobacterium sp.2 et Corynebacterium sp.3.

NERMAG/SIDAR 4.3.0  
FILE # J5CH2CL2

[ 54, 8 ]

03-MAR-87 11:16  
02-MAR-87 10:03

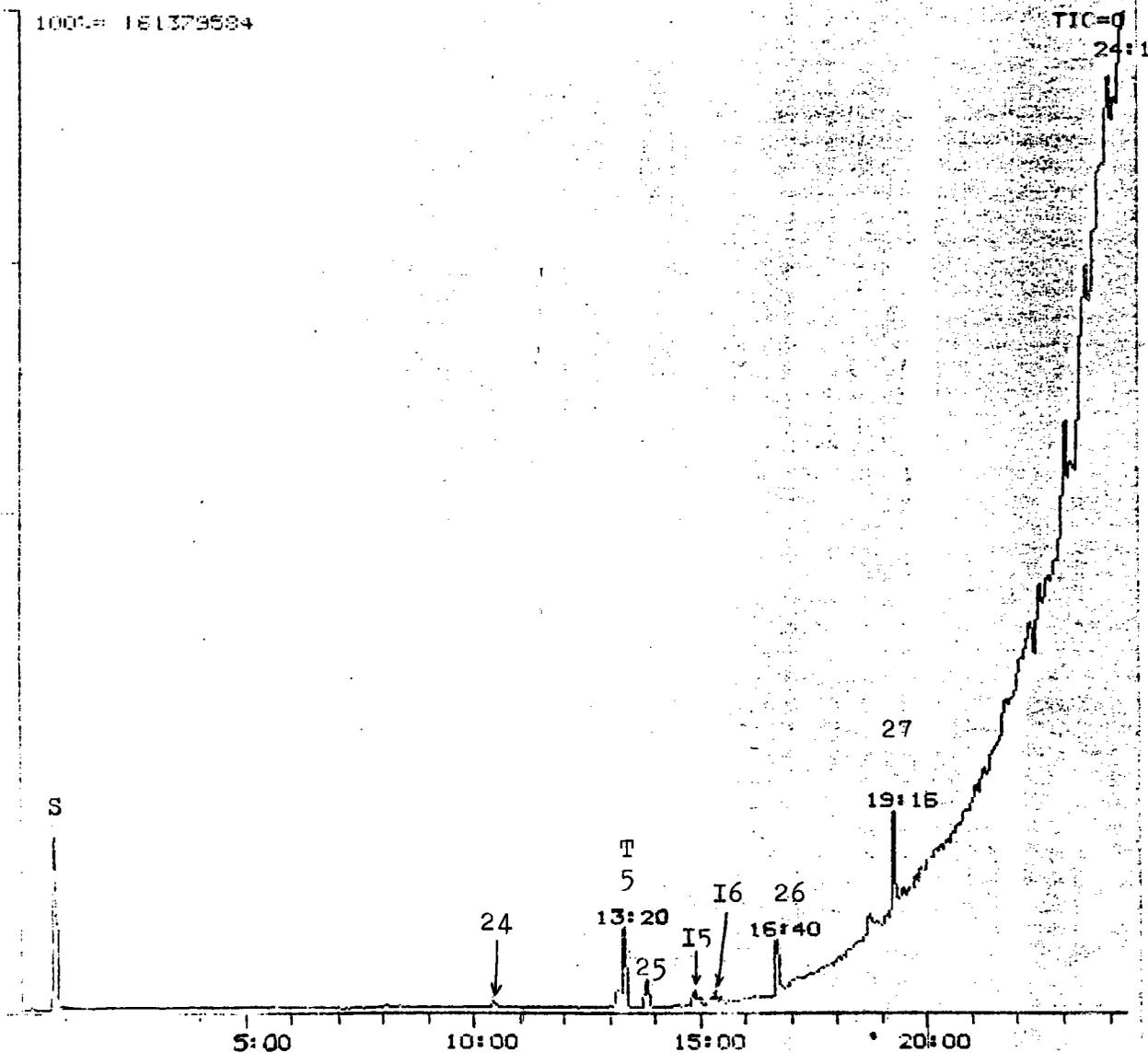


Figure 223 : Chromatogramme de la phase dichlorométhane silylée de l'échantillon âgé de huit jours après ensemencement avec Agrobacterium sp.2 et Corynebacterium sp.3.

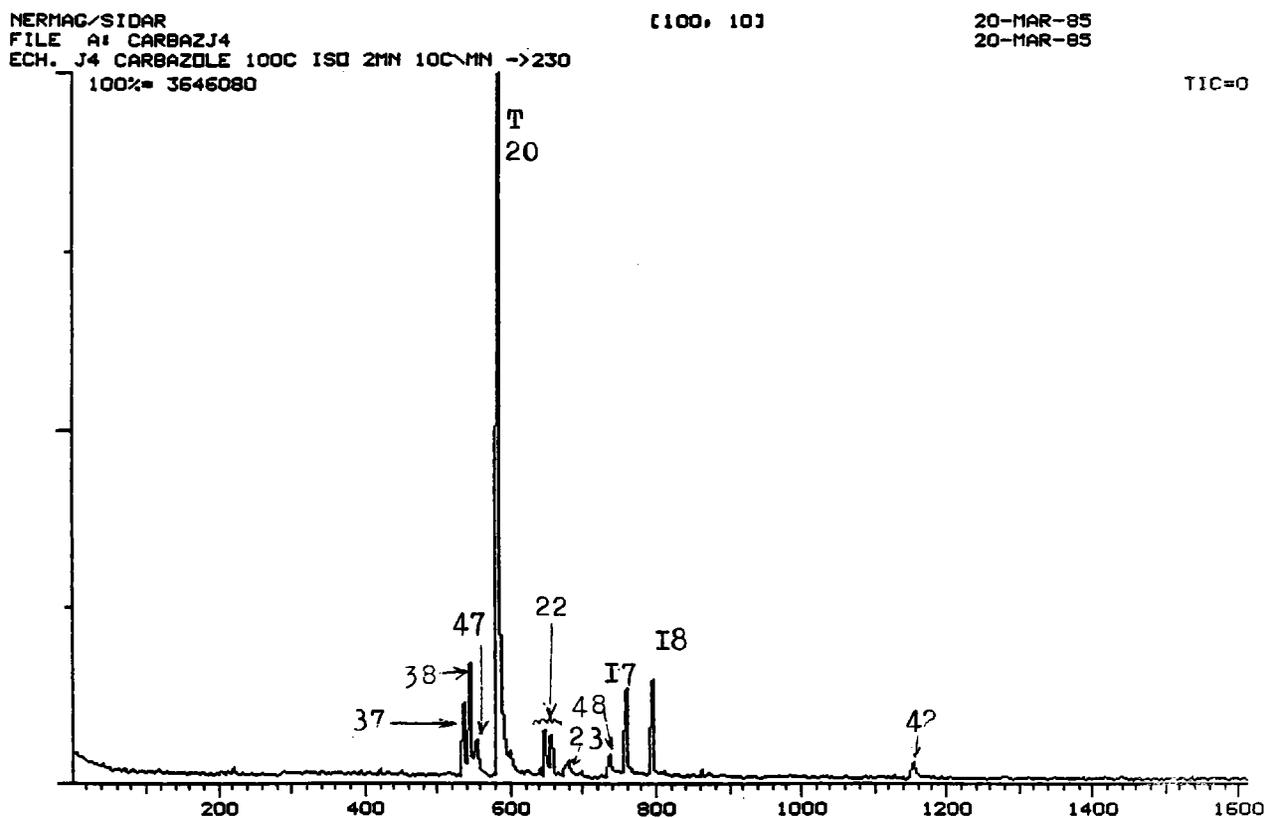


Figure 224 : Chromatogramme de la phase dichlorométhane (non silylée) de l'échantillon âgé de quatre jours après ensemencement avec Agrobacterium sp.2 et Corynebacterium sp.3.

NERMAG/SIDAR  
FILE A1 CARBAZJ2  
FRACTION J2 100C ISO 2MN 10\MM ->230  
100%= 68707072

[100, 10]

20-MAR-85  
20-MAR-85

TIC=0

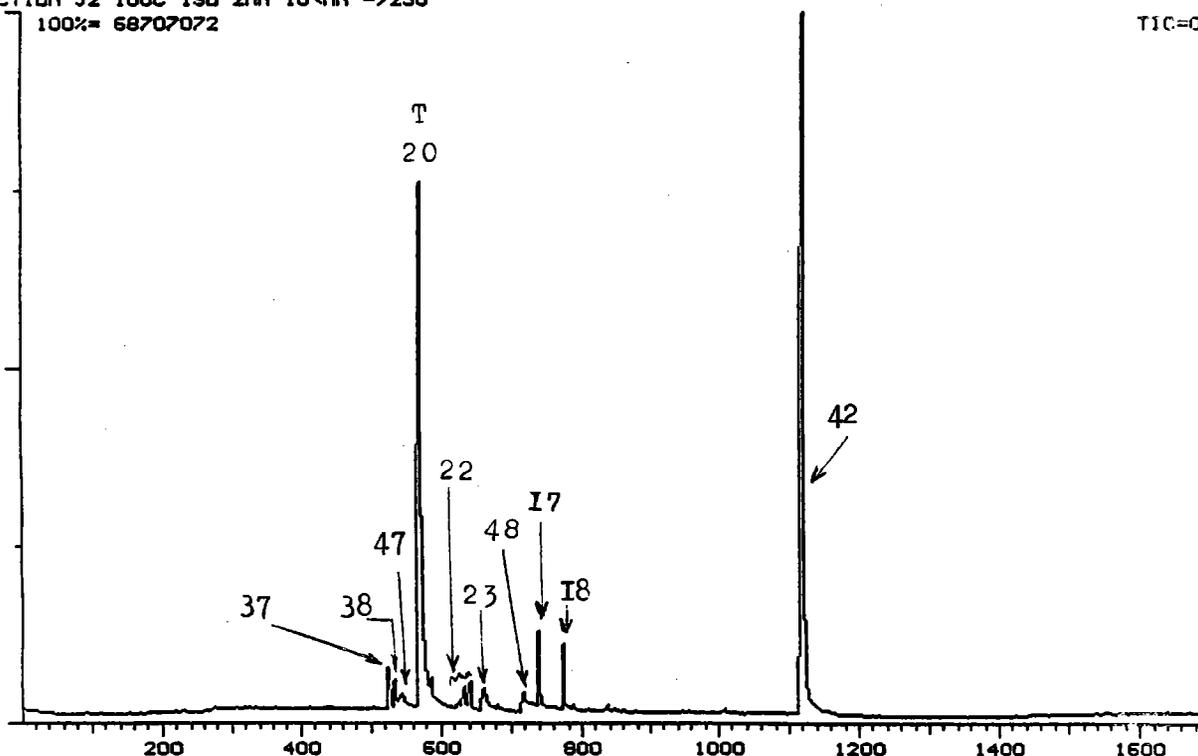


Figure 225 : Chromatogramme de la phase dichlorométhane (non silylée) de l'échantillon âgé de deux jours après ensemencement avec Agrobacterium sp.2 et Corynebacterium sp.3.

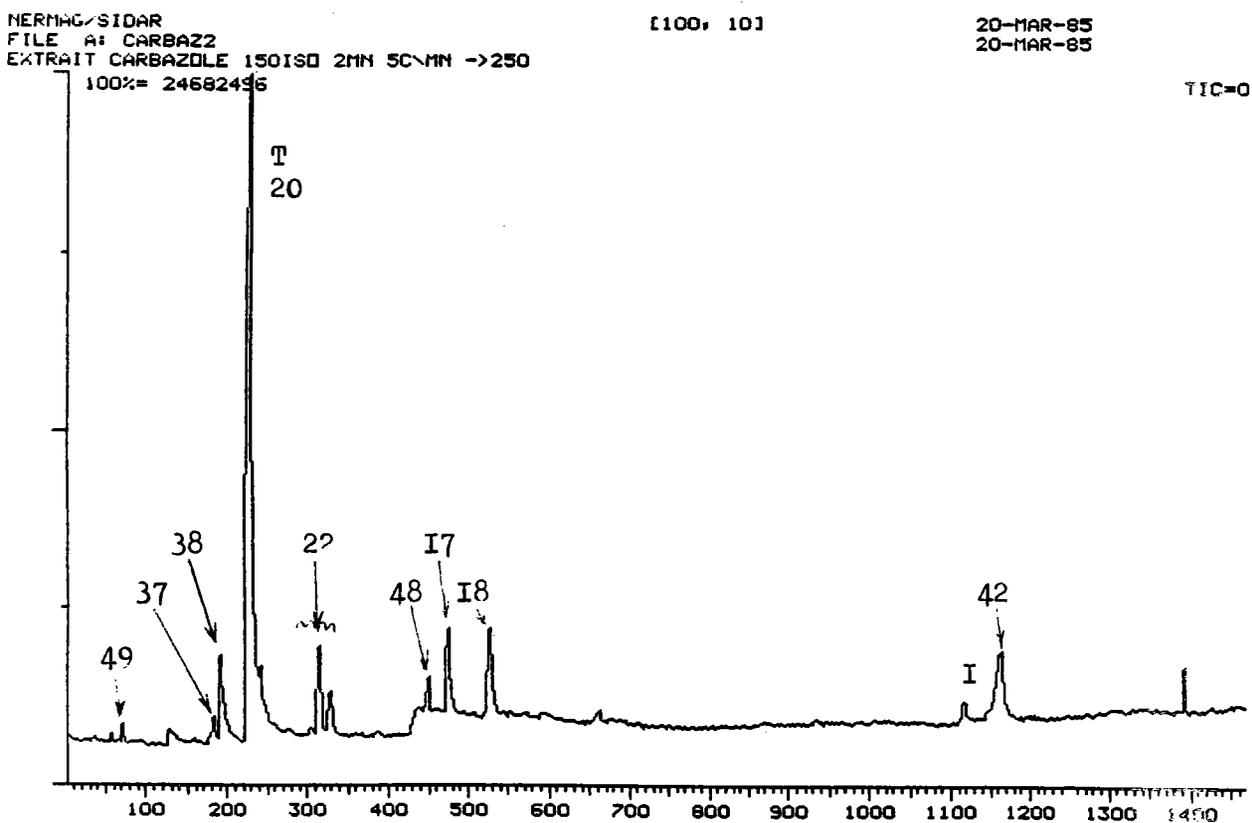


Figure 226 : Chromatogramme de la phase dichlorométhane (non silylée) de l'échantillon âgé de huit jours après ensemencement avec Agrobacterium sp.2 et Corynebacterium sp.3.

## ANNEXE IX

Chromatogrammes des phases Diméthylformamide des cultures

Agrobacterium sp.2, Corynebacterium sp.3 et de leur culture

mixte.

NERBAC/SIDAR 9 3.0  
FILE A: TOM  
J2 DMFACREI

[ 64, 81

20-04-07 13:17  
10-10-05 15:04

100% = 1712392064  
BASE PEAK = 260 (1712392064)

TIC=0

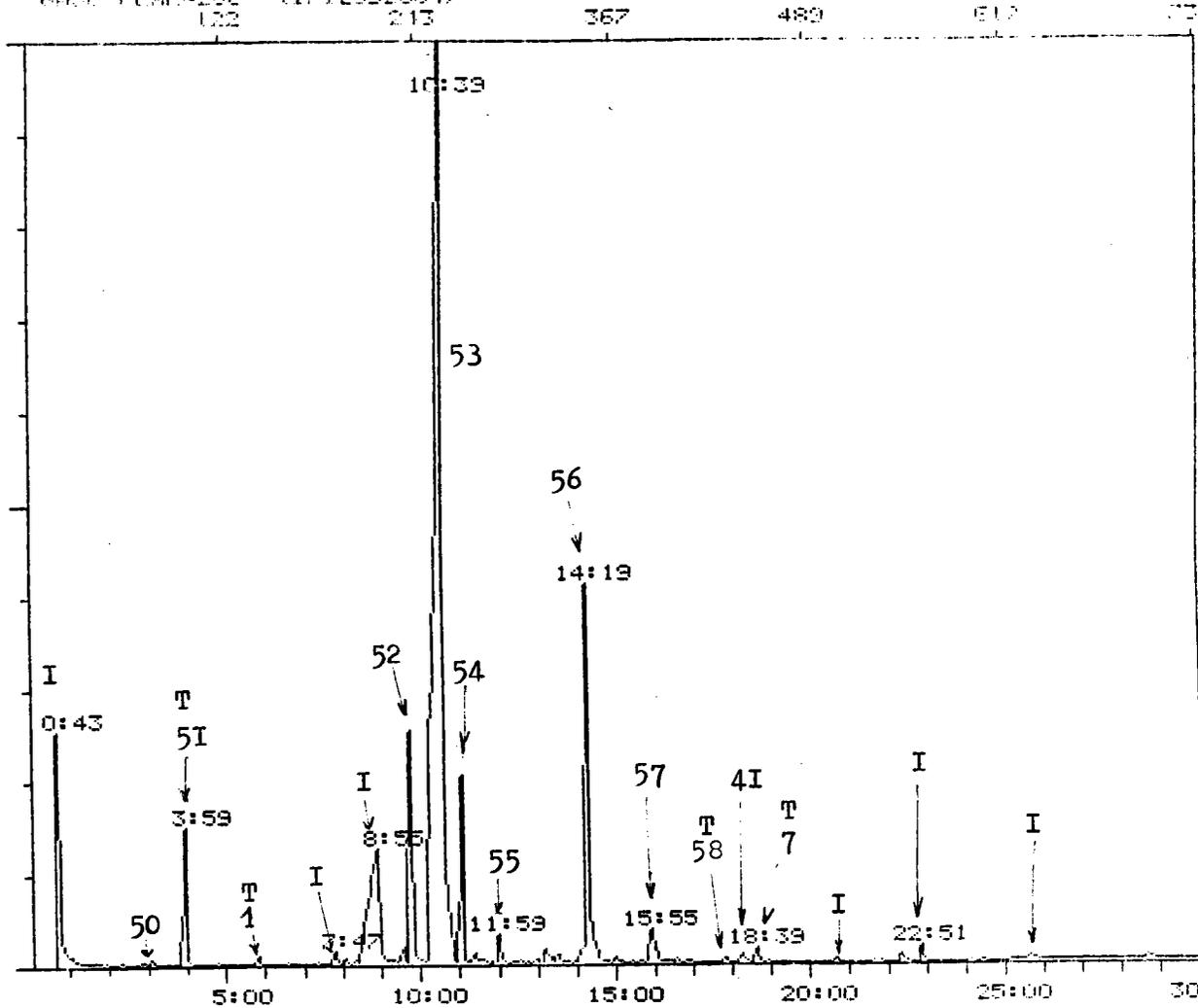


Figure 227 : Chromatogramme de la phase diméthylformamide silylée de l'échantillon âgé de deux jours après ensemencement avec Agrobacterium sp.2.

NERMAG/SIDAR V 3.0  
FILE A: TOX  
J3 DMF AGRO

[ 64. 8 ]

10-JAN-87 11:34  
10-JAN-87 10:23

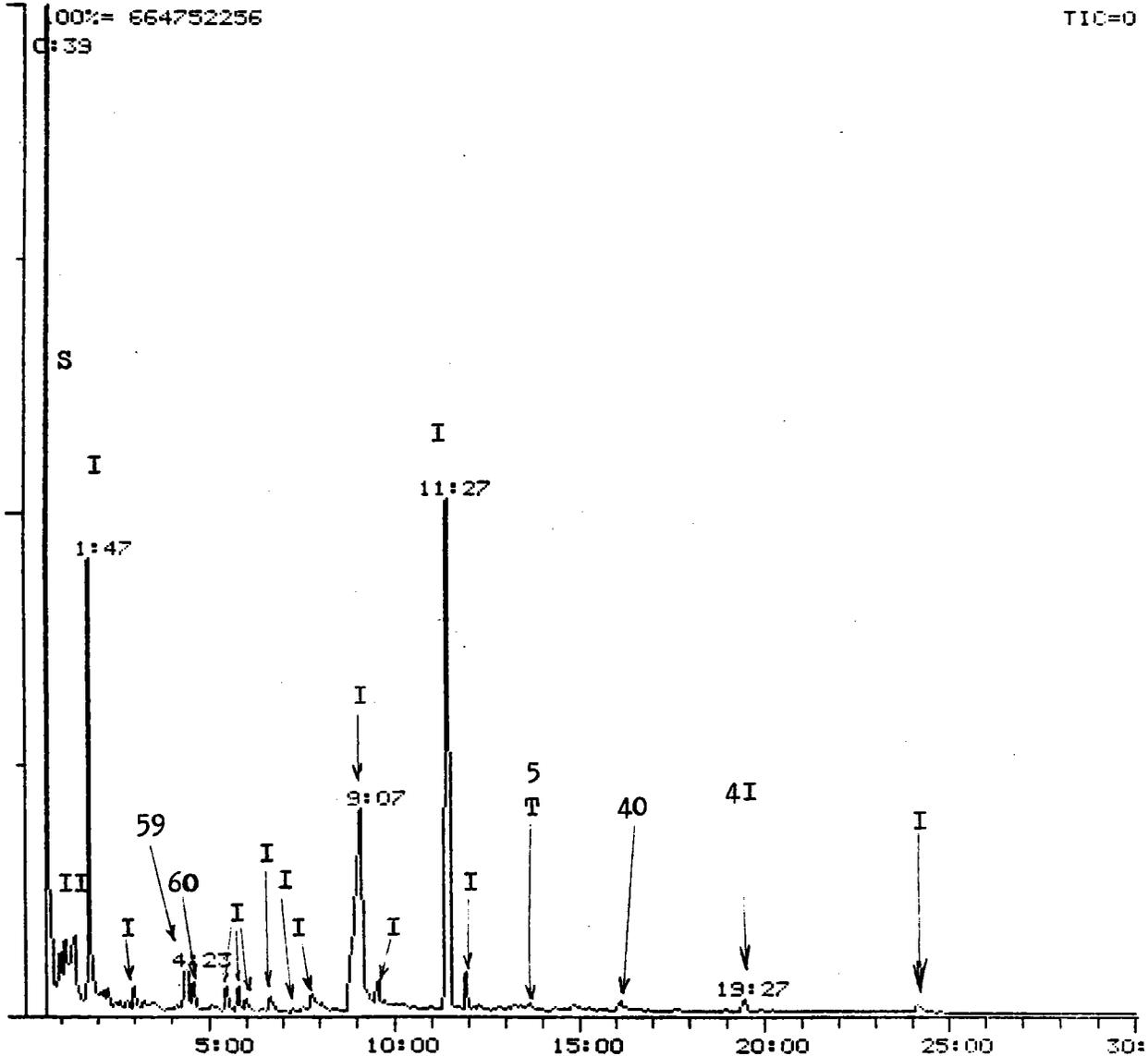


Figure 228 : Chromatogramme de la phase diméthylformamide silylée de l'échantillon âgé de trois jours après ensemencement avec Agrobacterium sp.2.

NERNAG/SIDAR V 3.0  
FILE A: TUN  
J4 DMF AGRO

[ 64, 8 ]

12-JAN-87 13:55  
10-JAN-87 11:02

100% = 276522112  
BASE PEAK = 17 (276522112)

TIC=0

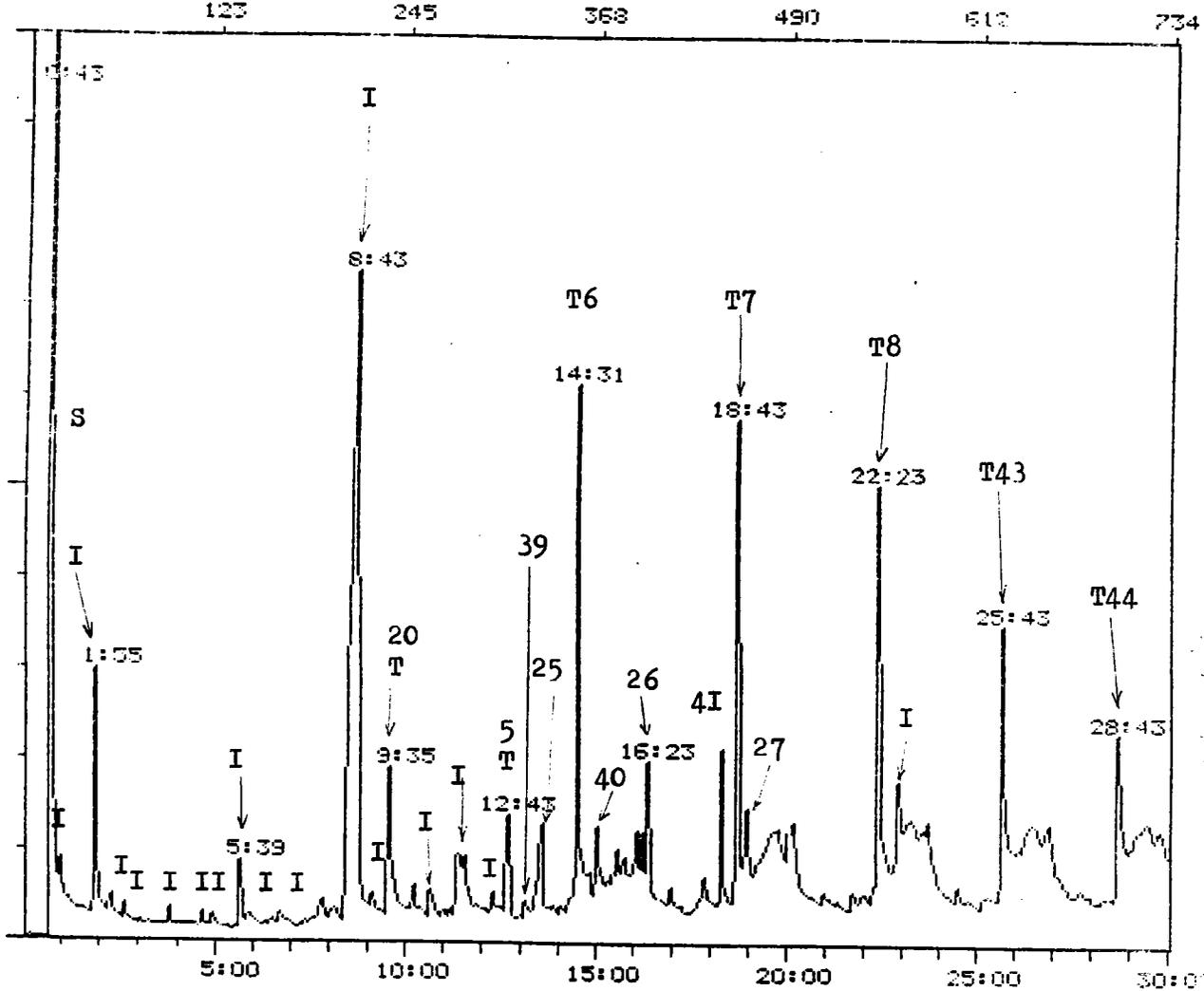


Figure 229 : Chromatogramme de la phase diméthylformamide silylée de l'échantillon âgé de quatre jours après ensemencement avec Agrobacterium sp.2.

HEMISPHERICONS V 3.0  
FILE 045.D  
15 DMT 0000

[ 64, 81

10-000-87 15:20  
10-000-87 11:44

100% = 273510528

TIC=0

DATE: 10/01/87 10:22

102

245

357

490

612

733

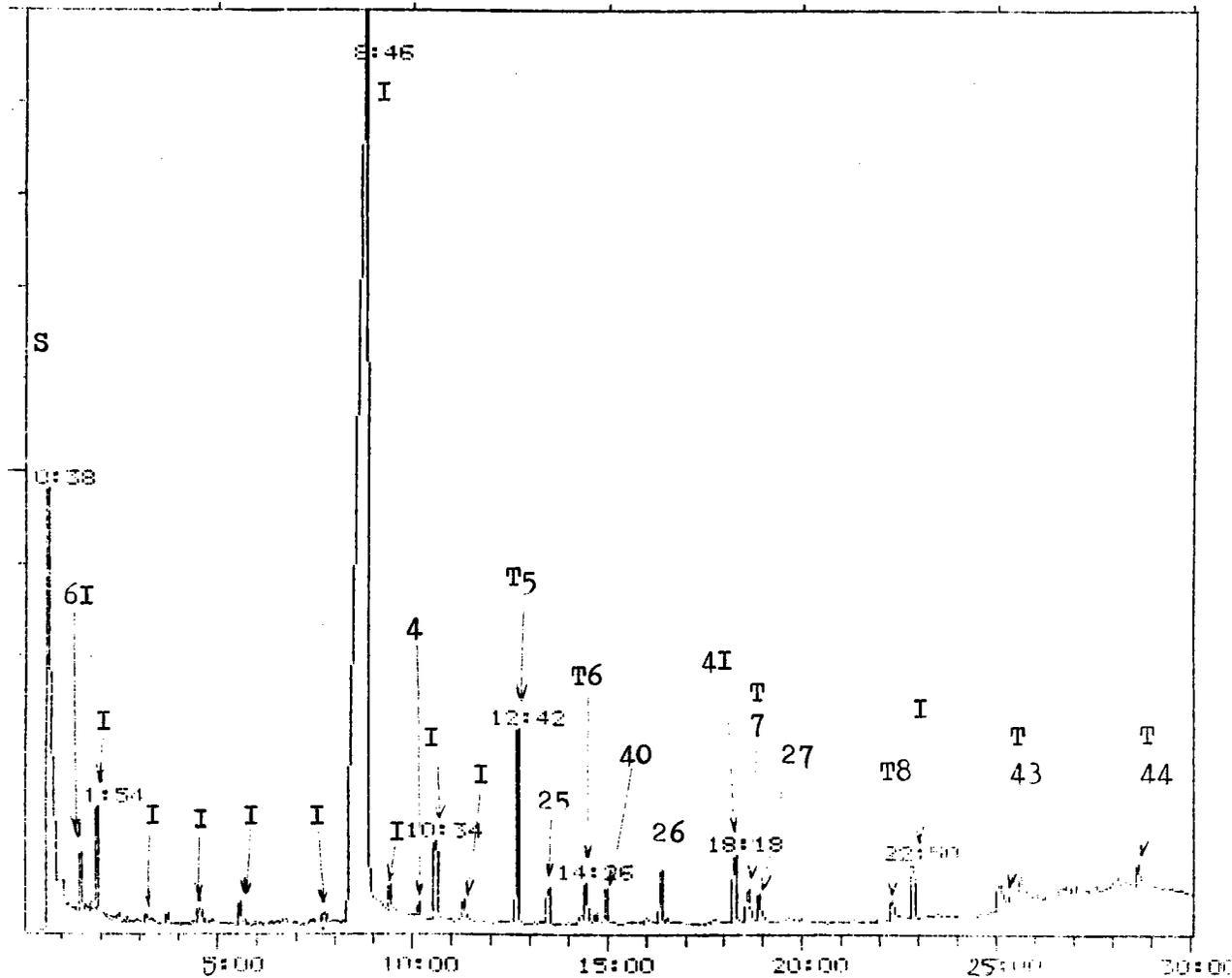


Figure 230 : Chromatogramme de la phase diméthylformamide silylée de l'échantillon âgé de six jours après ensemencement avec Agrobacterium sp.2.

HERNAN/SIDAR V 3.0  
FILE 9: TOM  
ISOMF AGRO

I [ 64, 8]

15-JAN-87 08:04  
10-JAN-87 14:02

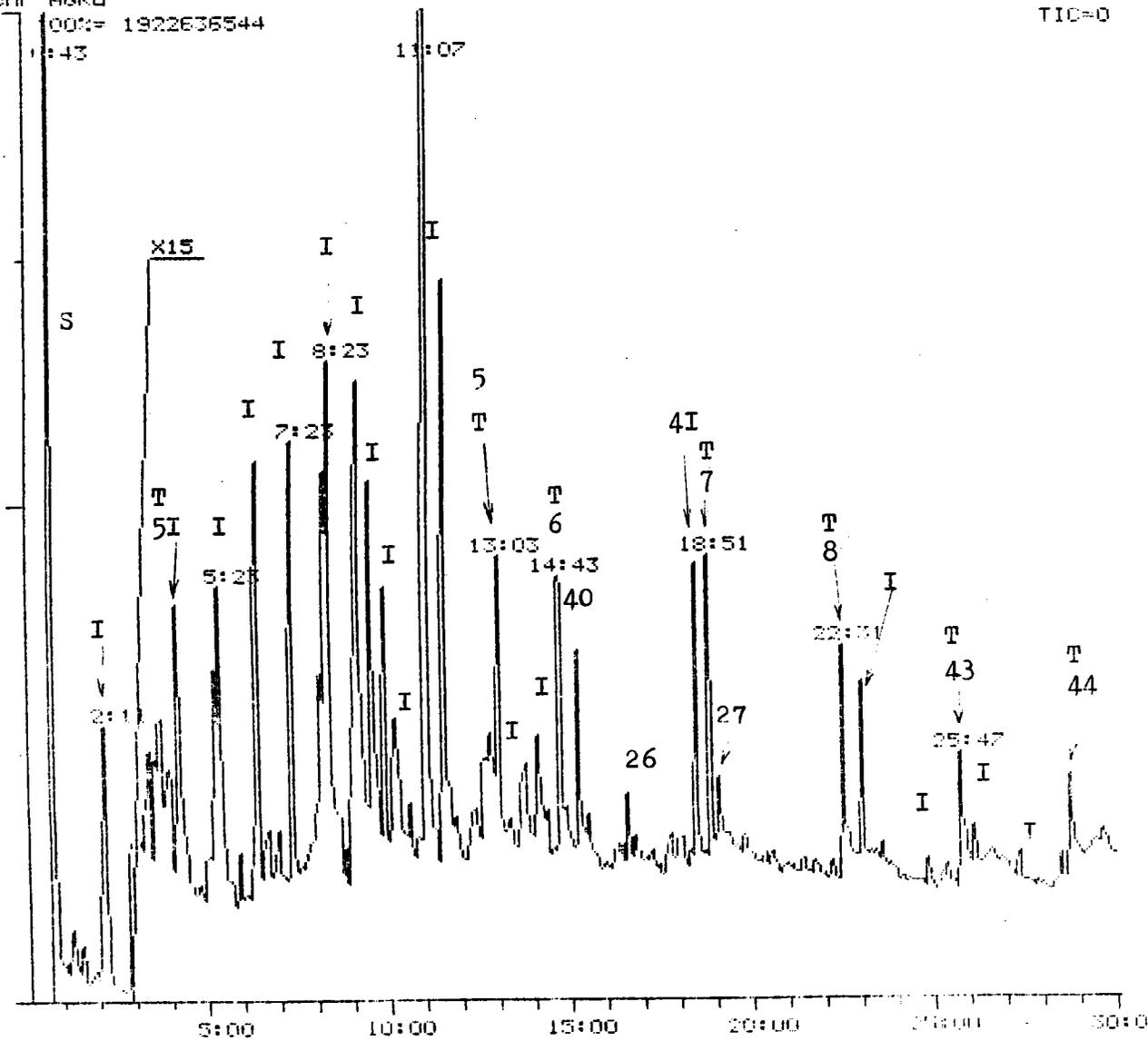


Figure 23I : Chromatogramme de la phase diméthylformamide silylée de l'échantillon âgé de huit jours après ensemencement avec Agrobacterium sp.2.

HP-1000/BIOM 0 3.0  
FILE #112  
VOLUME COPY 12

[ 64, 8 ]

01-OCT-86 00:02  
14-FEB-87 15:25

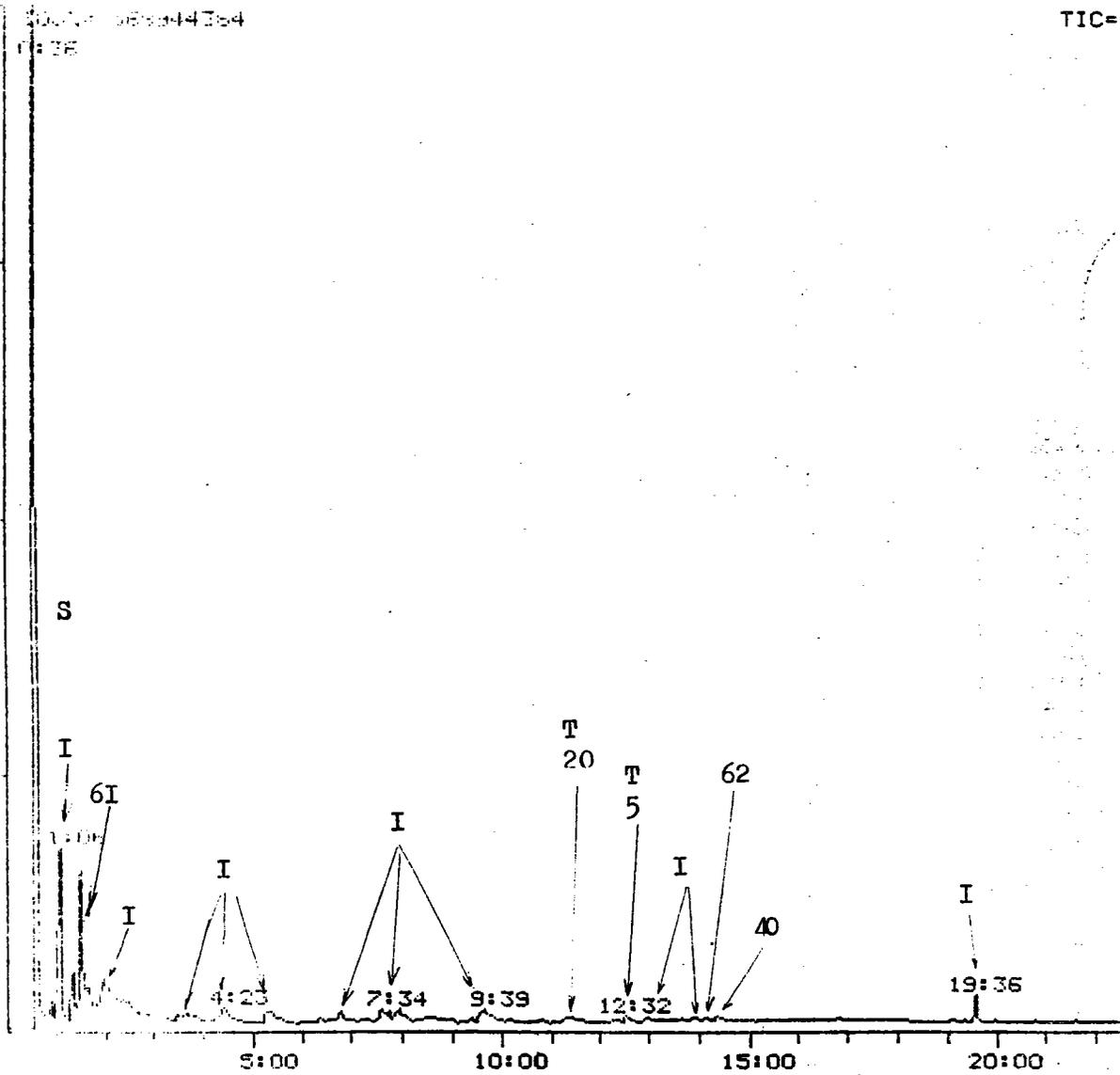


Figure 232 : Chromatogramme de la phase diméthylformamide silylée de l'échantillon âgé de deux jours après ensemencement avec Corynebacterium sp.3.

NERMAG/SIDAR U 3.0  
FILE A: J3  
BACTERIE CORY J3

[ 64, 81

01-OCT-86 01:45  
14-FEB-87 14:55

100% = 520770176

TIC=0

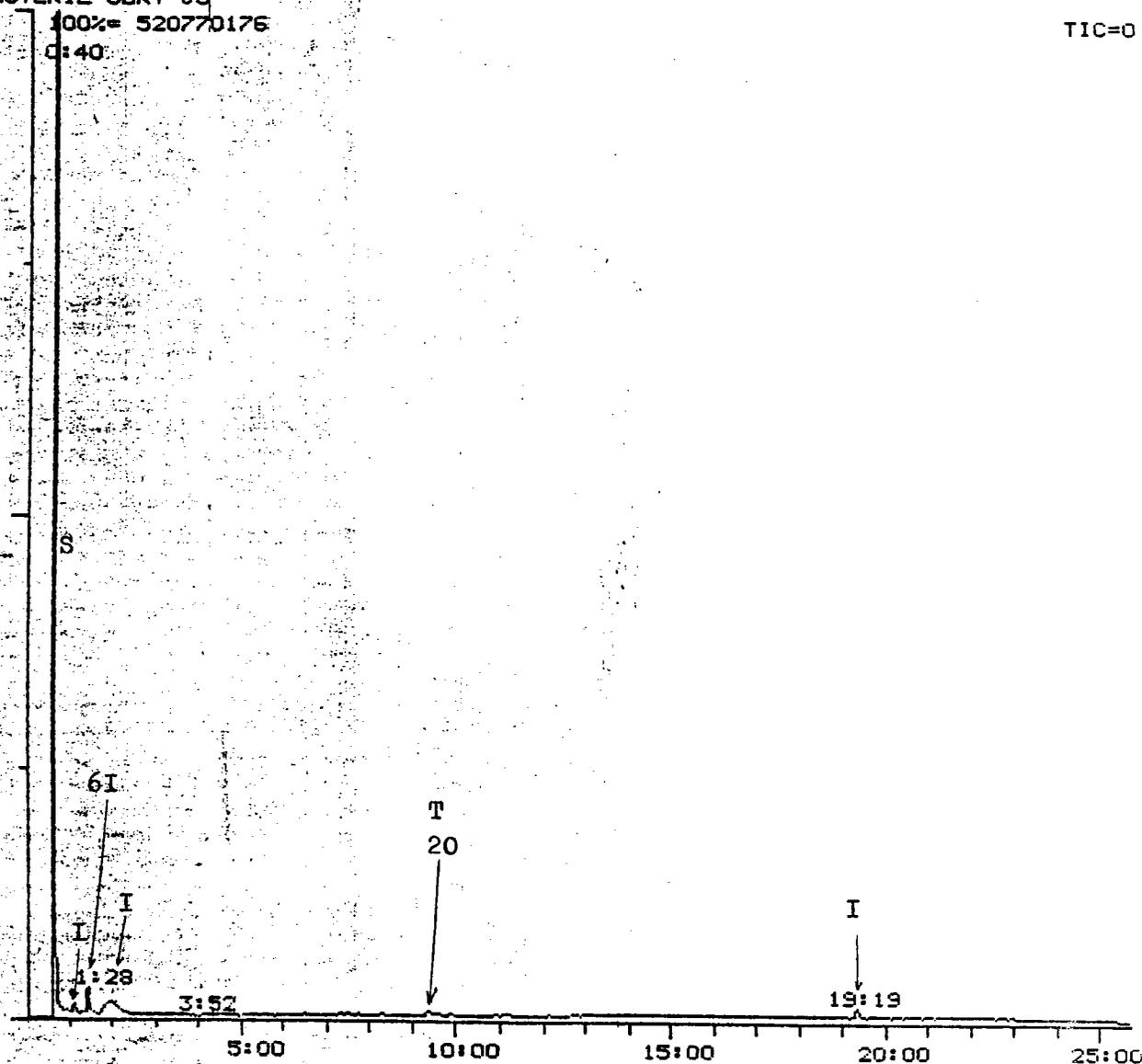


Figure 233 : Chromatogramme de la phase diméthylformamide silylée de l'échantillon âgé de trois jours après ensemencement avec Corynebacterium sp.3.

HEPROM-5100P V 3.0  
FILE # 01  
INTEGRATED CURVE IN

[ 64, 8 ]

01-OCT-86 03:17  
14-FEB-87 14:25

TIC=

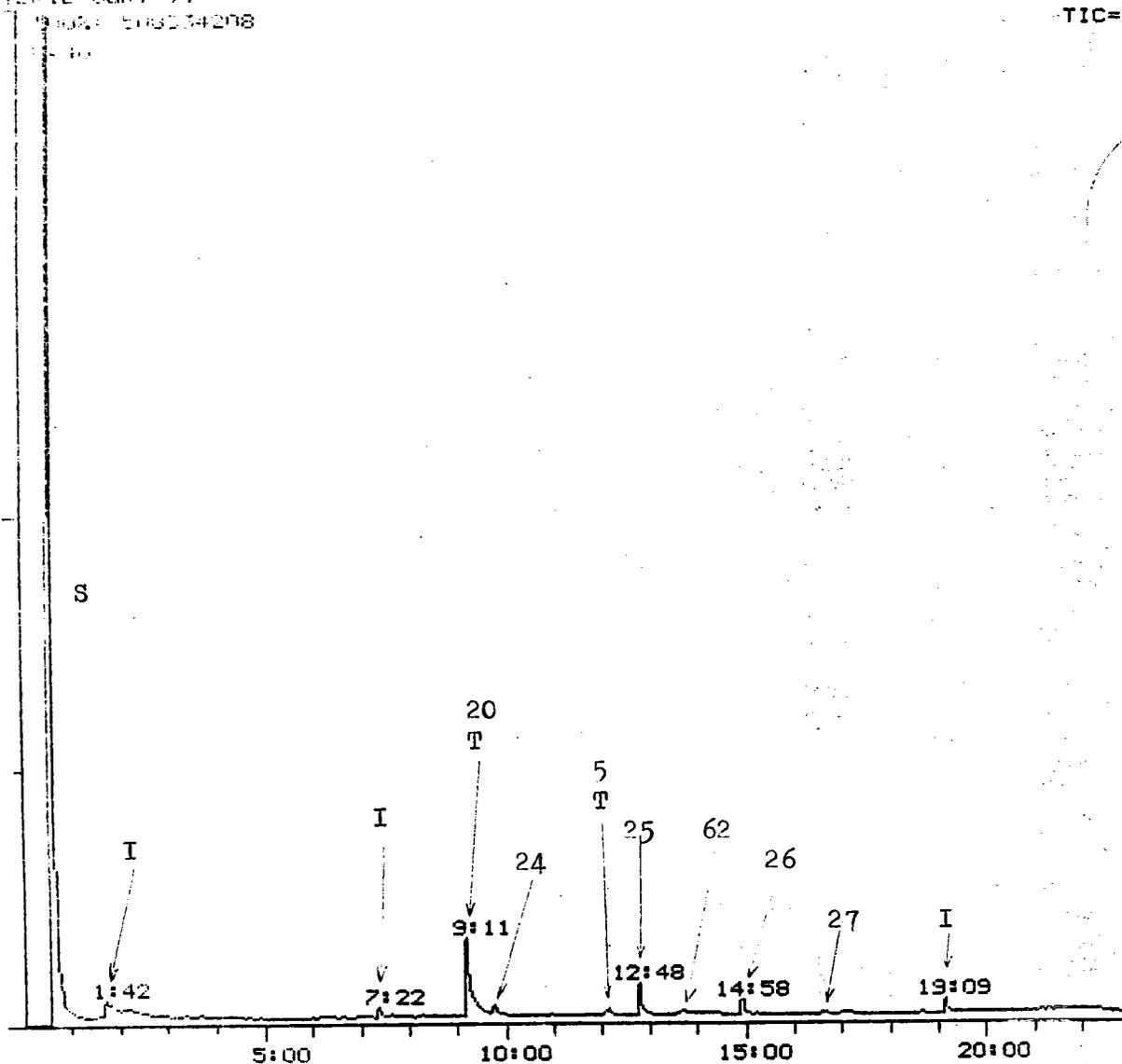


Figure 234 : Chromatogramme de la phase diméthylformamide silylée de l'échantillon âgé de quatre jours après ensemencement avec Corynebacterium sp.3.

NERMAC/SIDAR U 3.0  
FILE A1 J5  
ECHANTILLON CORY J6

[ 54, 81

01-OCT-86 05:19  
14-FEB-87 13:55

TIC=0

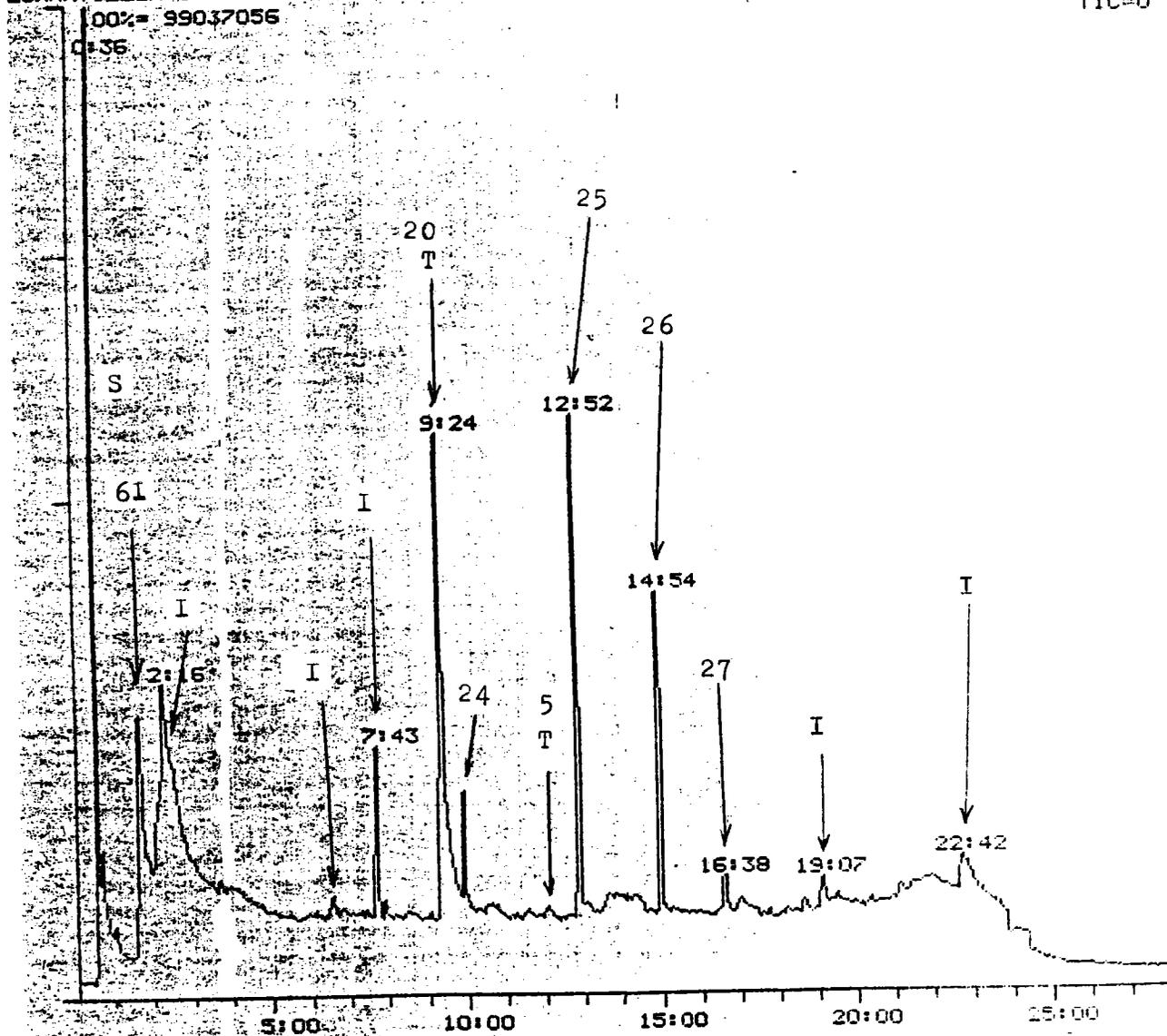


Figure 235 : Chromatogramme de la phase diméthylformamide silylée de l'échantillon âgé de six jours après ensemencement avec Corynebacterium sp.3.

NERMAC/SIDAR V 3.0  
FILE A: J8  
BACTERIE: CORY J8  
100% = 26683008

[ 64, 8 ]

01-OCT-86 06:45  
14-FEB-87 13:30

TIC=0

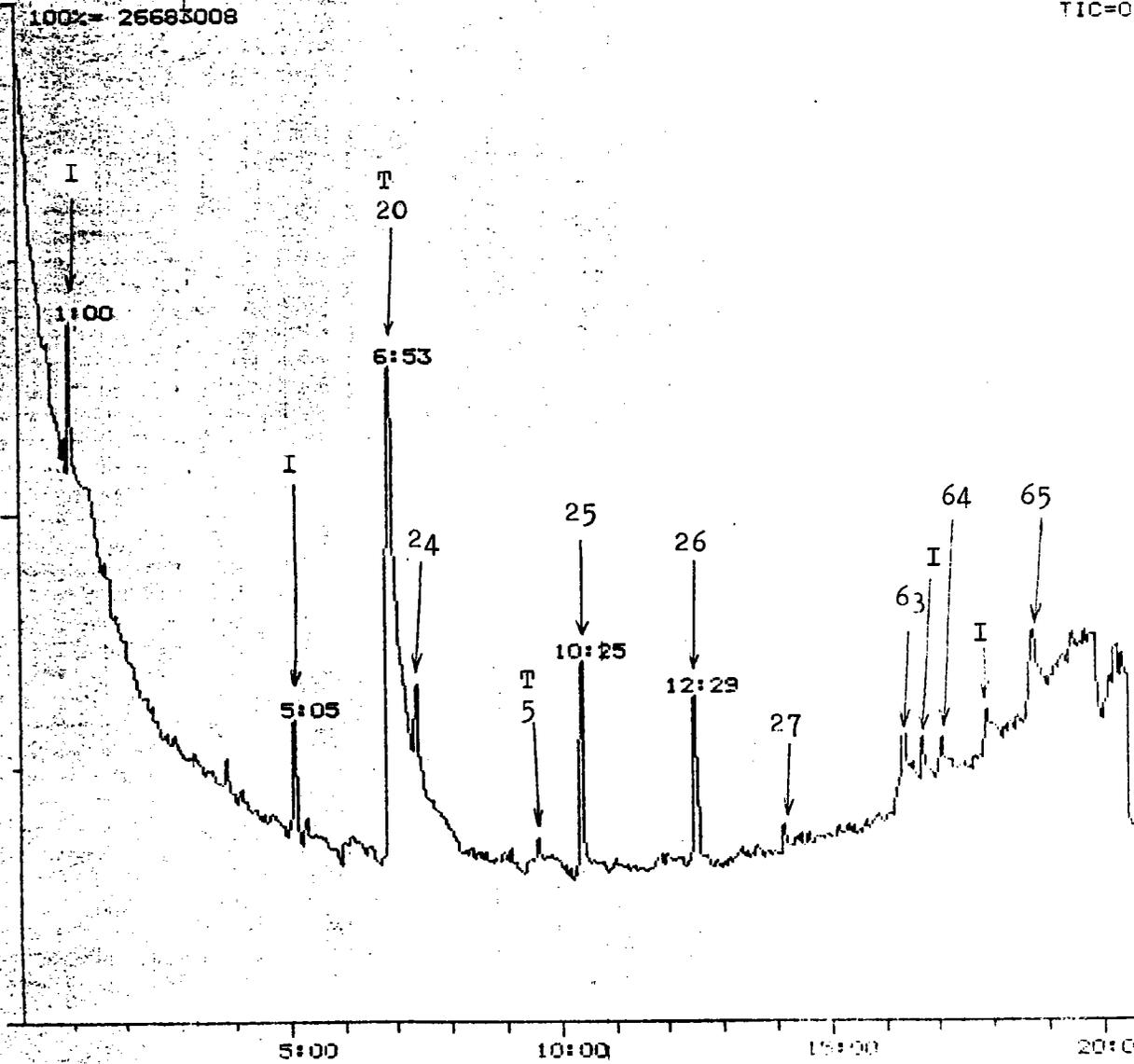


Figure 236 : Chromatogramme de la phase diméthylformamide silylée de l'échantillon âgé de huit jours après ensemencement avec Corynebacterium sp.3.

NERMAC/SIDAR U 3.0  
FILE 'A': J2DMF  
AGRO, CORY

[ 64, 8 ]

02-MAR-87 10:38  
28-FEB-87 13:53

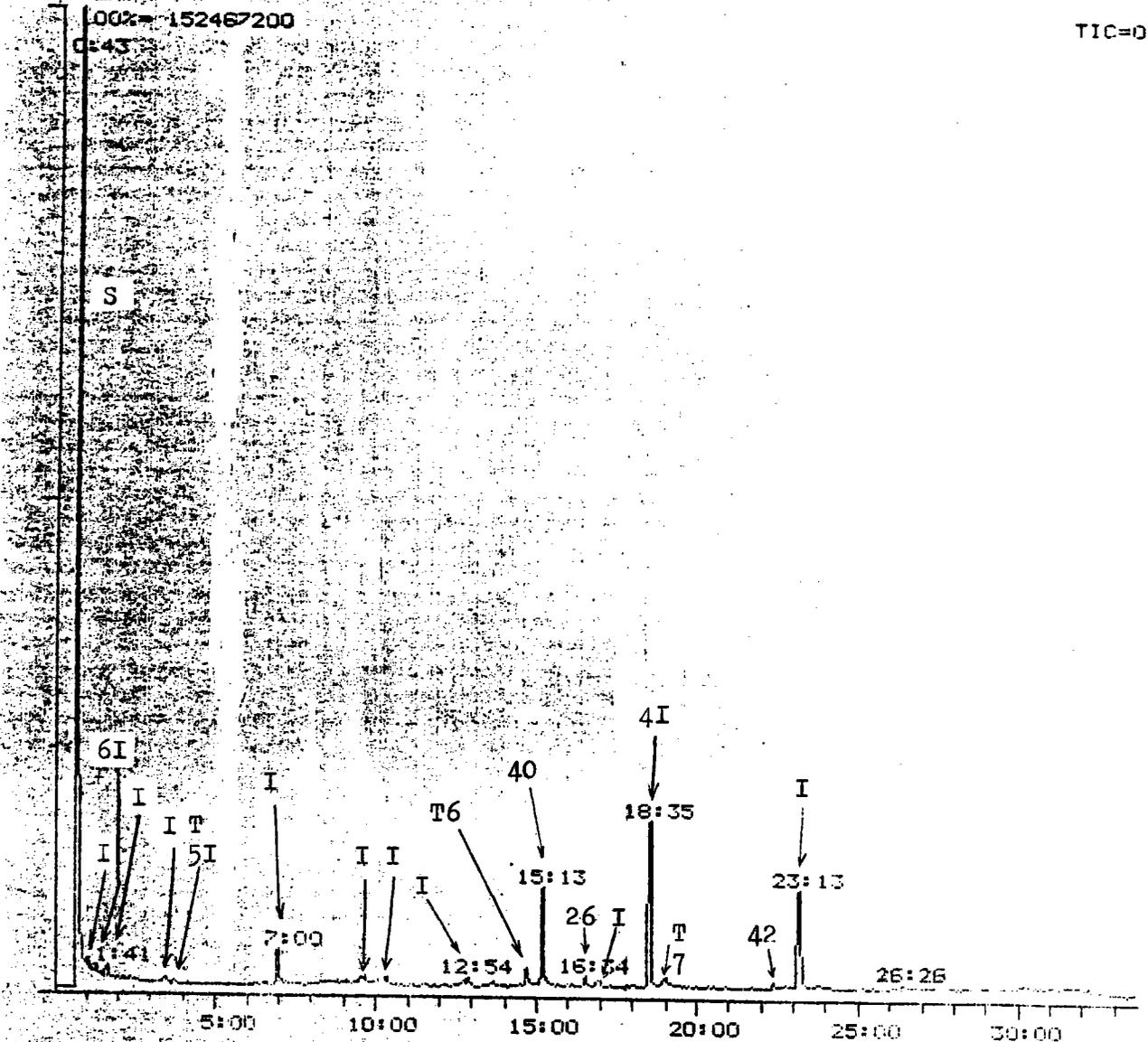


Figure 237 : Chromatogramme de la phase diméthylformamide silylée de l'échantillon âgé de deux jours après ensemencement avec Agrobacterium sp.2 et Corynebacterium sp.3.

NERMAG/SIDAR U 3.0  
FILE A: DPS:JSDMF  
AGRO, CORY

[ 64, 8 ]

01-OCT-86 01:50  
28-FEB-87 09:52

100% = 4998408  
C=40

TIC=0

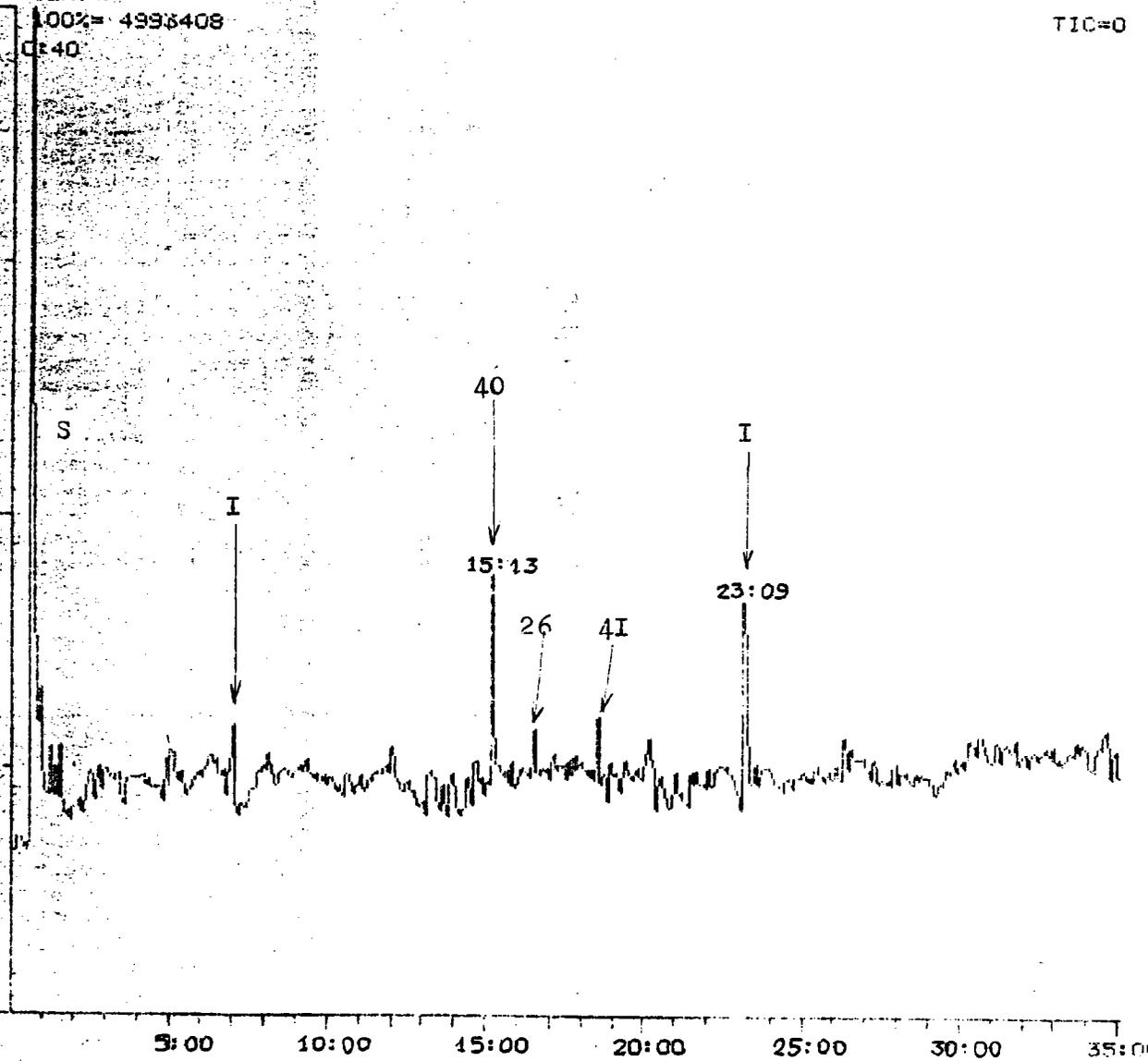


Figure 238 : Chromatogramme de la phase diméthylformamide silylée de l'échantillon âgé de trois jours après ensemencement avec Agrobacterium sp.2 et Corynebacterium sp.3.

NERMAG/SIDAR U.S.O.  
FILE A: DPS: J4DMF  
AGRO, CORY

[ 64, 81

01-OCT-88 03:35  
28-FEB-87 10:55

(002- 93745816

TIC=0

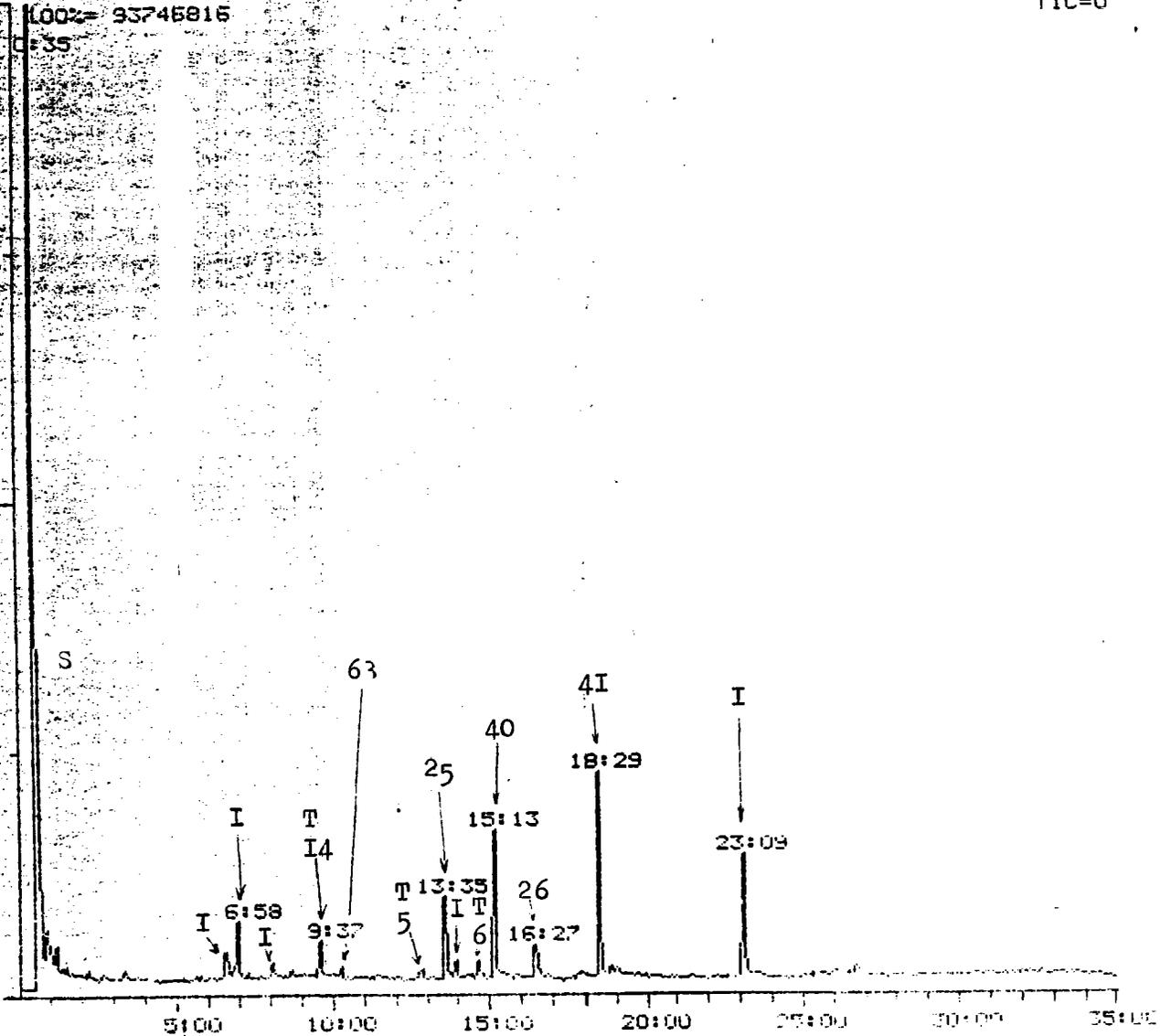


Figure 239 : Chromatogramme de la phase diméthylformamide silylée de l'échantillon âgé de quatre jours après ensemencement avec Agrobacterium sp.2 et Corynebacterium sp.3.

MAC/SIDAR U 3:0  
E. A: DPS: J6TMF  
RD, CORY

[ 64, 81

01-OCT-86 04:36  
28-FEB-87 11:37

TIC=0

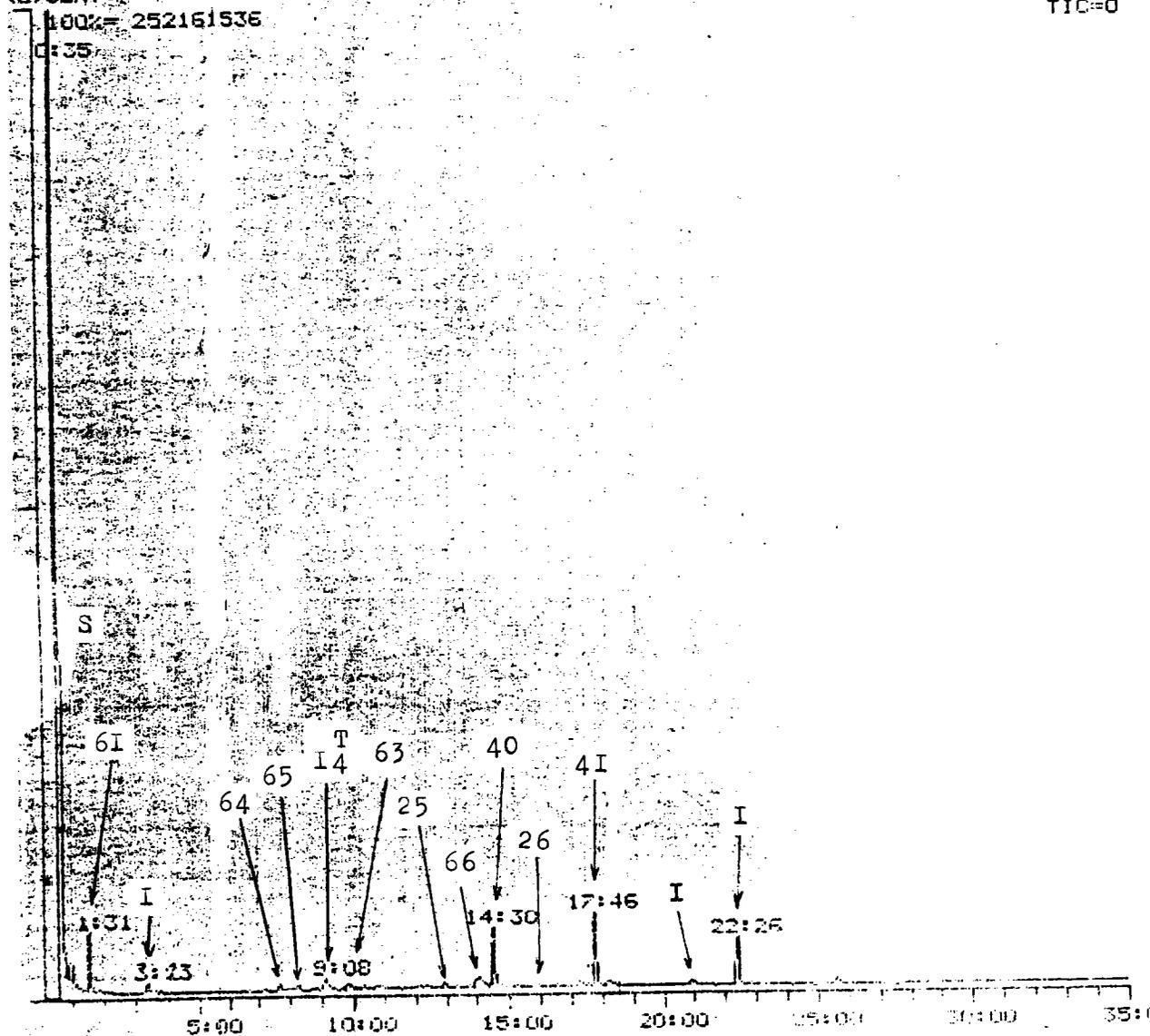


Figure 240 : Chromatogramme de la phase diméthylformamide silylée de l'échantillon âgé de six jours après ensemencement avec Agrobacterium sp.2 et Corynebacterium sp.3.

NERMAG/SIDAR V. 3.0  
FILE: AL-DPS:JADMF  
AGRO.CORV

[ 64, 91

01-OCT-86 00:31  
28-FEB-87 12:50

TIC=0

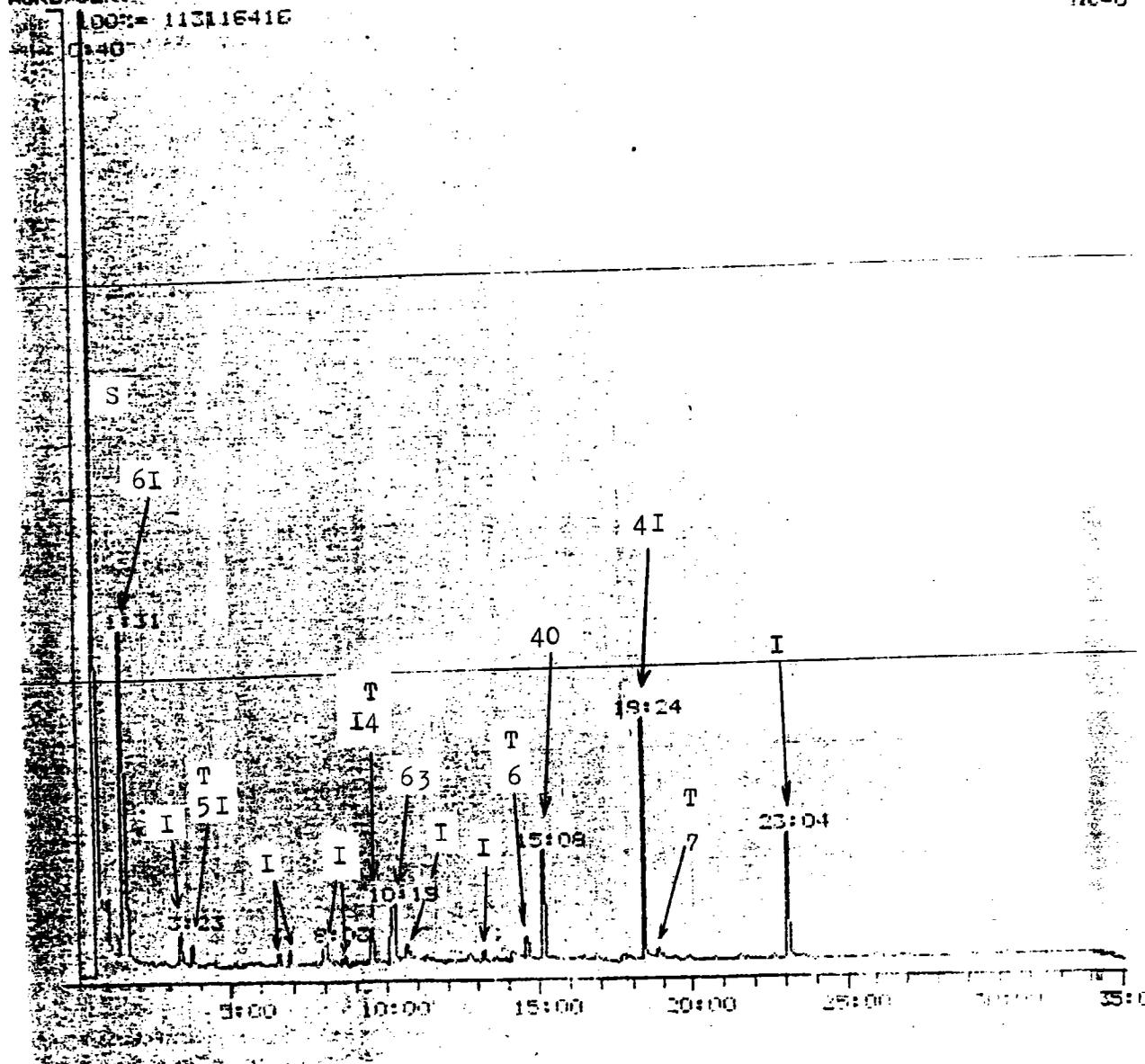


Figure 24I : Chromatogramme de la phase diméthylformamide silylée de l'échantillon âgé de huit jours après ensemencement avec Agrobacterium sp.2 et Corynebacterium sp.3.

# ANNEXE X

Spectres de masse de :

- Tétraoxyéthylène ou propylène
- Hydroxybenzoate
- Hydroxybenzèneacétate
- Fragments de Tensioactifs P94 et PI03
- Antioxydant
- Phtalate
- Phosphate



Les composés 1T, 6T, 7T, 8T, 14T, 43T, 44T, 45T, 51T, et 58T correspondent à des molécules de type polymère, caractérisées par l'ordinateur du spectromètre de masse comme étant différentes molécules de tétraoxyéthylène ou propylène silylées avec un taux de certitude de 89%.

Ces molécules n'appartiennent pas aux tensioactifs, puisque leur analyse n'a pas révélé la présence de telles molécules.

Cependant, ces composés ayant été retrouvés dans le témoin, ils correspondent probablement à des impuretés provenant d'un des produits ajoutés dans le milieu de culture ou des différents solvants utilisés. Leur découpage en spectrométrie de masse (figure 242) peut correspondre au schéma ci-dessous :

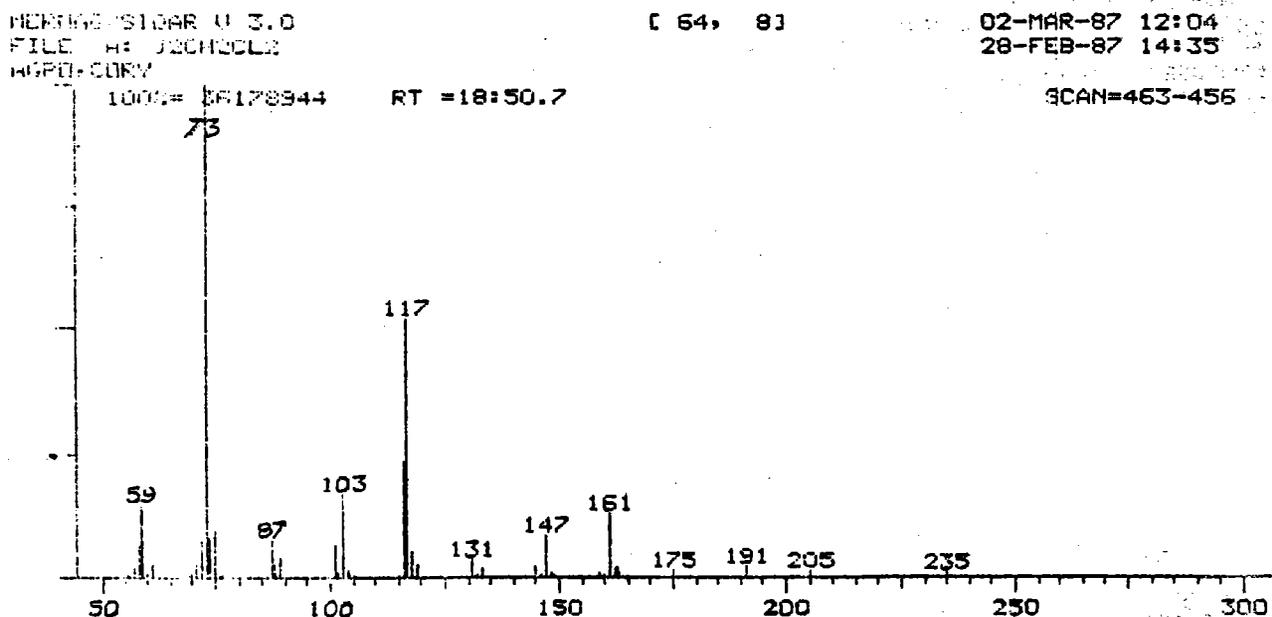
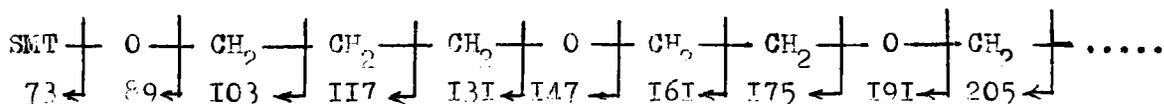


Figure 242 : Spectre de masse des différentes molécules du type tétraoxyéthylène ou propylène silylées (70 eV).

Les différents produits présentent le même spectre mais avec des intensités différentes pour les fragments m/z.

Le composé 2T correspond à un composé hydroxybenzoate silylé, comme le propose l'ordinateur du spectromètre de masse avec un taux de certitude de 81% (figure 243 ) (PM = 282).

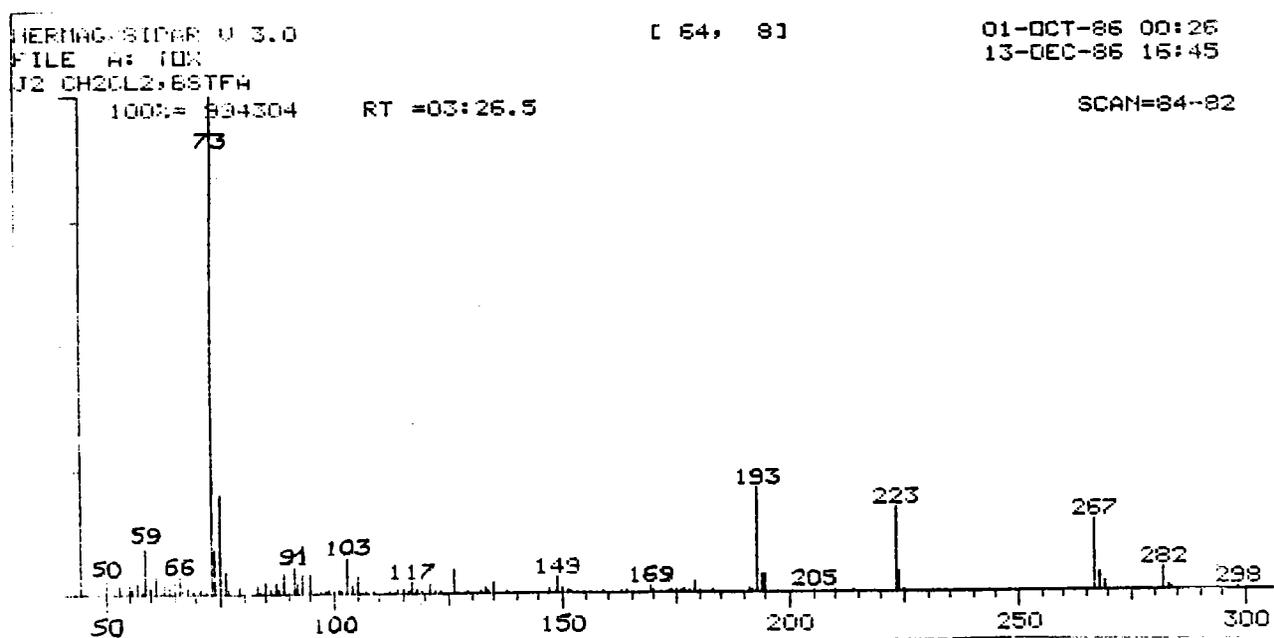


Figure 243 : Spectre de masse de l'hydroxybenzoate silylé (70 eV).



HERNANDEZ STONE P. 3.0  
FILE A: TECH20LE  
MGRO: CERN

1 64 81

02-MAR-87 11:46  
28-FEB-87 14:35

SCAN=248-245

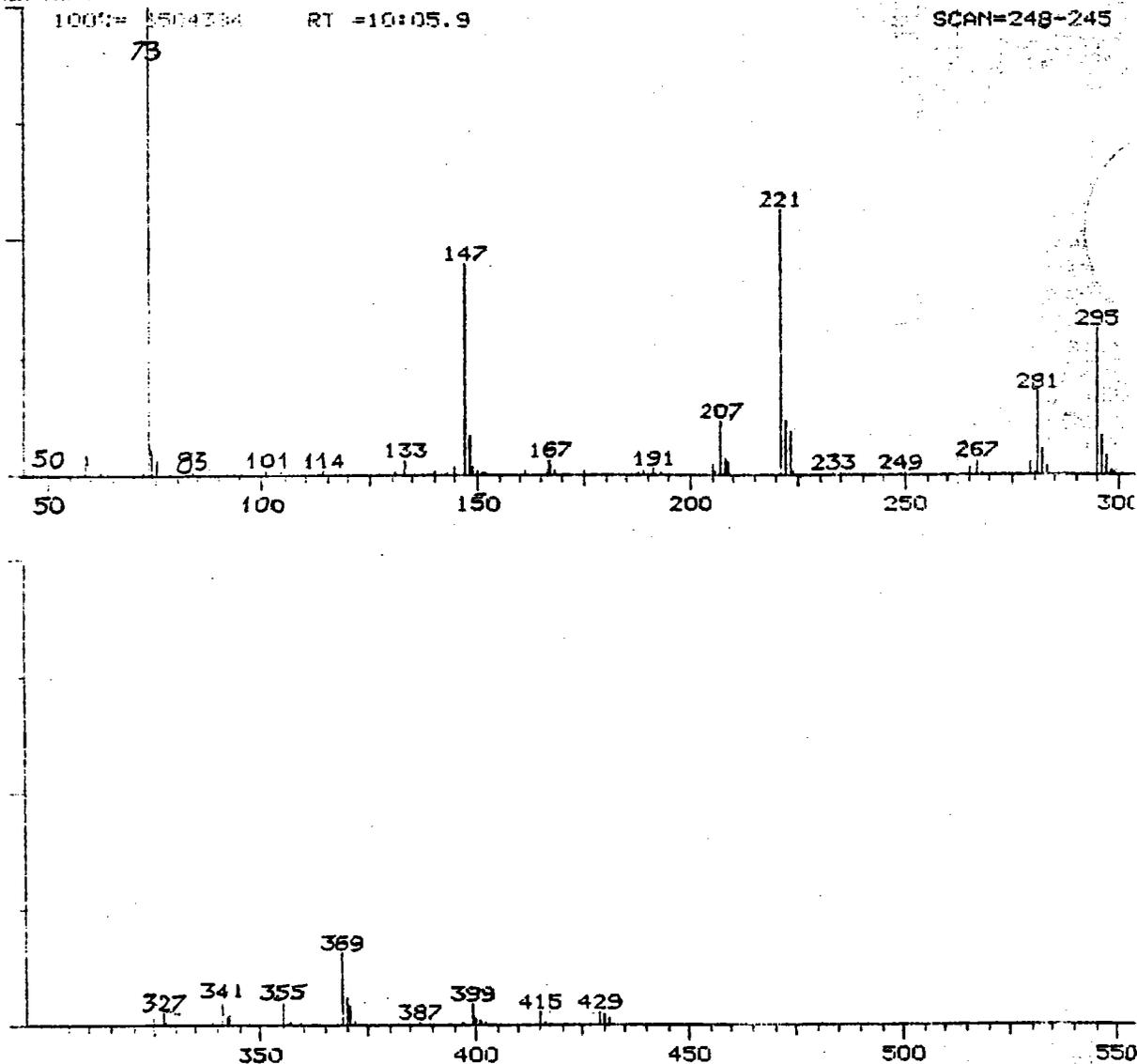


Figure 245 : Spectre de masse d'un fragment de tensioactif (70 eV ).

Les fragments de tensioactif sont d'ailleurs très probablement silylés, car les pics des chromatogrammes ont une très bonne définition, ce qui n'est pas le cas des pics obtenus lors de l'étude des tensioactifs silylés seuls.

En effet, ceux-ci forment, dans ce cas, des "pâtés" sur le chromatogramme.

Le composé I2T correspond à l'antioxydant, contenu dans les tensioactifs, qui a été caractérisé par l'ordinateur avec un taux de certitude de 85% (figure 246 ).

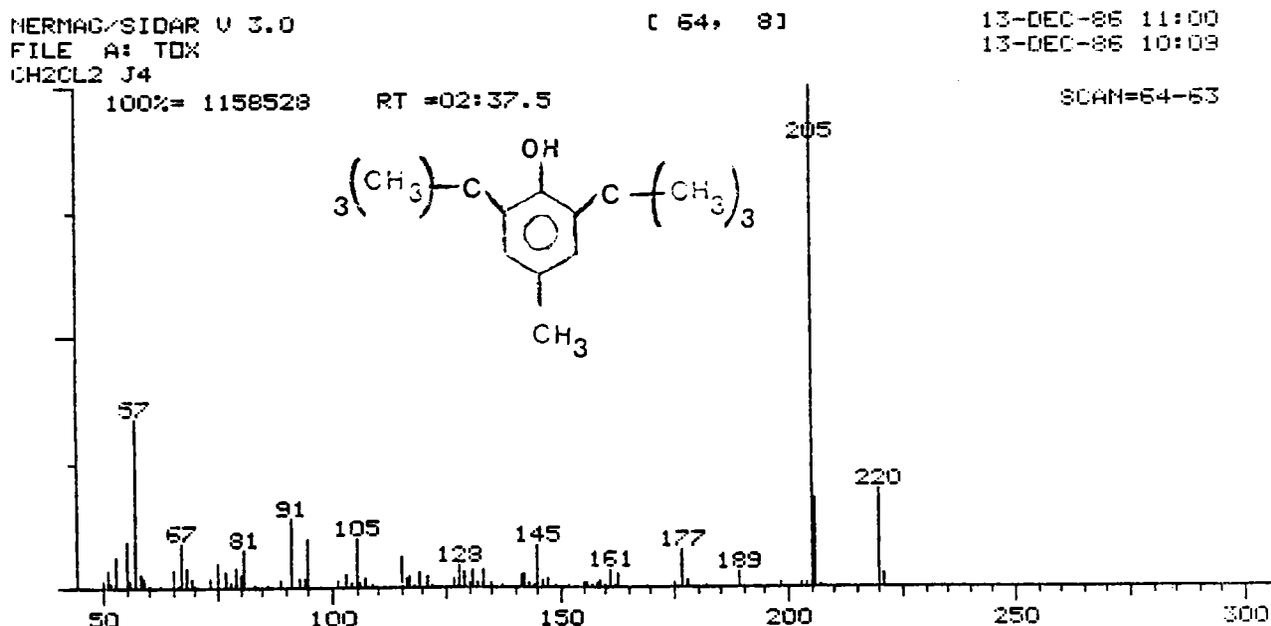


Figure 246 : Spectre de masse de l'antioxydant ajouté dans les tensioactifs P94 et PI03.

Le composé 12 correspond à un phtalate.

Les ions  $m/z = 149$  et  $m/z = 167$  sont caractéristiques de ces composés (figure 247 ).

L'ordinateur le caractérise avec un taux de certitude de 88%.

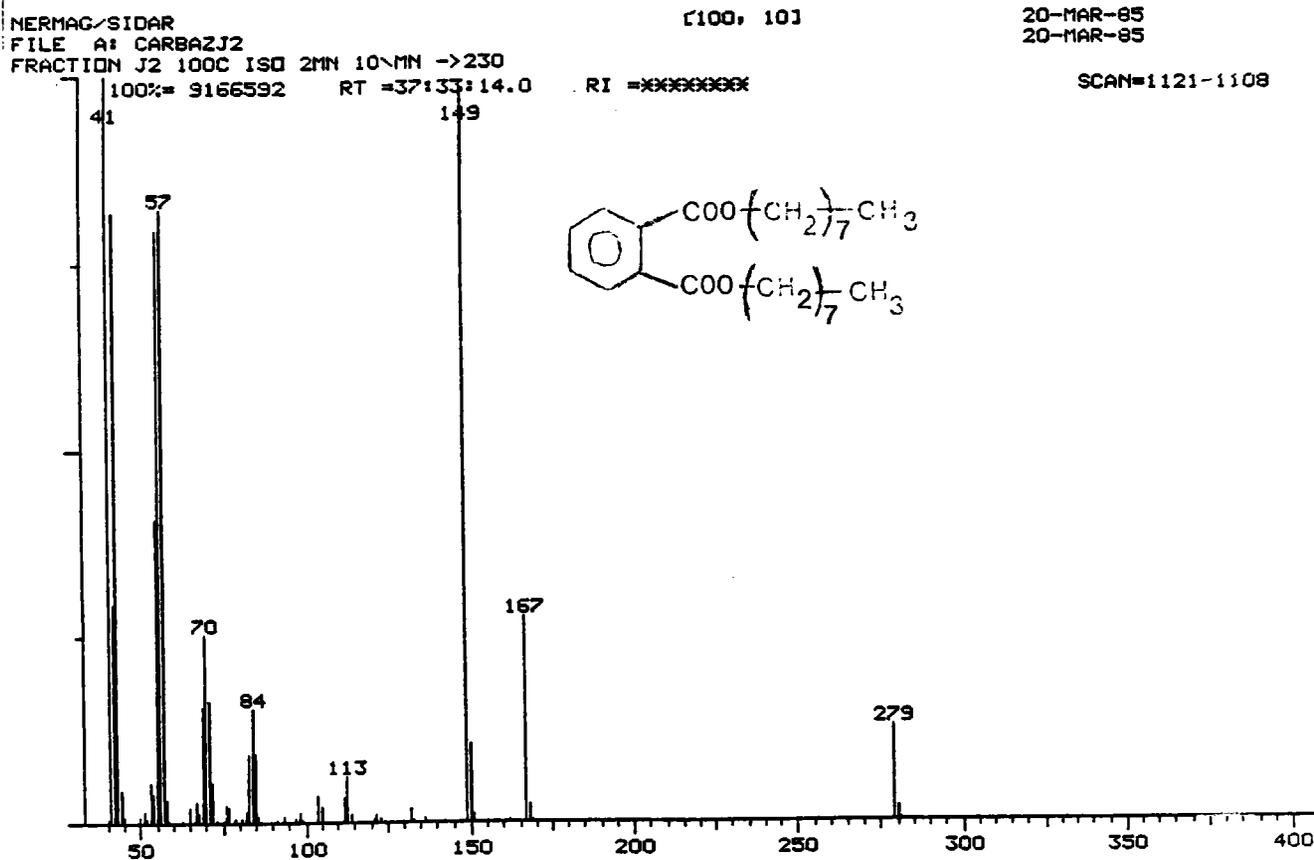
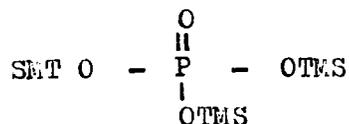


Figure 247 : Spectre de masse à 70 eV caractéristique d'un phtalate (PM = 390).

Le composé 6I correspond à la molécule de phosphate triméthyl sily-  
lée, comme le confirme l'ordinateur avec un taux de certitude de  
80%. Sa formulation est la suivante :



Le spectre de masse correspond à la figure 248 .

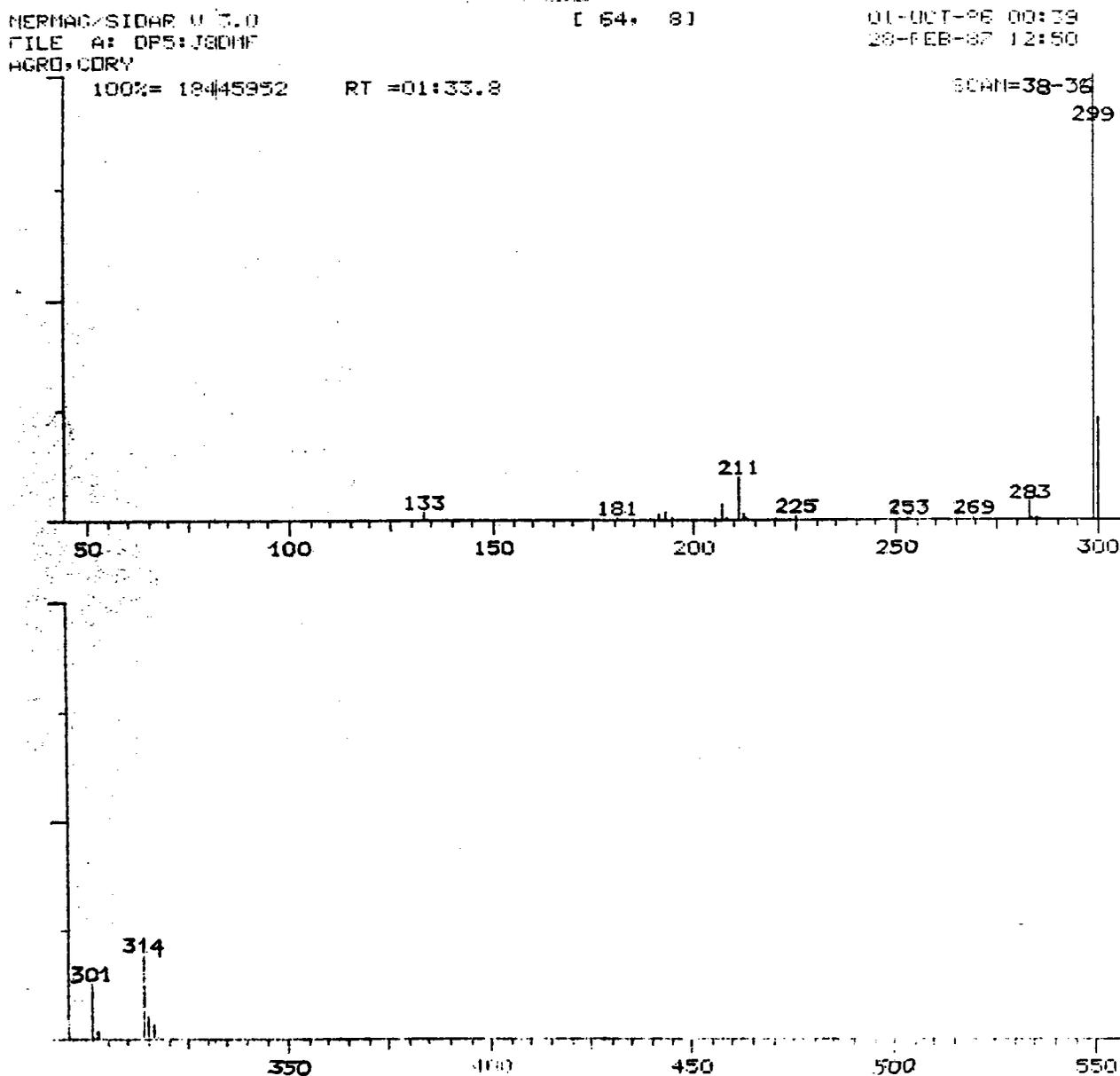


Figure 248 : Spectre de masse du phosphate trisilylé (70 eV ).

Le spectre de masse en ionisation chimique est représenté par la figure 249 .

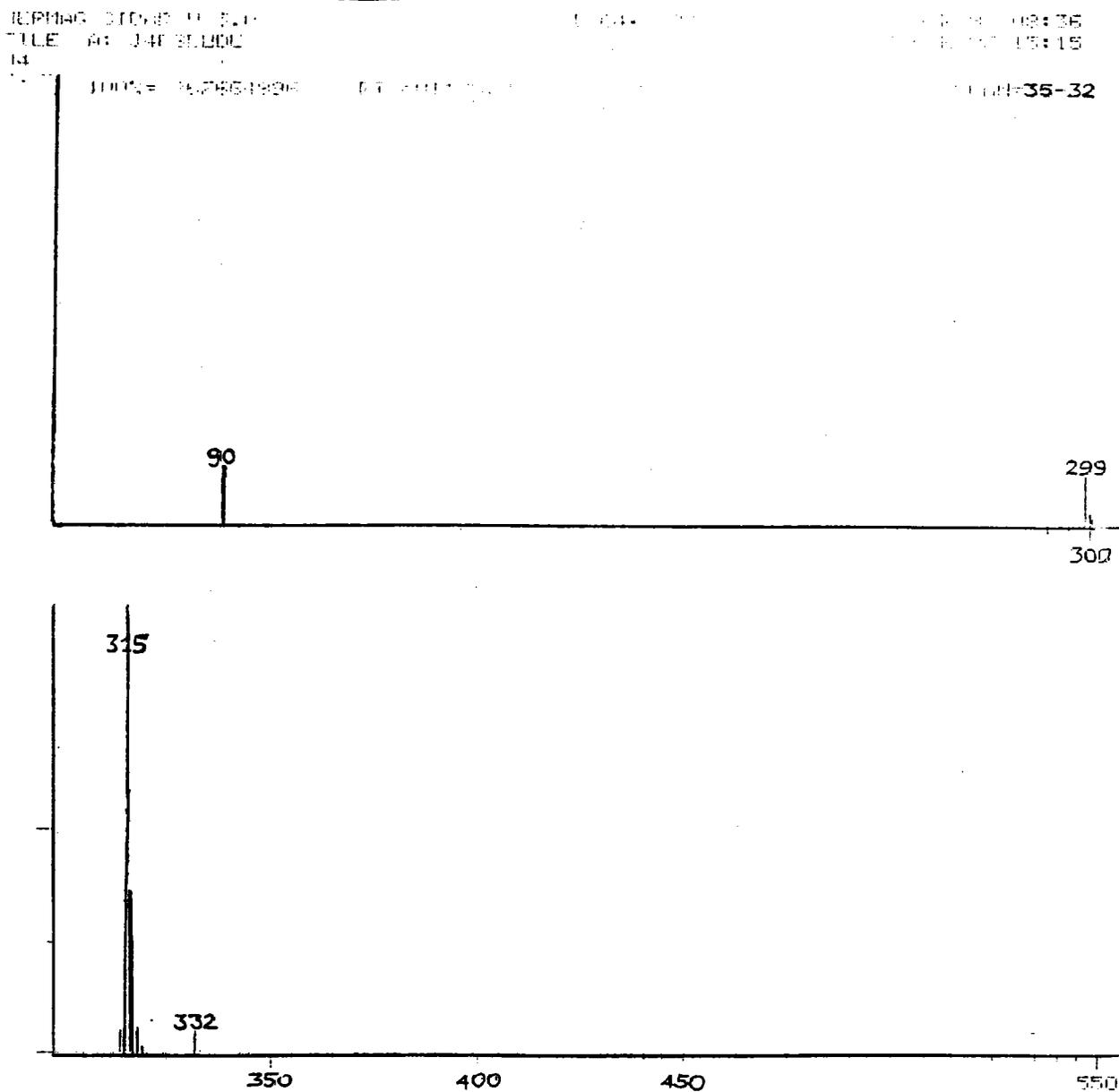


Figure 249 : Spectre de masse en ionisation chimique de la molécule de phosphate trisilylée.

# ANNEXE XI

Spectres de masse de :

- Carbazole silylé
  
- Méthylcarbazole silylé
  
- Méthylphénanthrène ou anthracène
  
- Monochlorocarbazole .

Les composés 5T correspondent à la molécule de carbazole silylée  
(figure 250 ) (PM = 239).

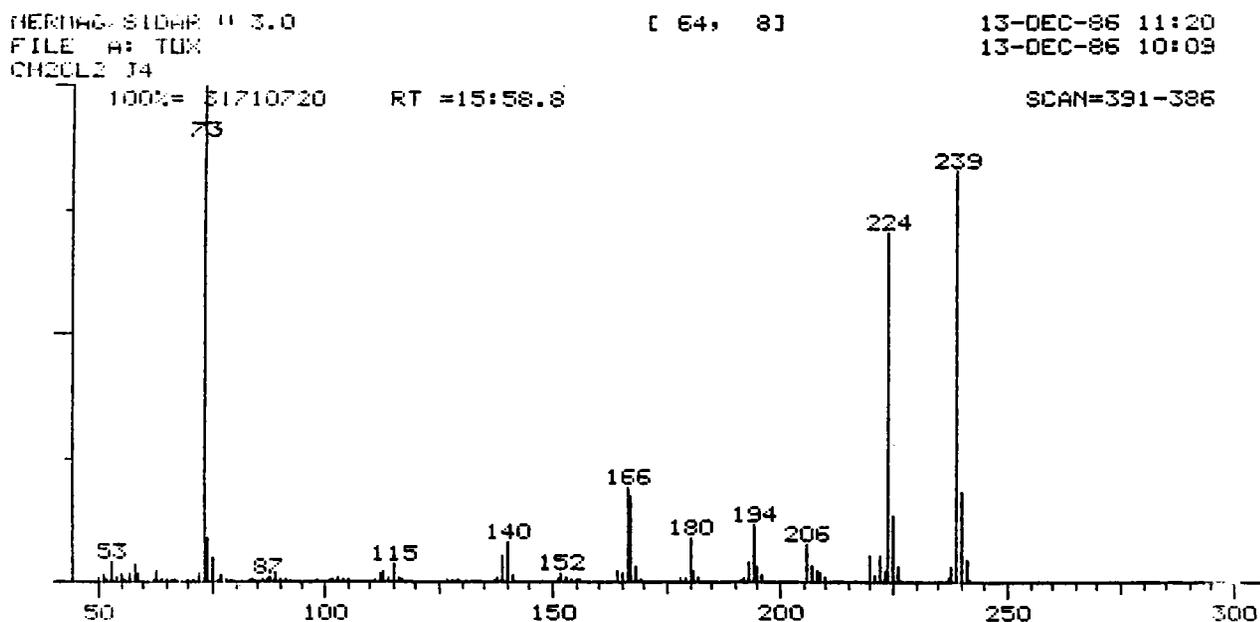


Figure 250 : Spectre de masse à 70 eV de la molécule de carbazole silylée.

Le poids moléculaire de la molécule de carbazole silylée est confirmé par le spectre de masse de la molécule en ionisation chimique sous atmosphère ammoniacale (figure 25I ).

Le pic de masse 240 est caractéristique du poids moléculaire (PM = 239).

NERMAC/STOAR U 3.0  
FILE: A: J2CH2CL2  
CORVIAQRO IC

[ 54, 81

31-MAR-87 15:18  
28-MAR-87 11:08

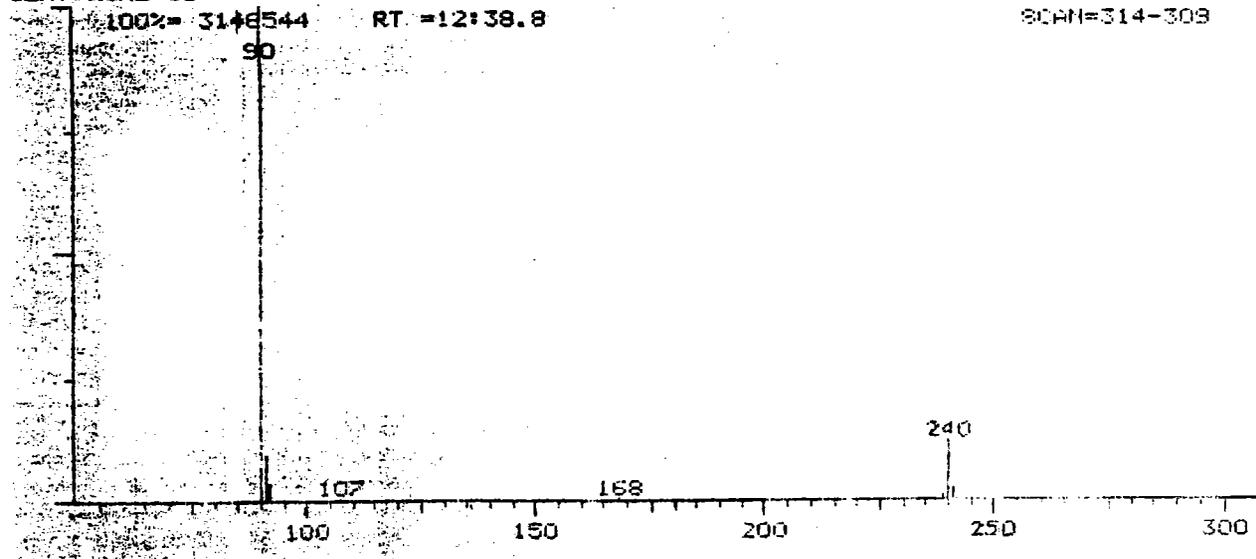


Figure 251 : Spectre de masse en ionisation chimique sous atmosphère ammoniacale de la molécule de carbazole silylée.

Les composés I5 et I6 correspondent à deux molécules de méthylcarbazole silylées de poids moléculaire PM = 253.

Ces composés correspondent aux impuretés du carbazole (Annexe I) (figure 252 ).

Leurs poids moléculaires ont été confirmés par ionisation chimique (figure 253 ).

HERNAG/SIDAR U 3.0  
FILE A: TOM  
CH2CL2 J4

[ 64, 81

13-DEC-86 11:28  
13-DEC-86 10:09

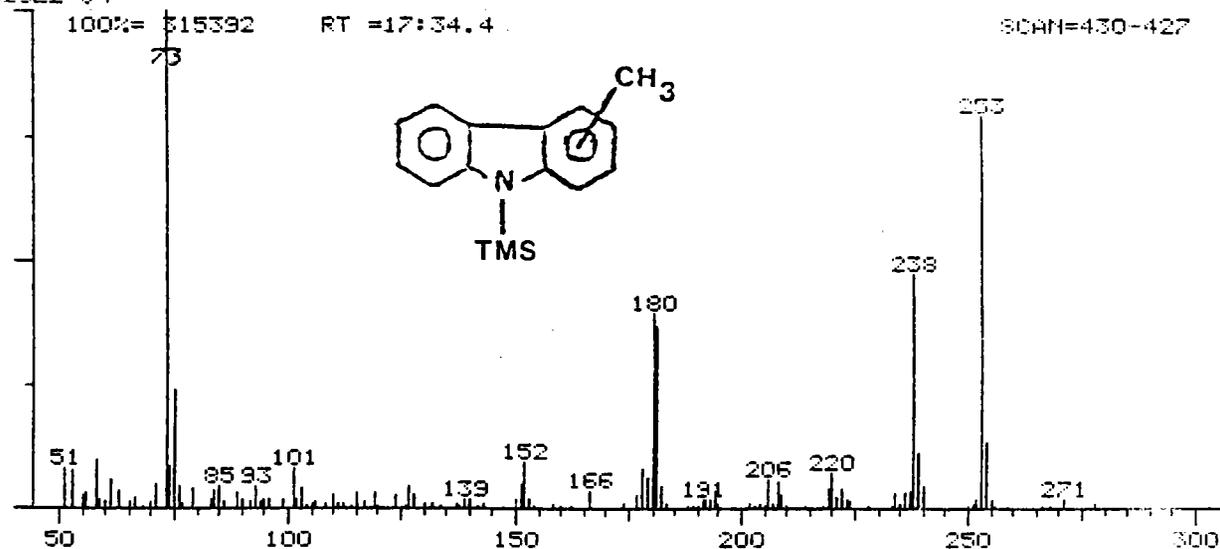


Figure 252 : Spectre de masse à 70 eV des molécules de méthylcarbazole silylées.

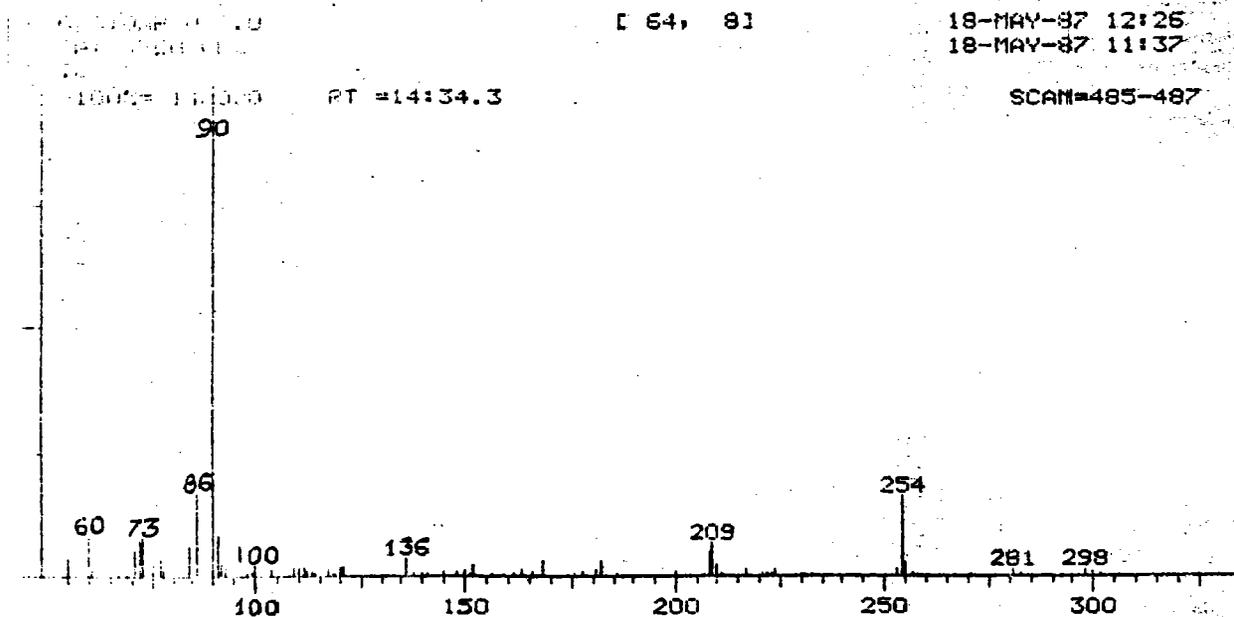


Figure 253 : Spectre de masse en ionisation chimique des molécules de méthylcarbazole silylées (M + I = 254).

Les composés 22 correspondent à 3 molécules du type méthylanthracène et / ou méthylphénanthrène dont les figures 254 , 255 et 256 correspondent aux spectres de masse des 3 molécules successives.

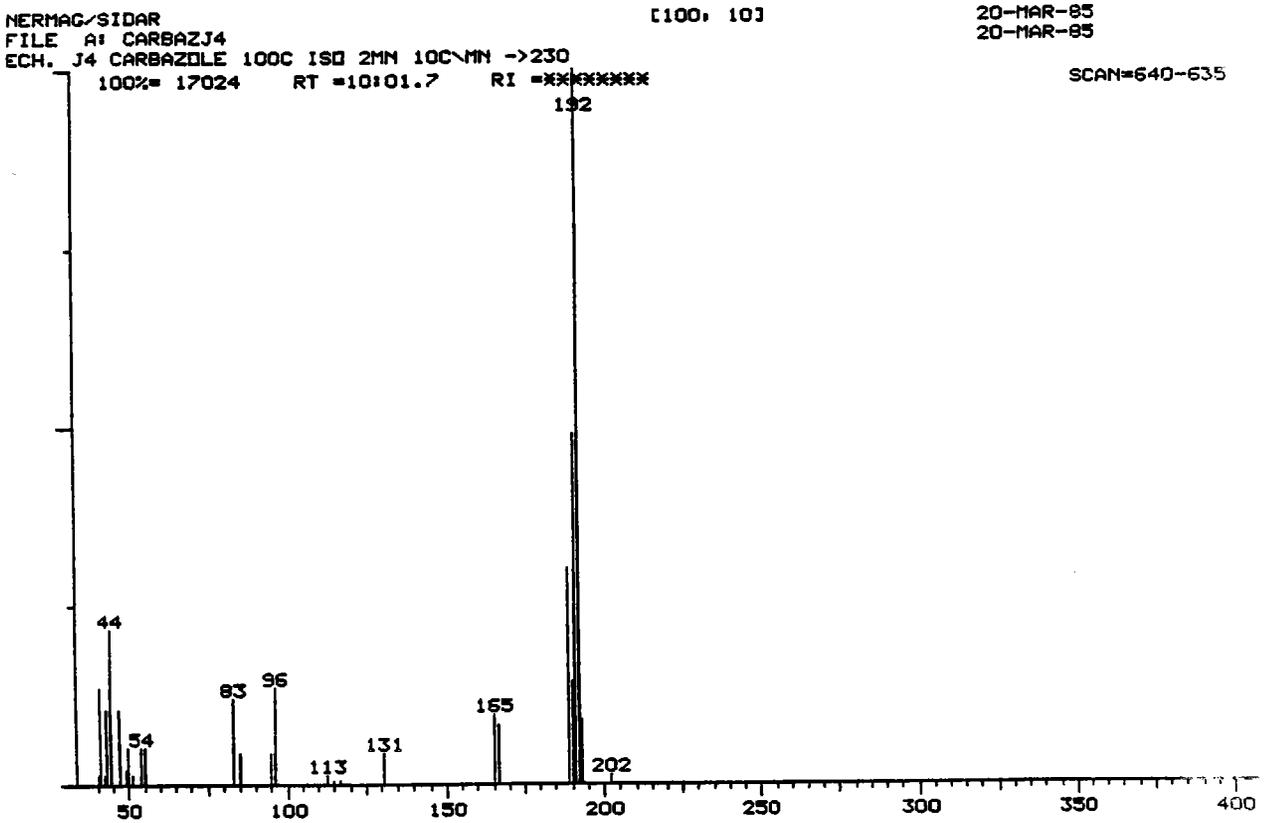


Figure 254 : Spectre de masse à 70 eV de la première molécule détectée de méthylanthracène ou méthylphénanthrène.

NERMAG/SIDAR  
FILE A1 CARBAZJ4  
ECH. J4 CARBAZOLE 100C ISO 2MN 10C\MN ->230  
100%= 88832 RT =10:07.7. RI =XXXXXXXX

- II5 - [100, 10]

20-MAR-85  
20-MAR-85

2

SCAN=648-644

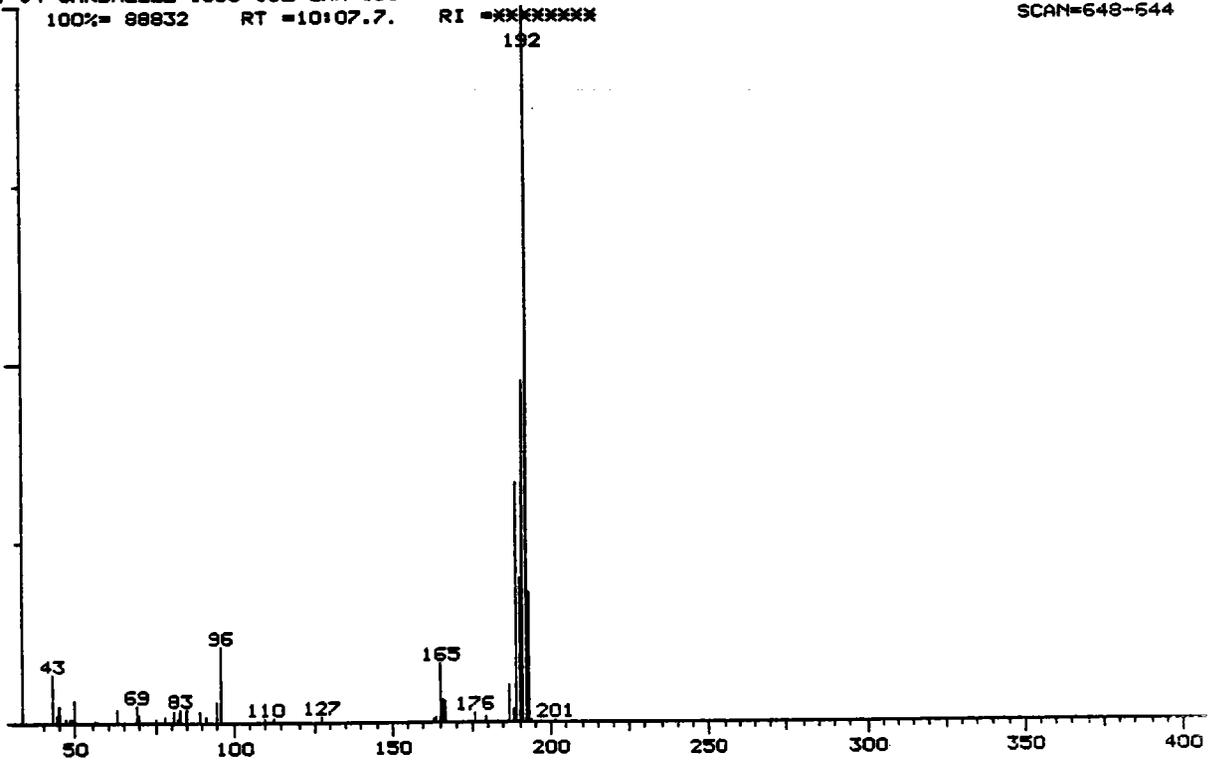


Figure 255 : Spectre de masse à 70 eV de la deuxième molécule détectée de méthylanthracène ou méthylphénanthrène.

NERMAG/SIDAR  
FILE A1 CARBAZJ4  
ECH. J4 CARBAZOLE 100C ISO 2MN 10C\MN ->230  
100%= 80128 RT =10:15:2 RI =XXXXXXXX

[100, 10]

20-MAR-85  
20-MAR-85

3

SCAN=658-655

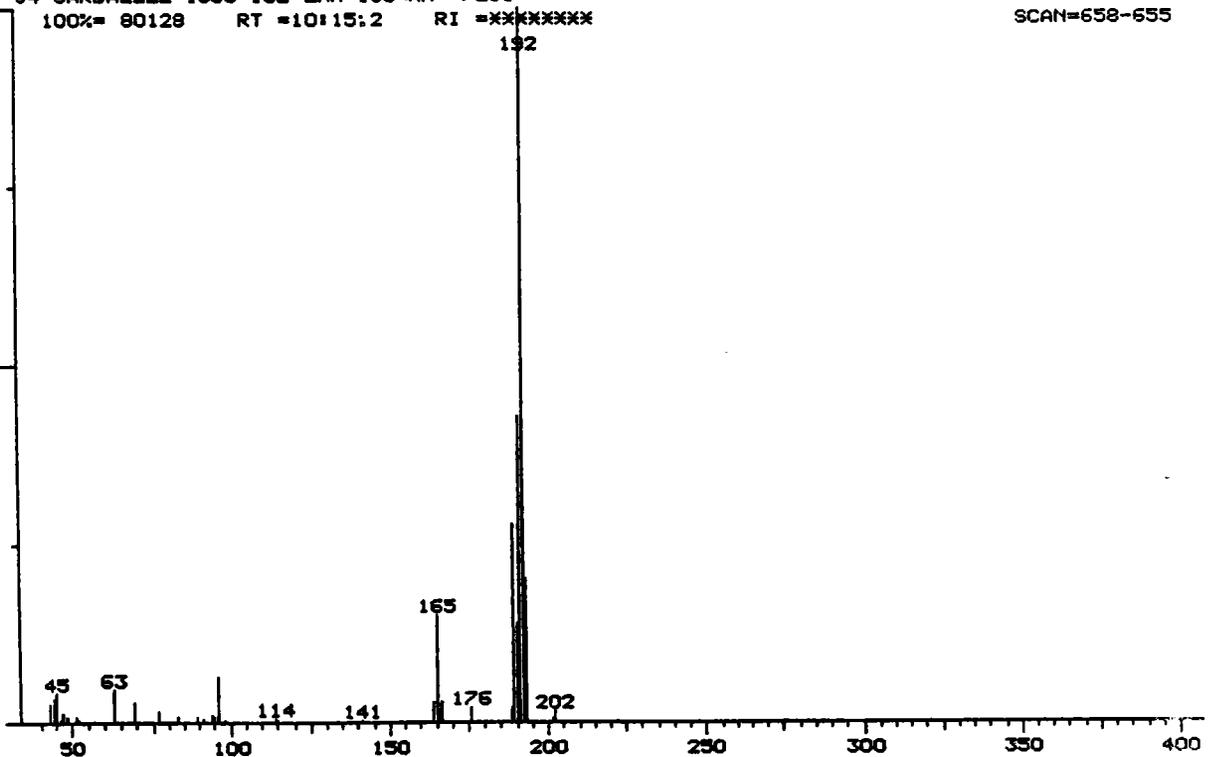


Figure 256 : Spectre de masse à 70 eV de la troisième molécule détectée de méthylanthracène ou méthylphénanthrène.

Le composé 62 correspond à la molécule de monochlorocarbazole, comme le montre le spectre de masse à 70 eV (figure 257 ), sur lequel nous pouvons observer le pic de masse  $m/z = 201$ , et le pic  $m/z = 203$ , dont l'intensité vaut le tiers du pic de masse.

Il faut en effet, tenir compte des rapports isotopiques du chlore ( $3\text{Cl}_{35}$  pour  $1\text{Cl}_{37}$ ).

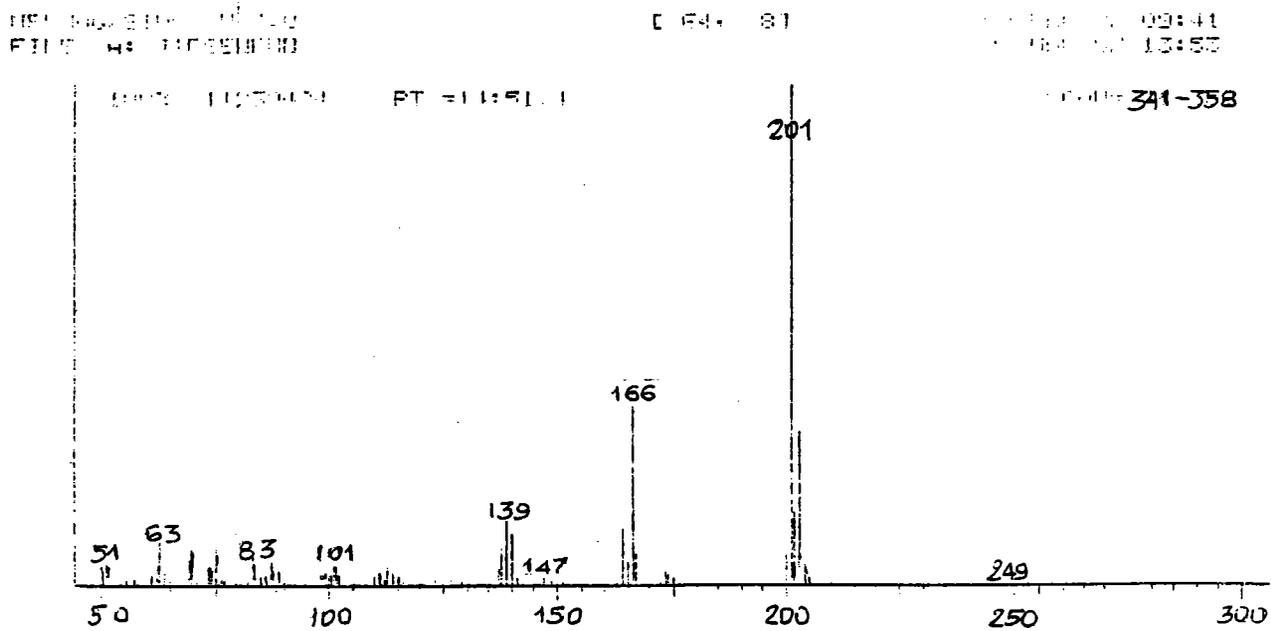


Figure 257 : Spectre de masse du chlorocarbazole (70 eV).

Le spectre de masse de la molécule de chlorocarbazole en ionisation chimique est représenté sur la figure 258 .

DATA: 1138178  
FILE: JOFFROT

184 93

18-MAY-87 12:59  
15-MAY-87 11:02

2

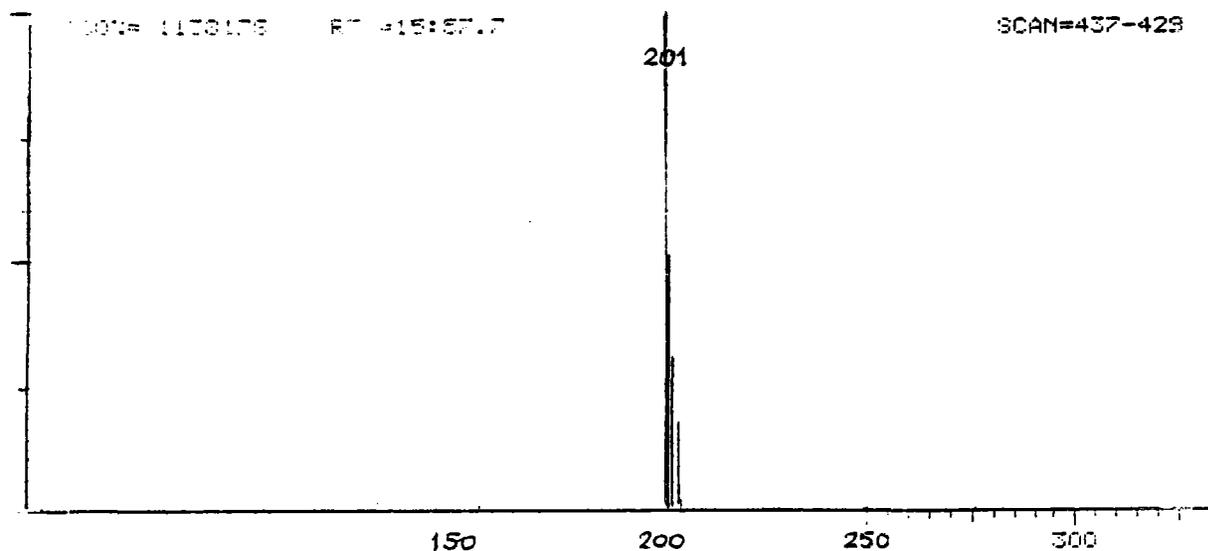


Figure 258 : Spectre de masse en ionisation chimique de la molécule de chlorocarbazole.

## **ANNEXE XII**

Les spectres de masse au matériel cellulaire (lyse cellulaire)

et aux produits excrétés par les bactéries sont rassemblés dans

les pages suivantes.

Le composé 9 correspond à un dérivé du cyclohexane, comme le propose l'ordinateur, avec un taux de certitude de 70 à 81%.

Cette molécule peut correspondre à un produit de dégradation du carbazole (figure 259 ).

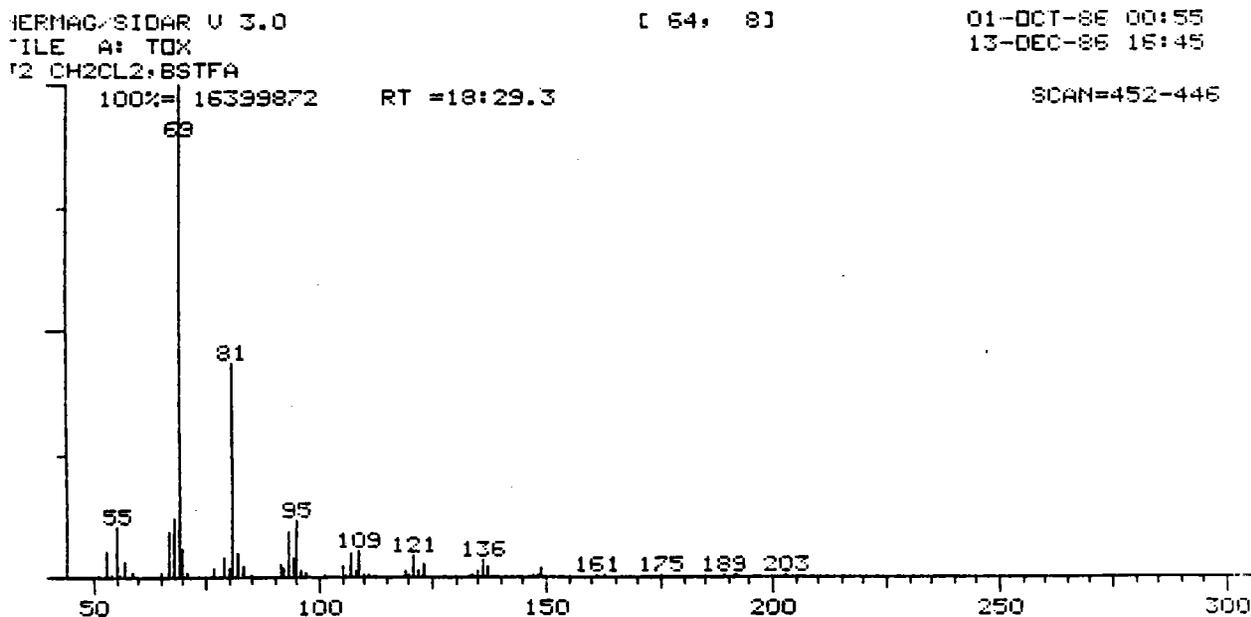


Figure 259 : Spectre de masse (70 eV ) d'un dérivé du cyclohexane.

Le composé 10 semble correspondre à un dérivé polycyclohexane, comme le propose l'ordinateur, avec un taux de certitude de 71%.

Cette molécule est d'ailleurs probablement silylée (ion  $m/z = 73$ ), ce qui peut montrer la présence de groupements hydroxylés ou carboxylés (figure 260 ).

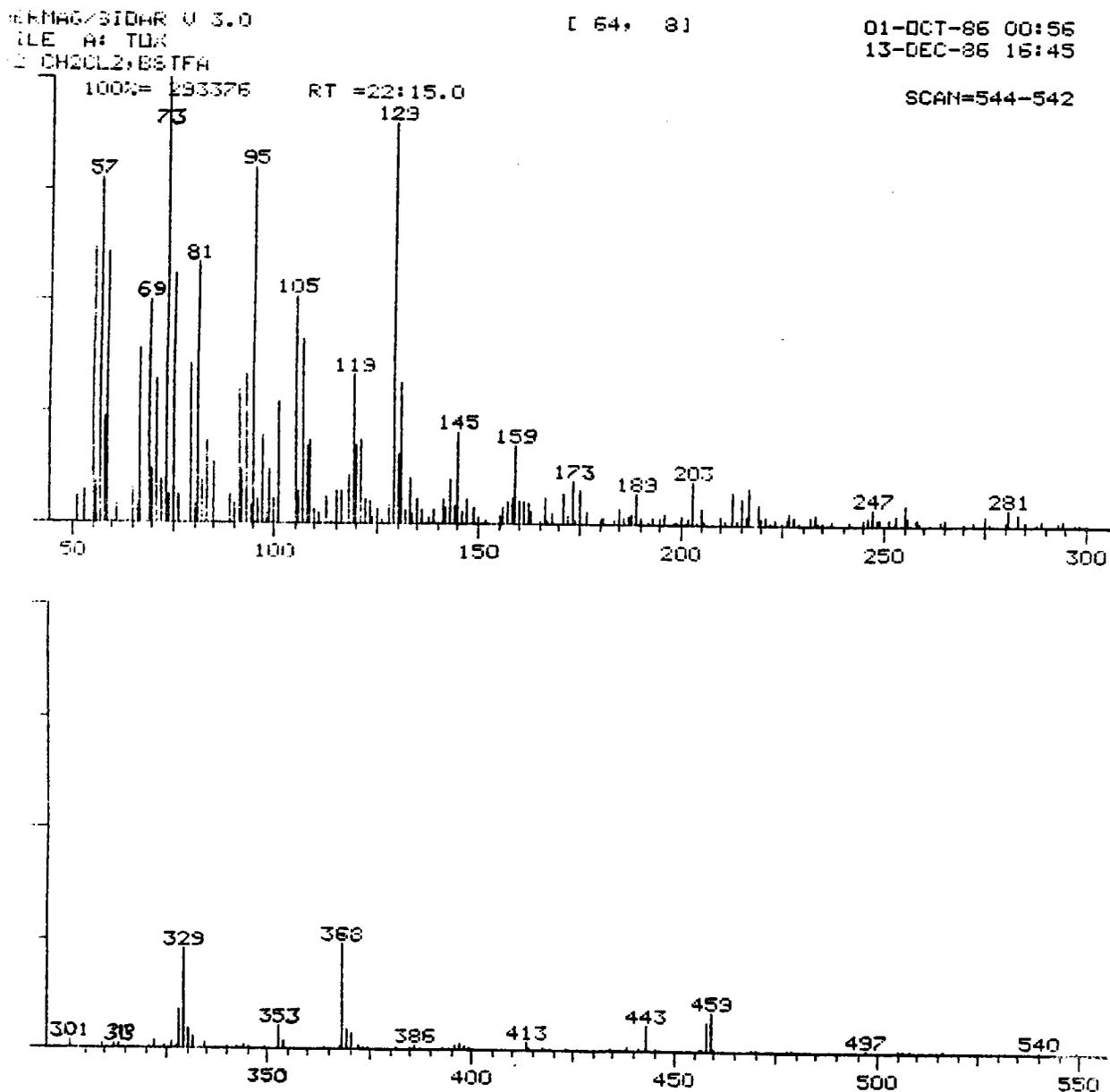


Figure 260 : Spectre de masse (70 eV ) d'un composé ayant un noyau type polycyclohexane.

Le composé 2I comme le composé 10 semble correspondre à un dérivé polycyclohexane comme le propose l'ordinateur, avec un taux de certitude de 74%.

Contrairement à la précédente, cette molécule n'est pas silylée (figure 26I ).

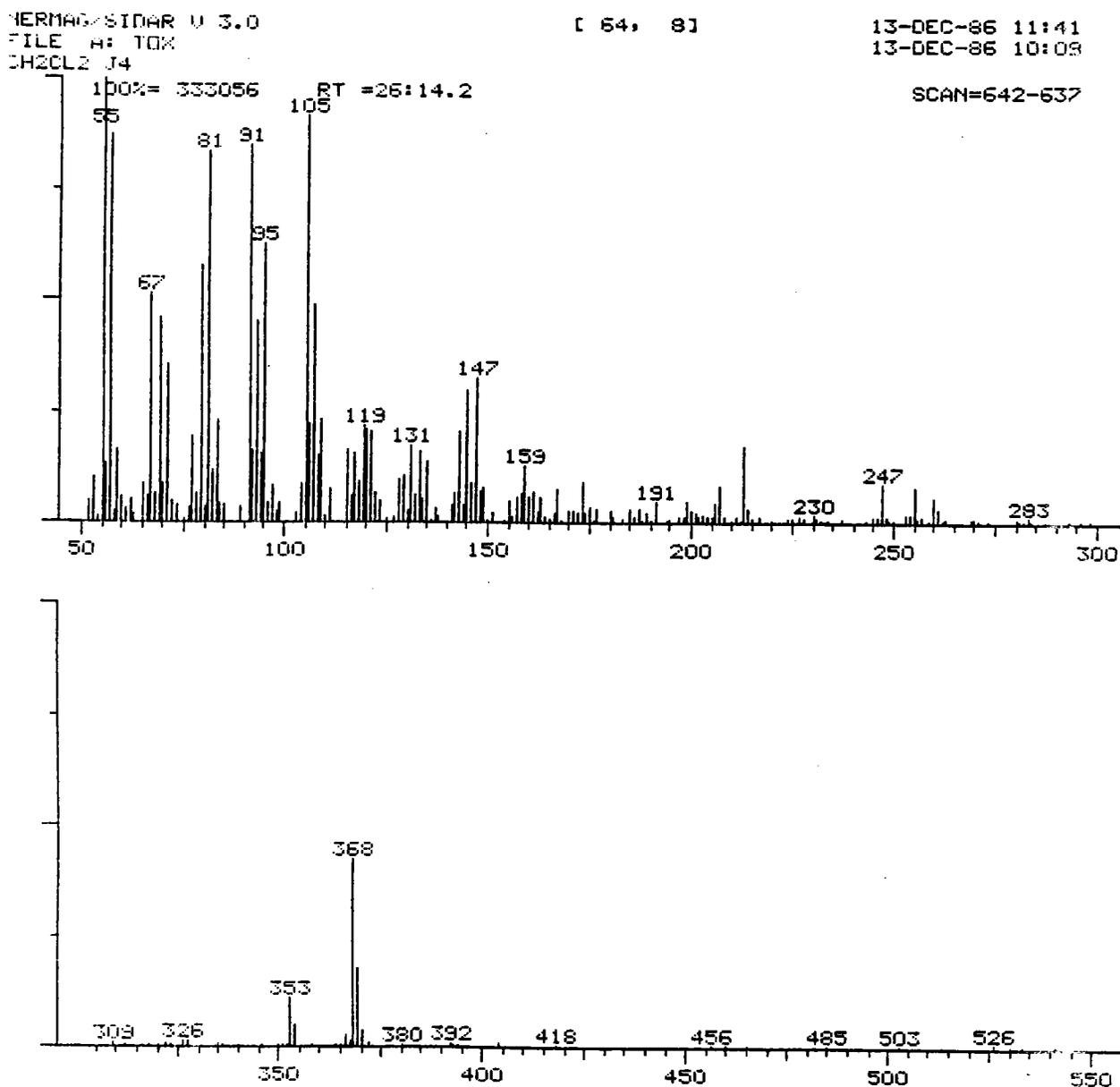


Figure 26I : Spectre de masse à 70 eV d'un composé ayant un noyau type polycyclohexane.

Les composés 40 et 4I correspondent respectivement à l'acide gras hexadécanoïque (palmitique) silylé et à l'acide gras octadécanoïque (stéarique) silylé.

La structure des spectres est caractéristique des acides gras. Leurs pics de masse n'ont pas été détectés en ionisation chimique. En effet, au-delà des chaînes de 10 carbones, les acides gras et les alcanes sont trop fragiles, en ionisation chimique, pour que leur pic de masse soit détecté.

Les deux acides gras ont été caractérisés avec un taux de similitude de 91% pour l'acide palmitique et de 89% pour l'acide stéarique.

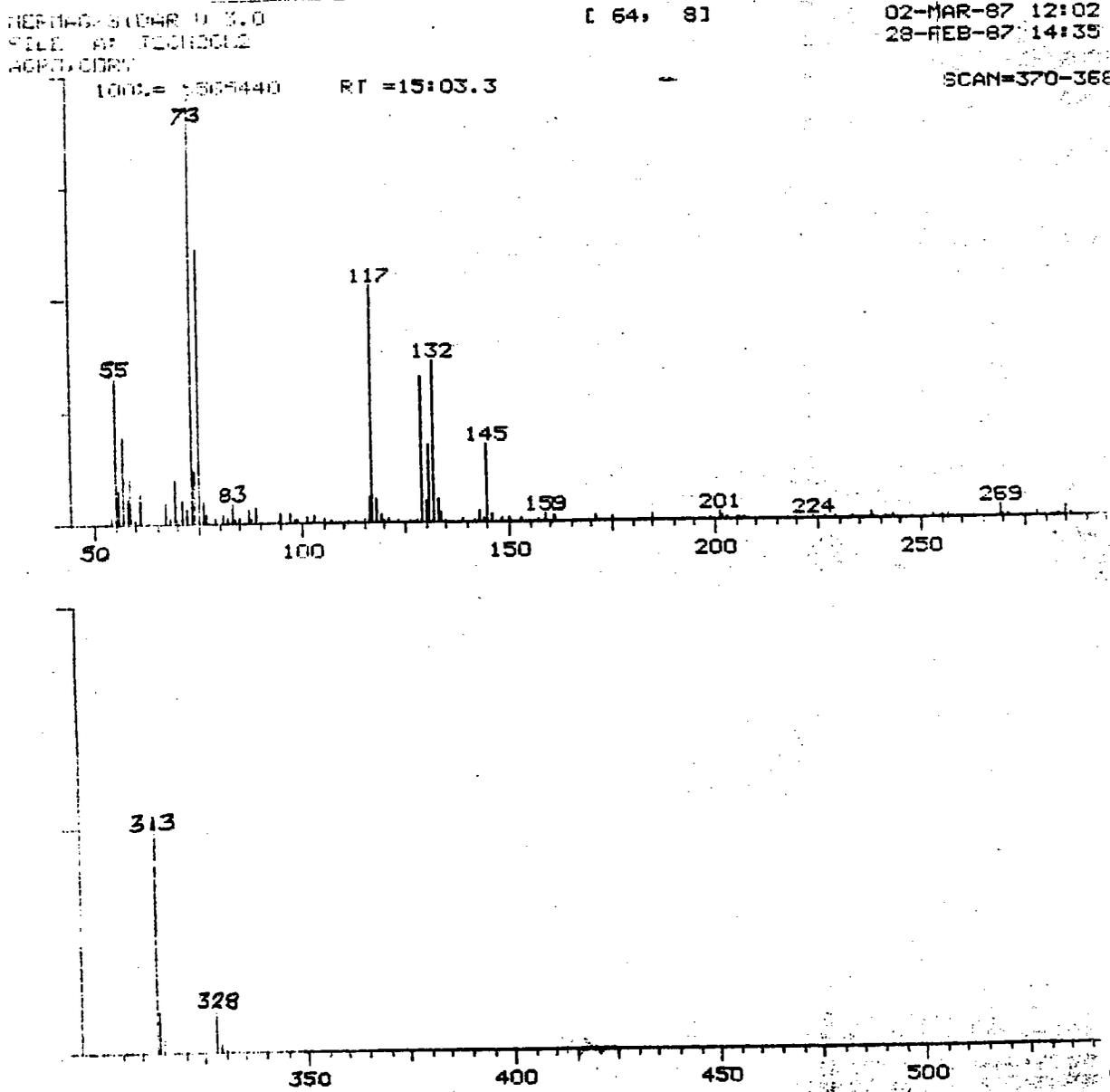


Figure 262 : Spectre de masse à 70 eV de l'acide palmitique (PM = 328) triméthyl silylé.

NERMAG/SIDAR 4 3.0  
FILE: AF J20M2CL2  
AGRO-CORY

[ 64, 8 ]

02-MAR-87 12:03  
28-FEB-87 14:35

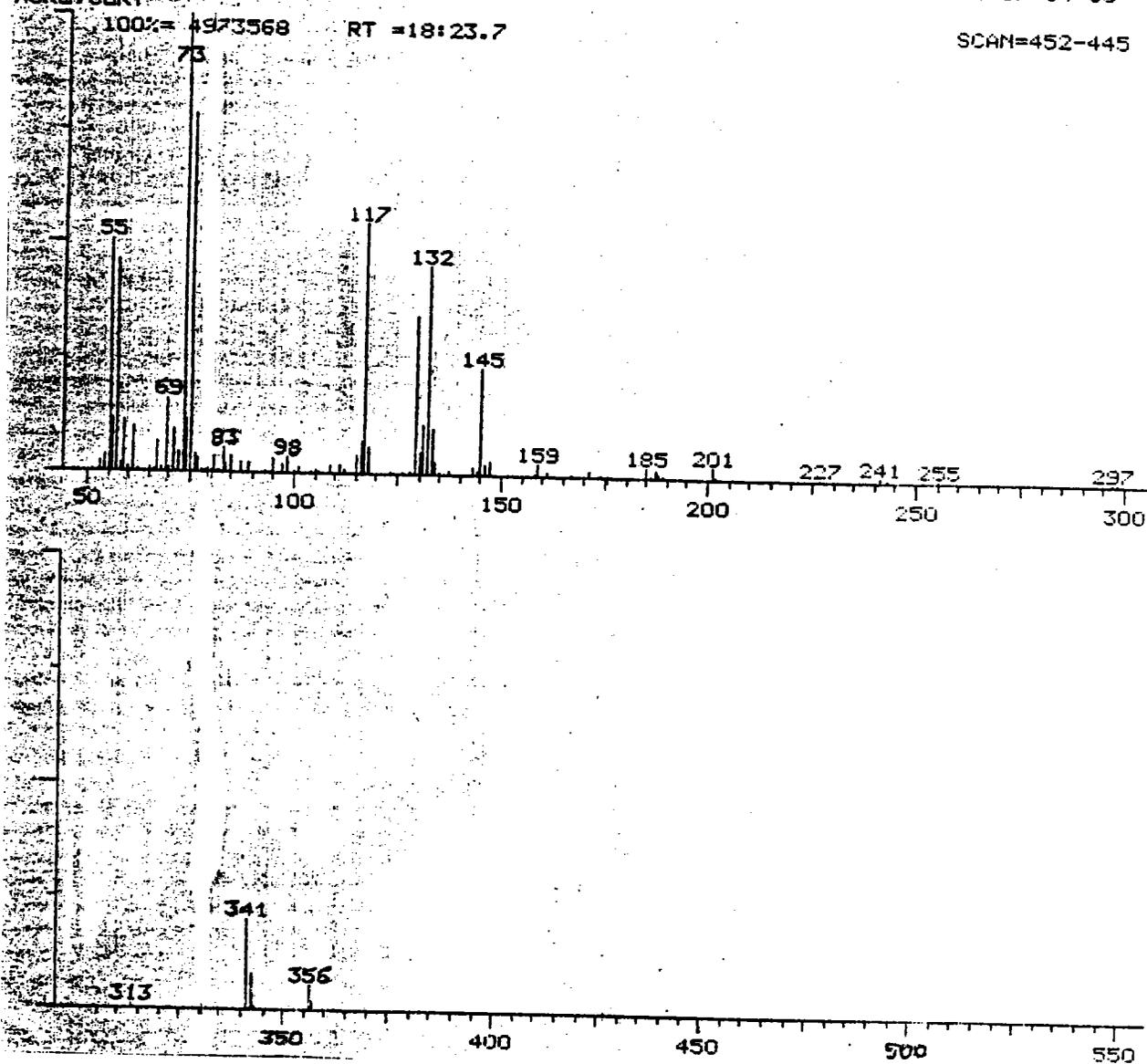
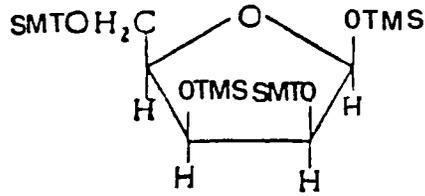


Figure 263 : Spectre de masse de l'acide stéarique à 70 eV  
(PM = 356) triméthyl silylé.

Le composé 52 correspondrait à un sucre du type ribofuranose comme le propose l'ordinateur, avec un taux de certitude de 75%.  
Sa formulation peut être la suivante :



PM = 438

Le spectre de masse est représenté sur la figure 264 .

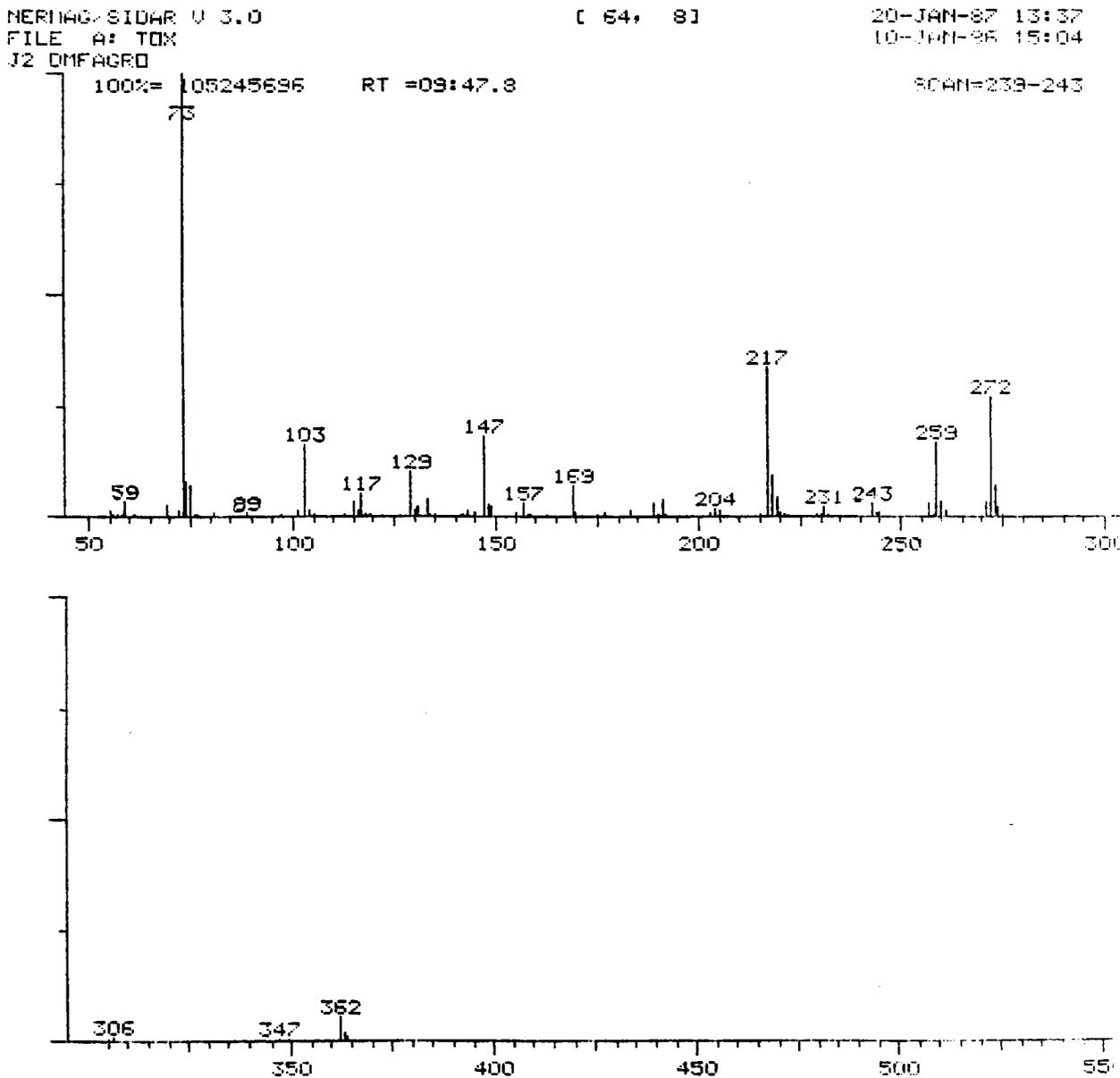
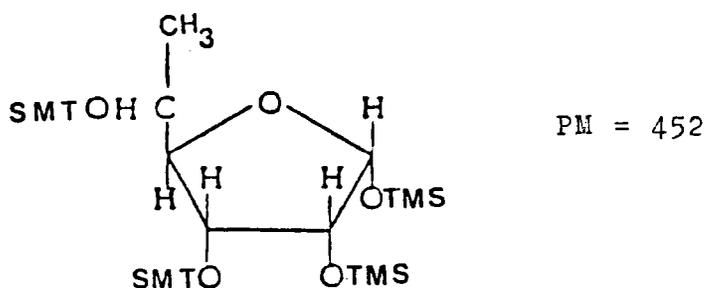


Figure 264 : Spectre de masse d'un sucre ribofuranose tétrasilylé.  
(70 eV ).

Le composé 53 peut correspondre à un sucre du type galactofuranose, comme le propose l'ordinateur, avec un taux de certitude de 76%.

Sa formulation peut être la suivante :



Le spectre de masse est représenté sur la figure 265 .

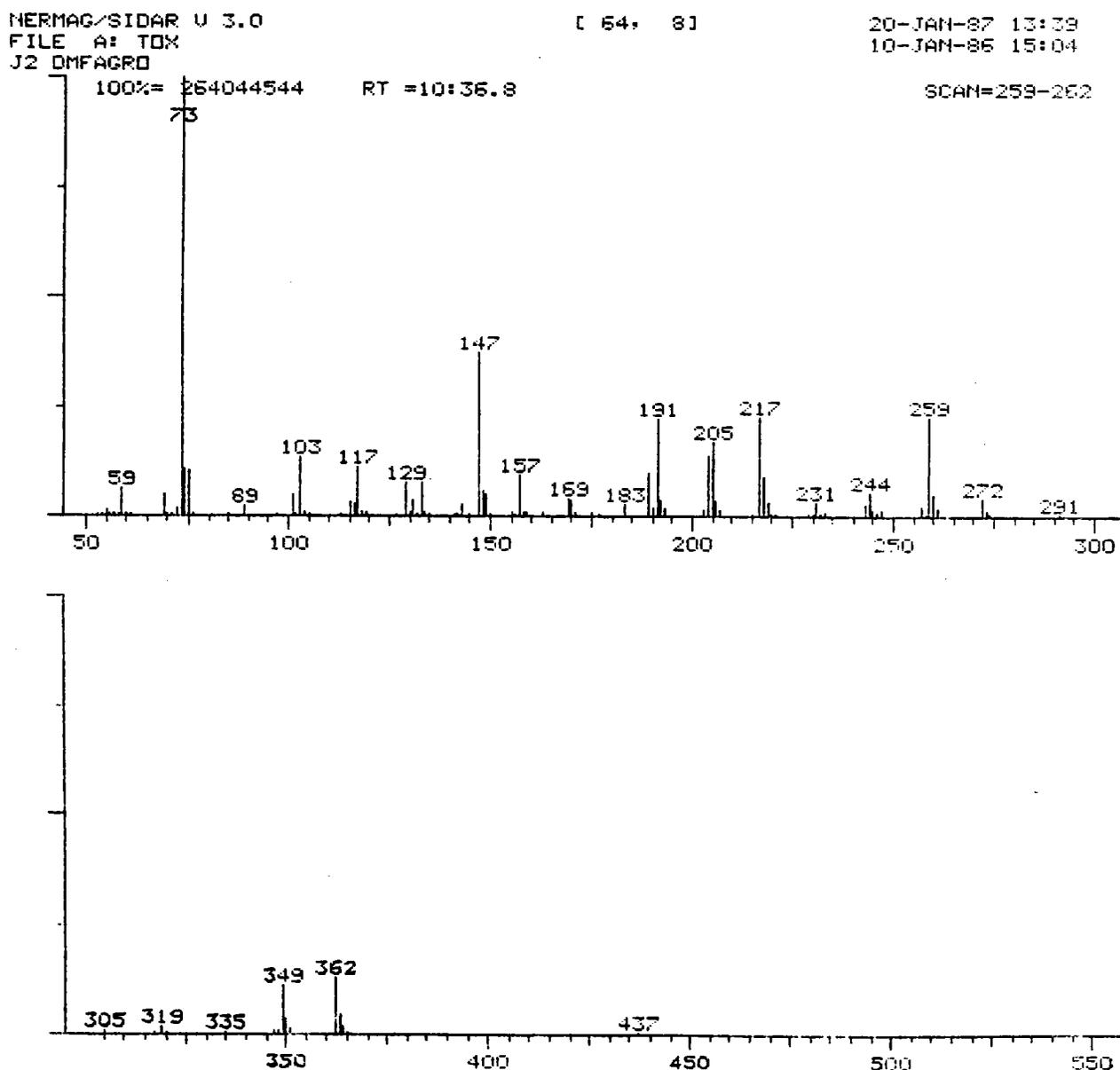


Figure 265 : Spectre de masse d'un sucre galactofuranose tétra-silylé (70 eV ).

L'ionisation chimique a permis d'identifier son poids moléculaire  
PM = 452 ( figure 266 ).

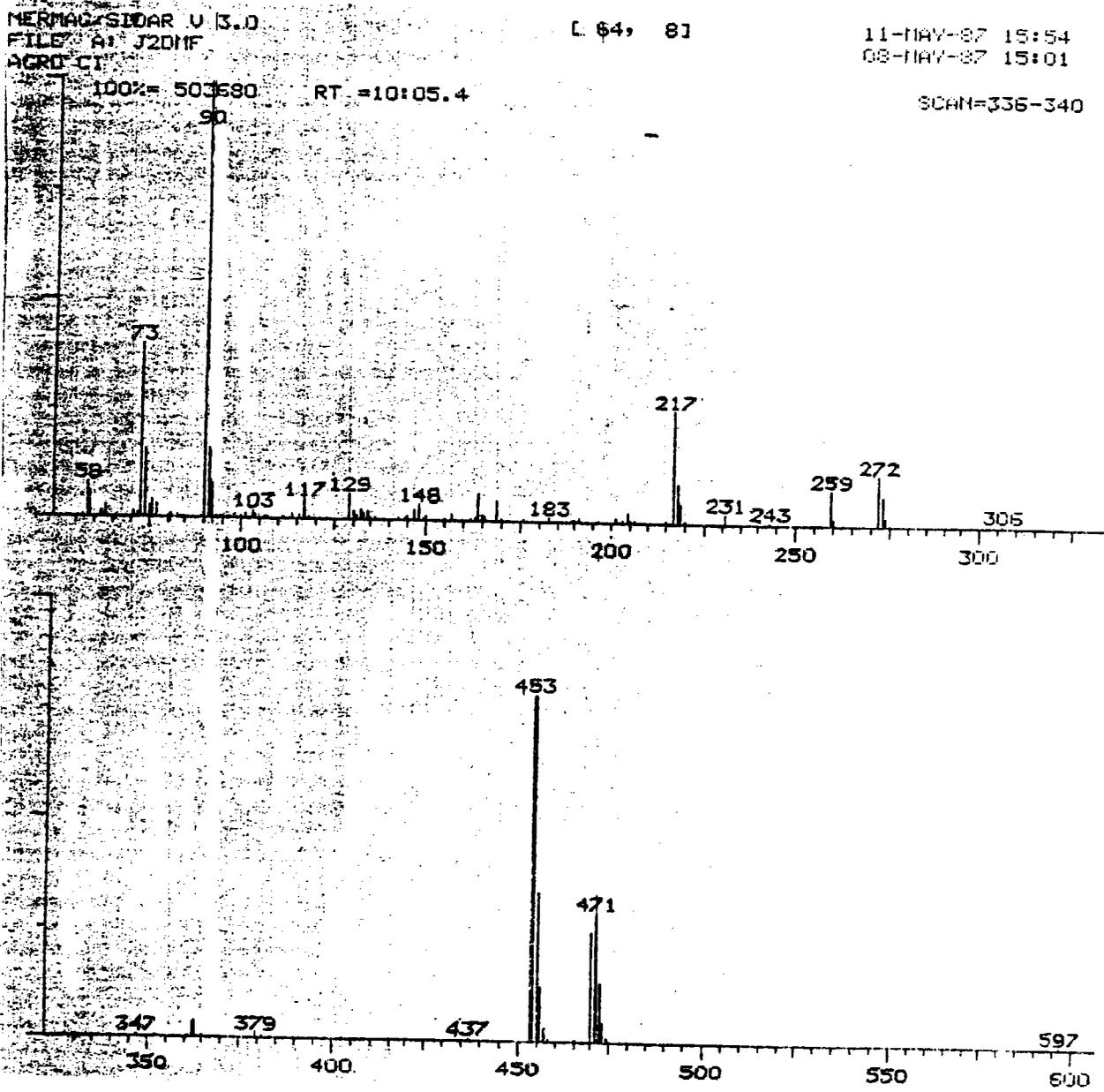


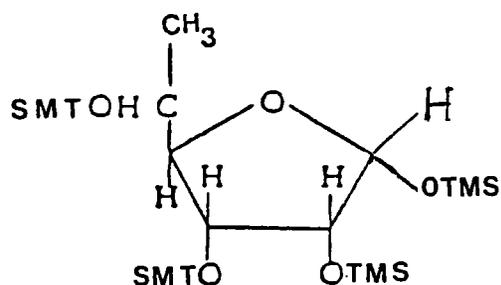
Figure 266 : Spectre de masse en ionisation chimique du sucre galactofuranose.

ion m/z = 453	----->	pic M + I (M + H <sup>+</sup> )
ion m/z = 454	----->	pic M + 2 (M + 2H <sup>+</sup> )
ion m/z = 470	----->	pic M + I8 (M + NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> )
ion m/z = 471	----->	pic M + I9 (M + NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> + H <sup>+</sup> )

Ces quatre pics permettant de retrouver le pic moléculaire du sucre sont caractéristiques des polyols.

Le composé 54 peut correspondre à un sucre, du type mannofuranose, comme le propose l'ordinateur, avec un taux de certitude de 76%. Sa formulation peut être la suivante :

PM = 452



Le spectre de masse est représenté sur la figure 267 .

IERMAG/SIDAR U 3.0  
FILE A: TOX  
J2 DMFAGRO

[ 64. 81

20-JAN-87 13:40  
10-JAN-86 15:04

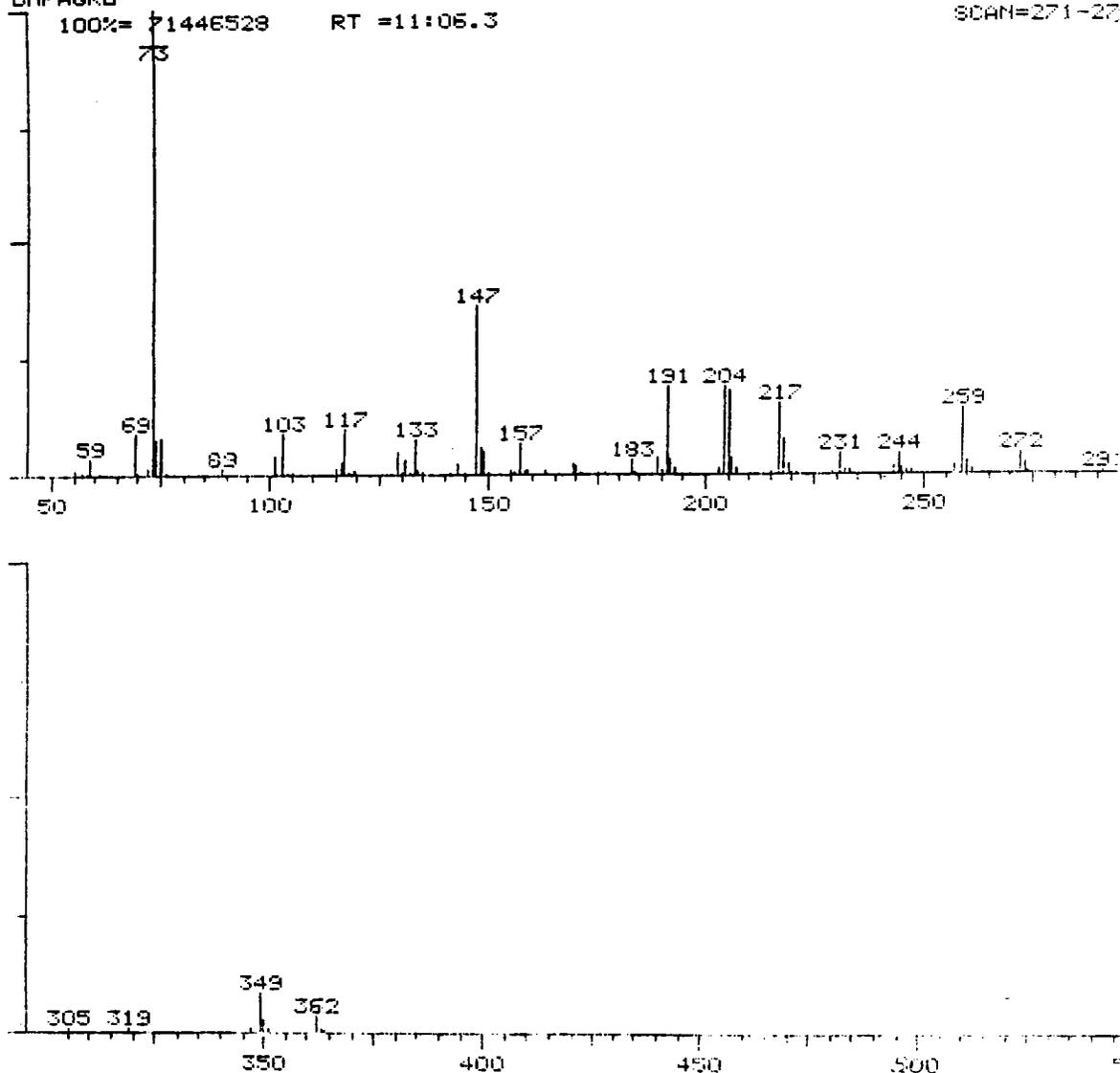
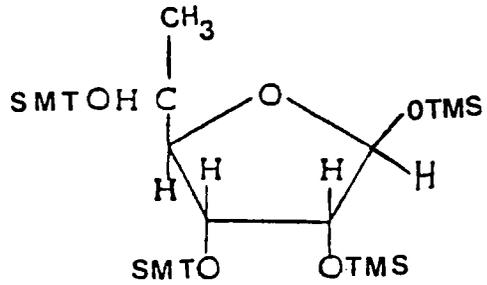


Figure 267 : Spectre de masse à 70 eV du sucre mannofuranose tétra-silylé.

Le spectre de masse en ionisation chimique est similaire à celui de galactofuranose.

Le composé 55 peut correspondre à un sucre du type  $\beta$ -mannofuranose, comme le propose l'ordinateur, avec un taux de certitude de 74%. Sa formulation peut être la suivante :

PM = 452



Le spectre de masse est représenté sur la figure 268 ; quant au spectre de masse en ionisation chimique, il est similaire à celui du galactofuranose.

HERNAG/SIDAR U 3.0  
FILE A: TOX  
J2 DMFAGRO

[ 64, 81

20-JAN-87 13:42  
10-JAN-86 15:04

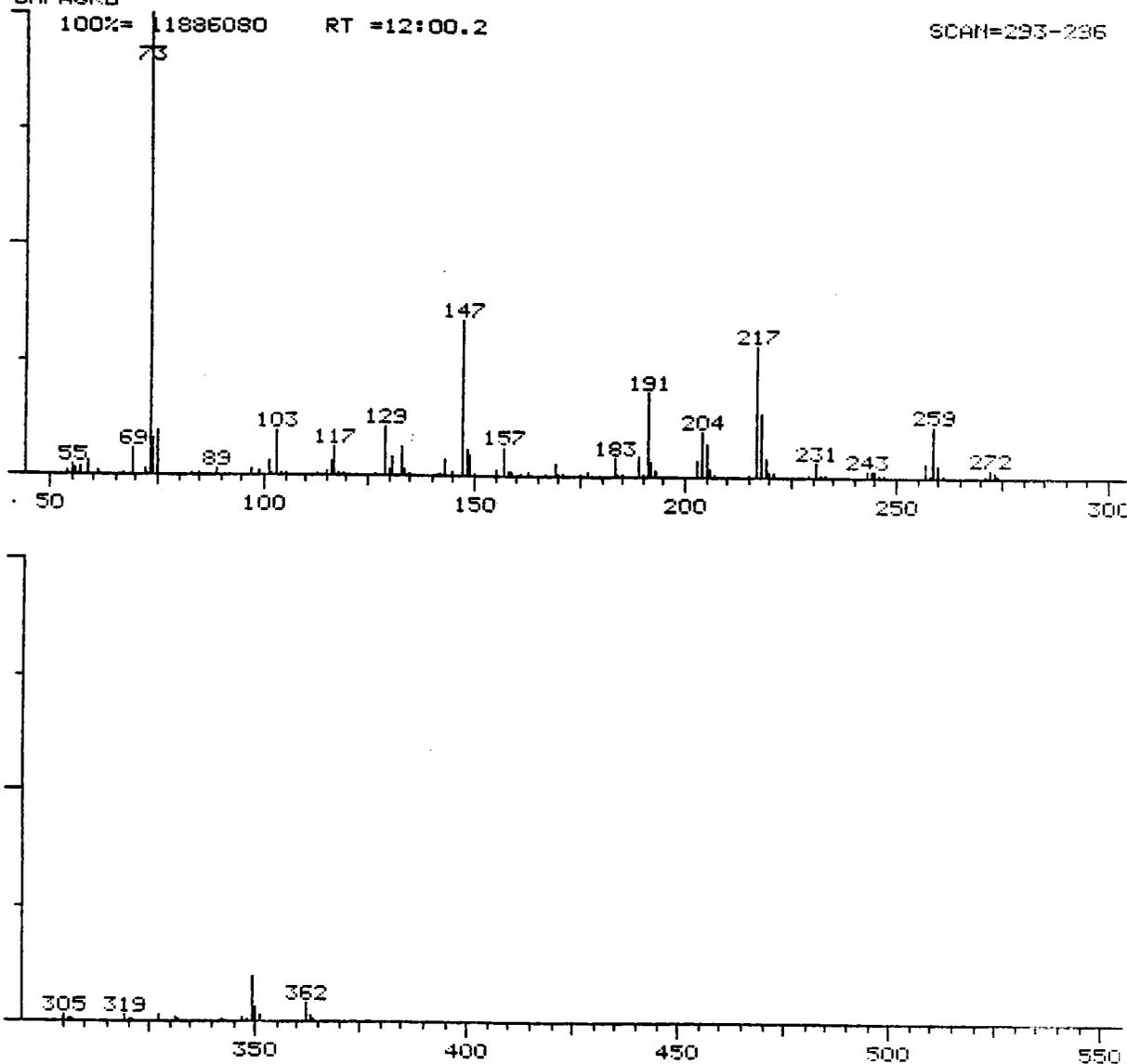


Figure 268 : Spectre de masse à 70 eV du sucre  $\beta$ -mannofuranose tétrasilylé.

Le composé 59 correspondrait à un sucre du type acide gluconique, comme le propose l'ordinateur, avec un taux de certitude de 54%. La molécule serait tétratriméthylsilylée et aurait un poids moléculaire de 466.

Le spectre de masse est représenté sur la figure 269 :

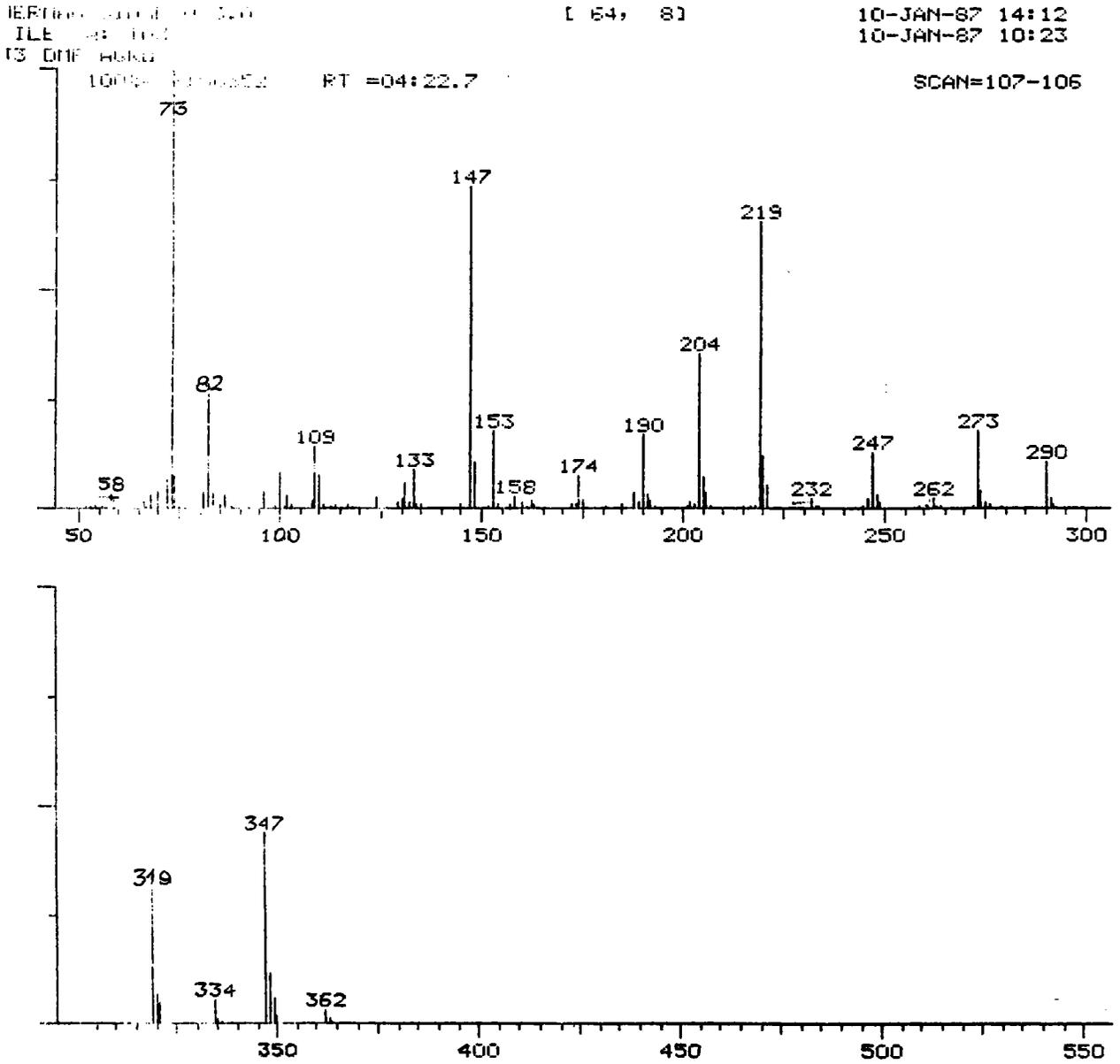
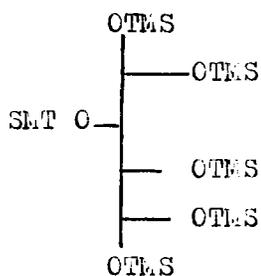


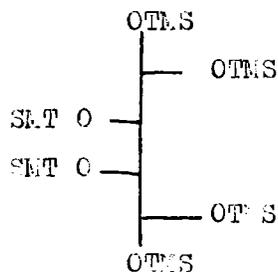
Figure 269 : Spectre de masse à 70 eV d'un sucre correspondant peut-être à un acide gluconique.

Le composé 56 correspond à un polyol du type glucitol ou galactitol, comme le propose l'ordinateur, avec un taux de certitude respectif de 88% et de 87%.

Sa formulation peut être la suivante :



Glucitol



Galactitol

Pl. = 614

Le spectre de masse est représenté sur la figure 270 .

HERNAG/SIDAR U 3.0  
FILE A: TOX  
12 DMFAGRO

[ 64. 8 ]

20-JAN-87 13:44  
10-JAN-86 15:04

100% = 78536524 RT = 14:17.5

SCAN=349-352

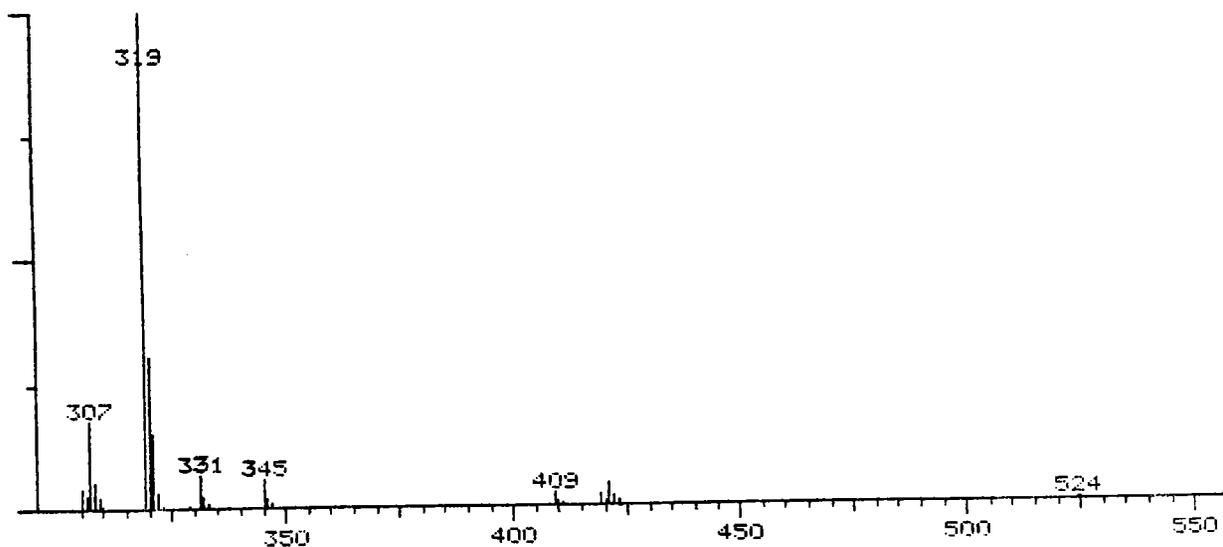
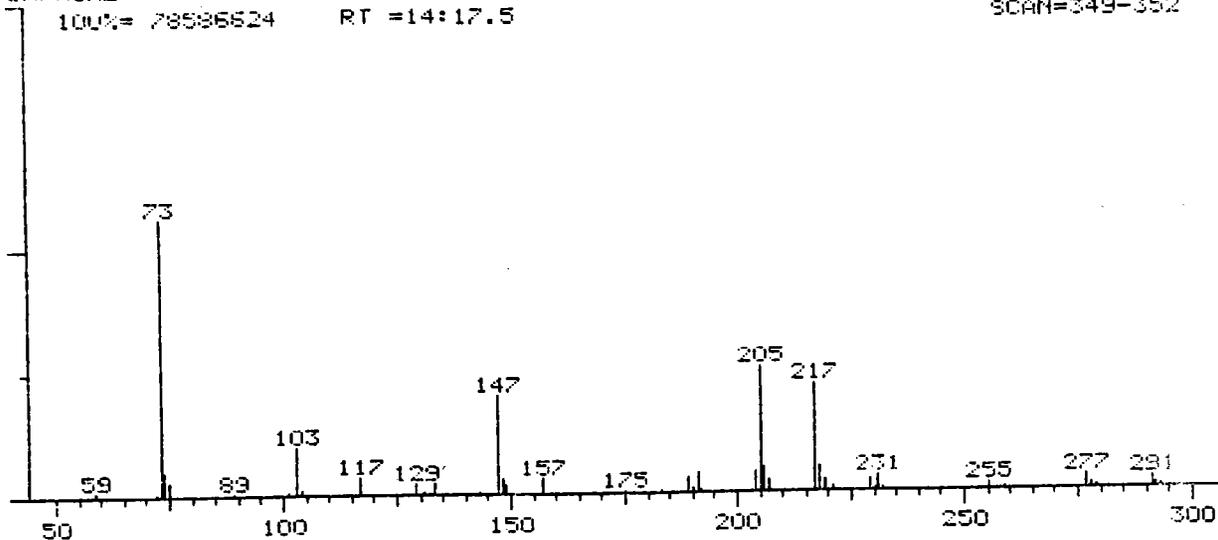
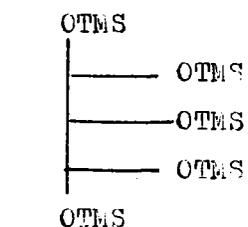


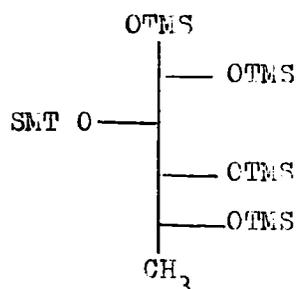
Figure 270 : Spectre de masse d'un polyol (glucitol, galactitol) hexasilylé (70 eV).

Le composé 57 peut correspondre à un polyol du type ribitol ou 6-déoxyglucitol, comme le propose l'ordinateur, avec un taux de certitude respectif de 71% et de 69%.

Sa formulation peut être la suivante :



ribitol



6-déoxyglucitol

Le spectre de masse est représenté sur la figure 27I :

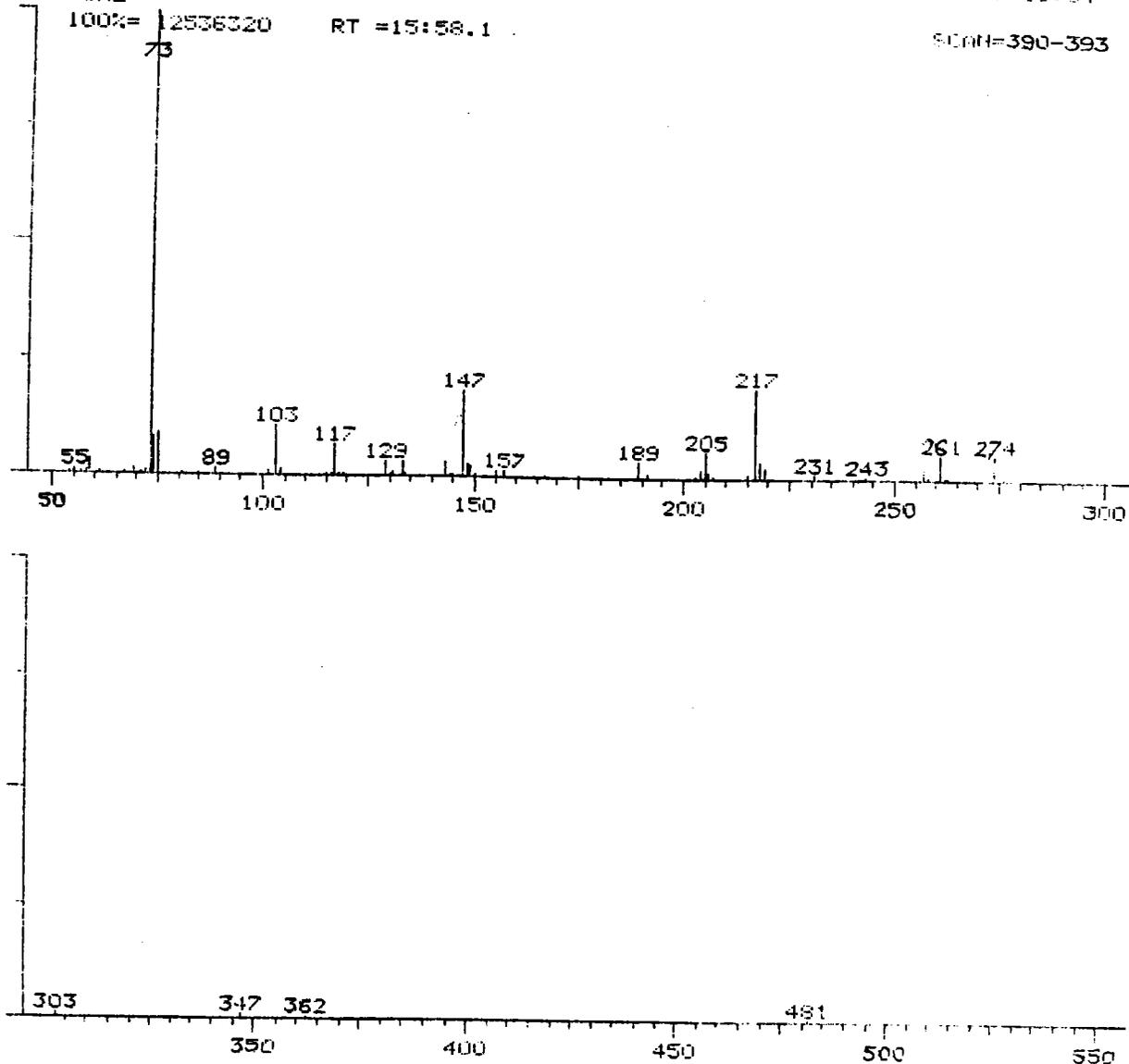
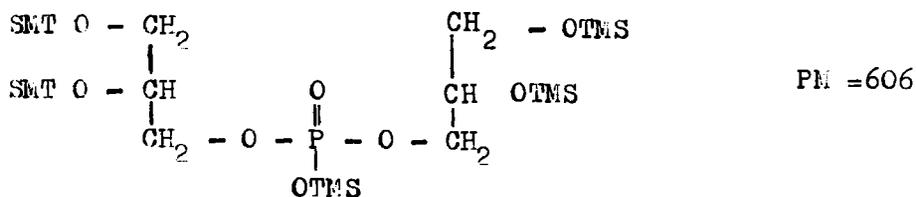


Figure 27 I : Spectre de masse d'un polyol (ribitol,6-déoxyglu-  
 citol) pentasilylé (70 eV ).

Le composé 63 correspond à la molécule de glycérophosphorylglycérol  
 penta silylé, dont la formulation est la suivante :



La figure 272 représente son spectre de masse.

HERMAG/SIDAR U 2.3  
FILE A: J6DMF  
INJ 230 150=>230 50\MM

[ 64, 8 ]

05-JUN-85  
05-JUN-85

RT =04:04.0

SCAN=183-180

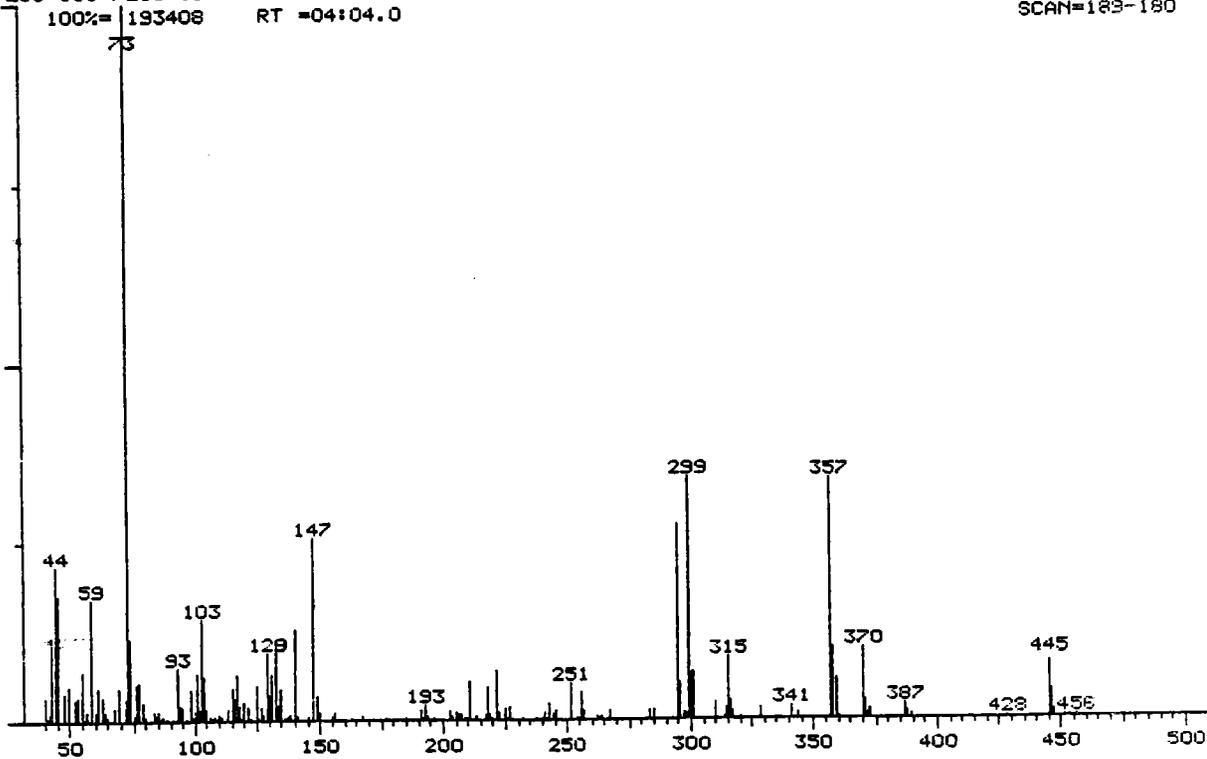


Figure 272 : Spectre de masse à 70 eV de la molécule glycérophosphorylglycérol penta silylée.

Le composé 64 peut correspondre à un acide uronique, comme le confirme l'ordinateur, avec un taux de certitude de 65%.

Le spectre de masse à 70 eV est représenté par la figure 273 .

HERMAG/SIDAR.U 2.3  
FILE A: J2  
INJ 230 150 ->230 50\MN

[ 64, 8 ]

05-JUN-85  
05-JUN-85

100% 170624 RT =02:38.6

SCAN=82-78

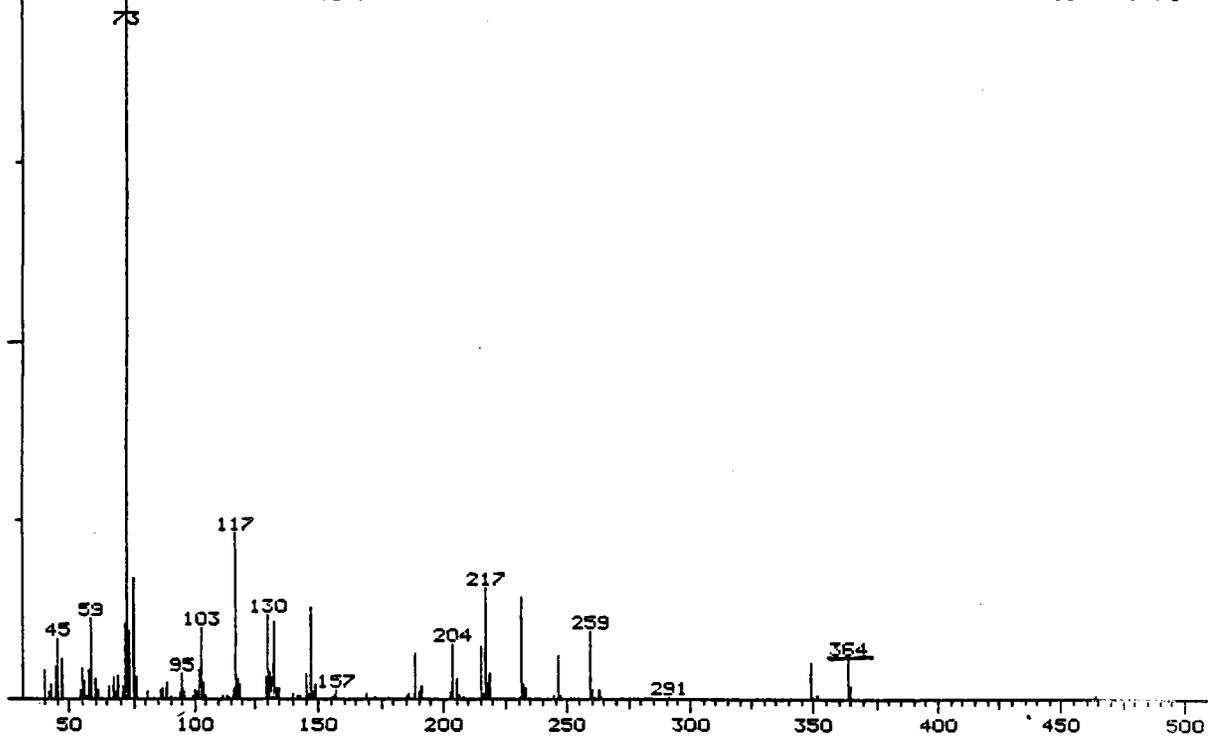


Figure 273 : Spectre de masse de l'acide uronique (70 eV ).

## **ANNEXE XIII**

Les spectres de masse correspondant aux métabolites de dégradation du carbazole sont rassemblés dans les pages suivantes.

Le composé II correspond certainement à la molécule d'acide benzoïque silylée, caractérisée par l'ordinateur, avec un taux de certitude de 75%.

Ce composé peut correspondre à un produit de la dégradation bactérienne du carbazole.

Le poids moléculaire (PM = 194) n'a pu être confirmé par spectrométrie de masse en ionisation chimique (figure 274 ).

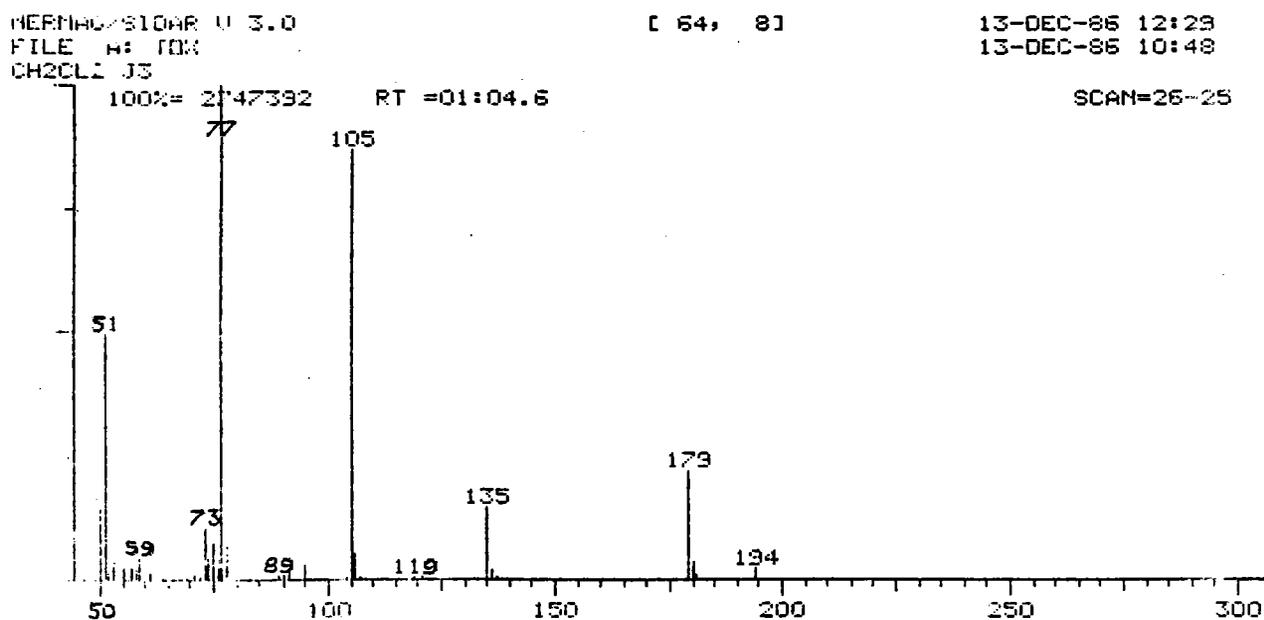


Figure 274 : Spectre de masse de la molécule qui peut correspondre à l'acide benzoïque silylé (70 eV ).

Le composé 39 correspond à la molécule d'hydroxyméthylcarbazole provenant de la dégradation du méthylcarbazole. impureté retrouvée dans le carbazole.

Son spectre de masse (figure 275 ) montre que seul le groupement hydroxyméthyl est silylé (ion  $m/z = 103$ ) et le noyau carbazole est représenté par l'ion  $m/z = 166$ .

Le pic de masse de ce produit n'a été détecté qu'à l'état de traces en ionisation chimique.

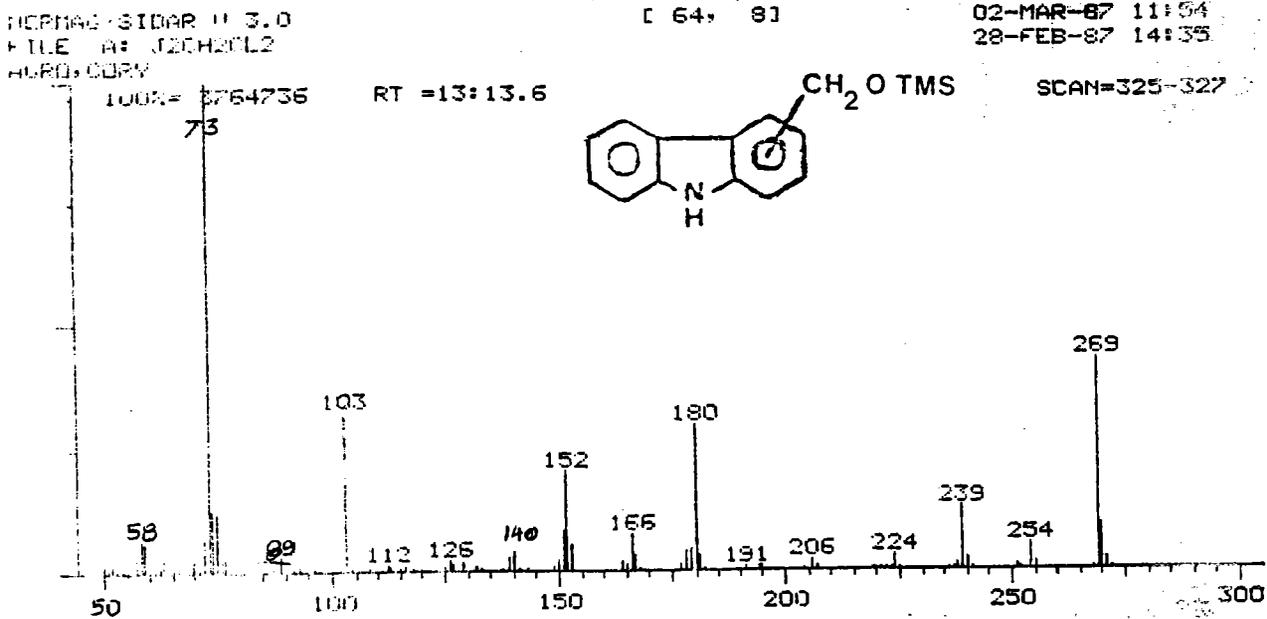
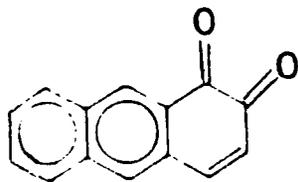
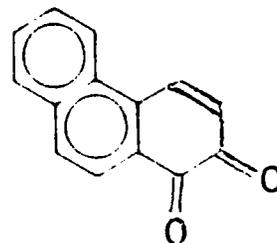
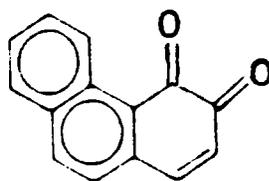


Figure 275 : Spectre de masse de l'hydroxyméthylsilylcarbazole.

Le composé 46 correspond, soit à une anthracène dione, soit à une phénanthrène dione dont les formulations sont très probablement les suivantes :



Anthracène dione



Phénanthrène dione

Voici un exemple de "découpage" en spectrométrie de masse à 70 eV (figure 276 ).

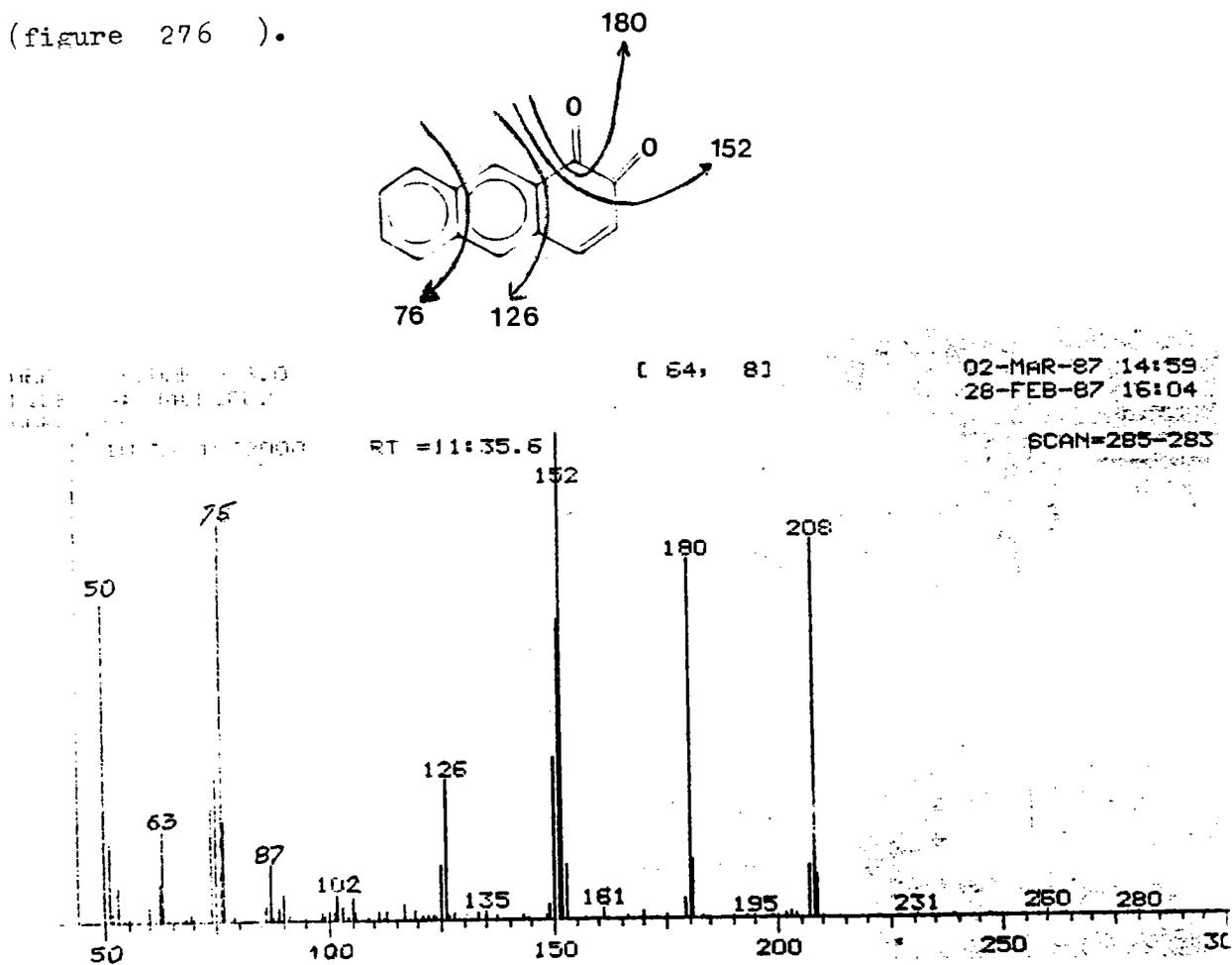


Figure 276 : Spectre de masse à 70 eV d'une anthracène dione ou d'une phénanthrène dione . PM = 208 .

Le pic de masse de la molécule a été identifiée par ionisation chimique, comme l'indiquent le chromatogramme de recherche de l'ion  $m/z = 209 = PM + I$  (figure 277) et le spectre de masse correspondant (figure 278).

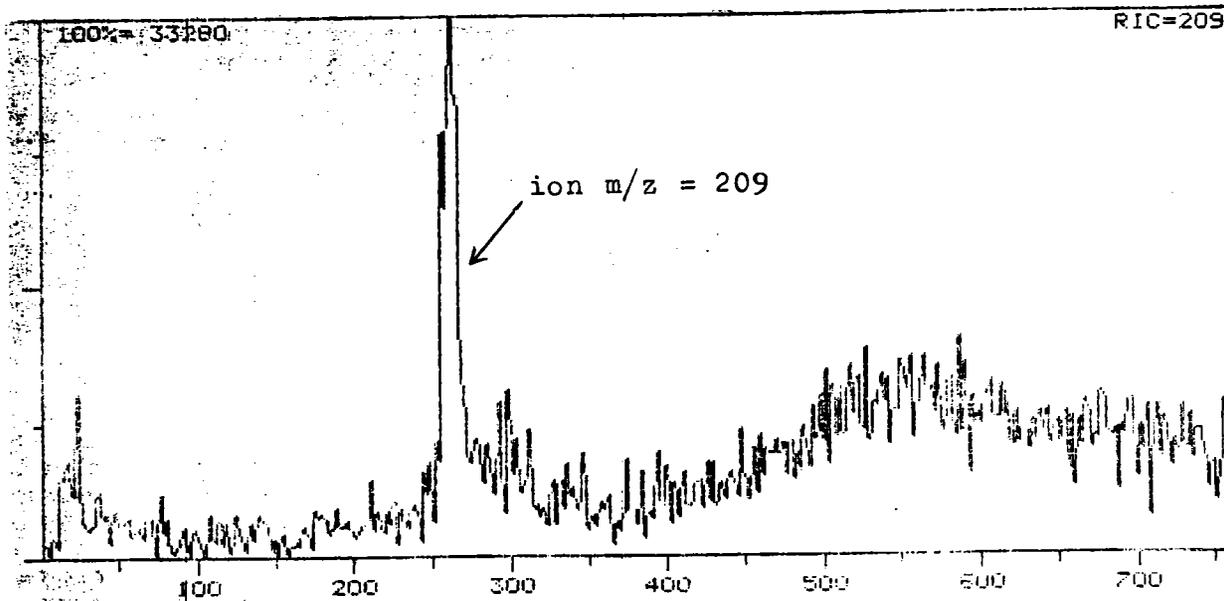


Figure 277 : Chromatogramme de recherche  $m/z = 209$  en ionisation chimique pour l'identification du poids moléculaire de l'anthracène ou phénanthrène dione ( $PM = 208$ ).

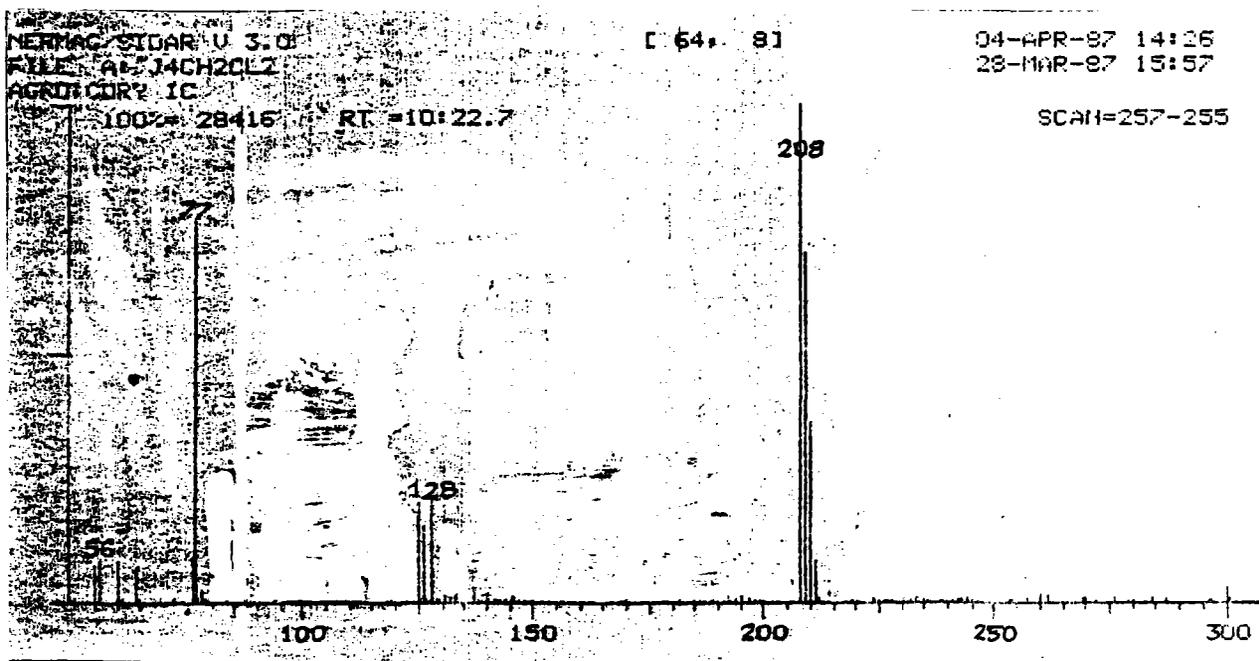
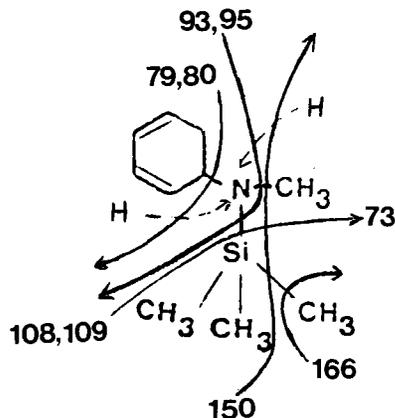


Figure 278 : Spectre de masse de l'anthracène ou de la phénanthrène dione en ionisation chimique.

Dans le cas des molécules du type I,2 dione, en ionisation chimique, l'ion  $m/z = \text{pooids moléculaire } M$  de la molécule étudiée (dans notre cas,  $M = 208$ ) est toujours plus intense que l'ion  $m/z = M + I$  ( $M = 209$ ) alors que généralement, dans les autres types de molécules, l'ion  $m/z = M + I$  est le plus important.

Le composé 50 (dont le spectre de masse est représenté par la figure 279 ) peut, peut-être, correspondre à une molécule du type amino-méthylcyclohexadiène dont voici une représentation sous sa forme silylée :



Les groupements -TMS et -CH<sub>3</sub> sont remplacés par un - H sur l'azote.

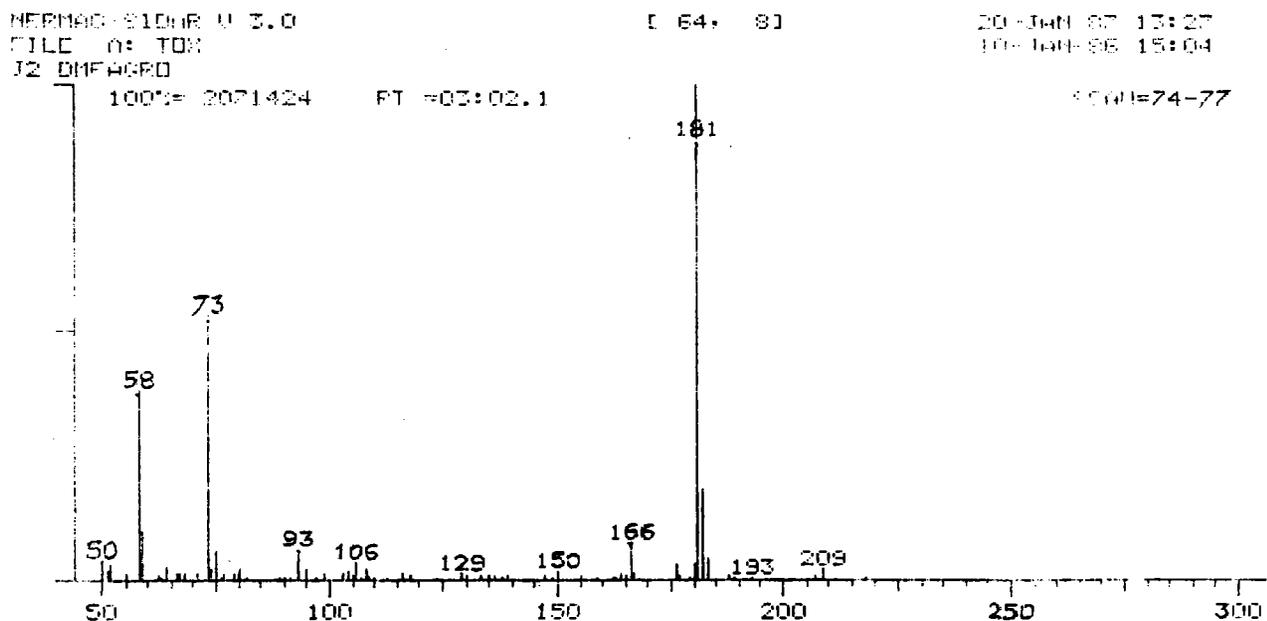
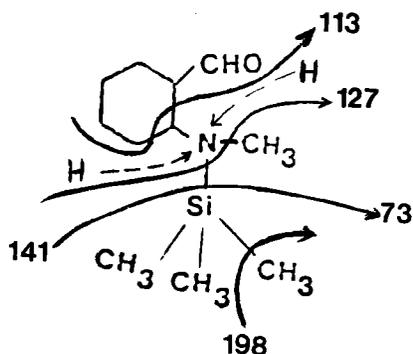


Figure 279 : Spectre de masse à 70 eV du possible aminométhyl-cyclohexadiène.

L'ionisation chimique n'a pas permis de mettre en évidence le poids moléculaire  $M = 181$ .

Le composé 60 (dont le spectre de masse est représenté sur la figure 280) correspond très vraisemblablement à une molécule du type formyl - aminométhylcyclohexane dont voici une représentation sous sa forme silylée :



Les groupements -TMS et -CH<sub>3</sub> sont remplacés par -H sur l'azote. Le départ d'un atome d'azote se fait toujours sous forme HCN ou H<sub>2</sub>CN.

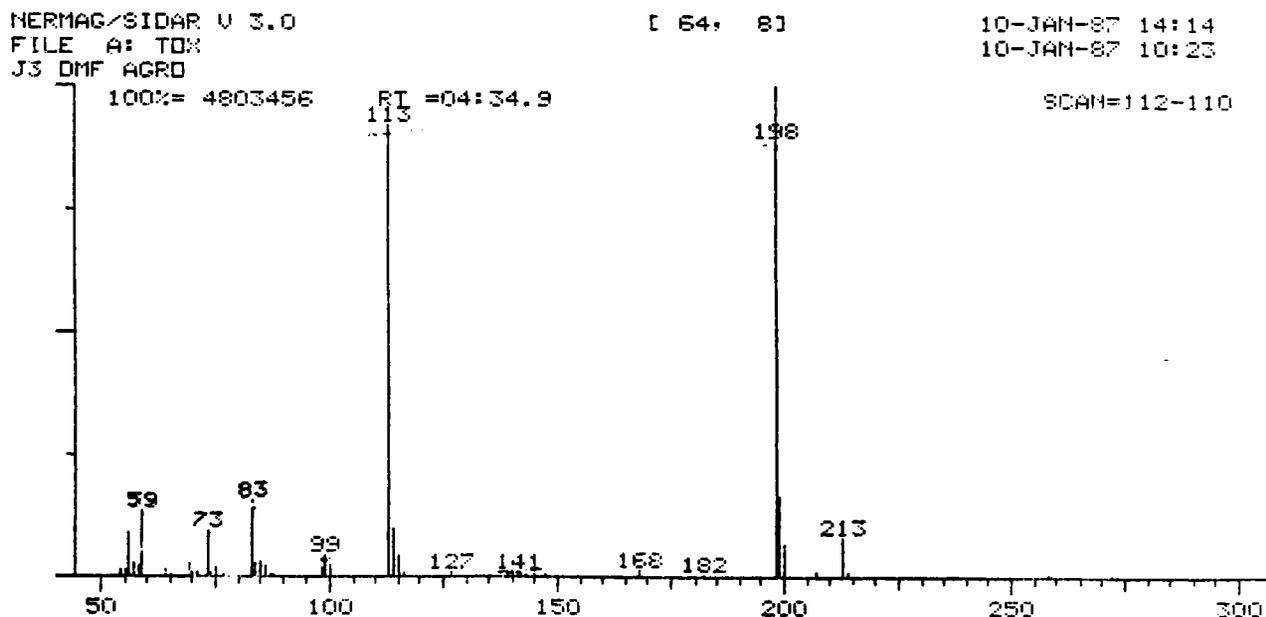


Figure 280 : Spectre de masse à 70 eV du très probable formyl-aminométhylcyclohexane.

Le spectre de masse en ionisation chimique est représenté par la figure 28I .

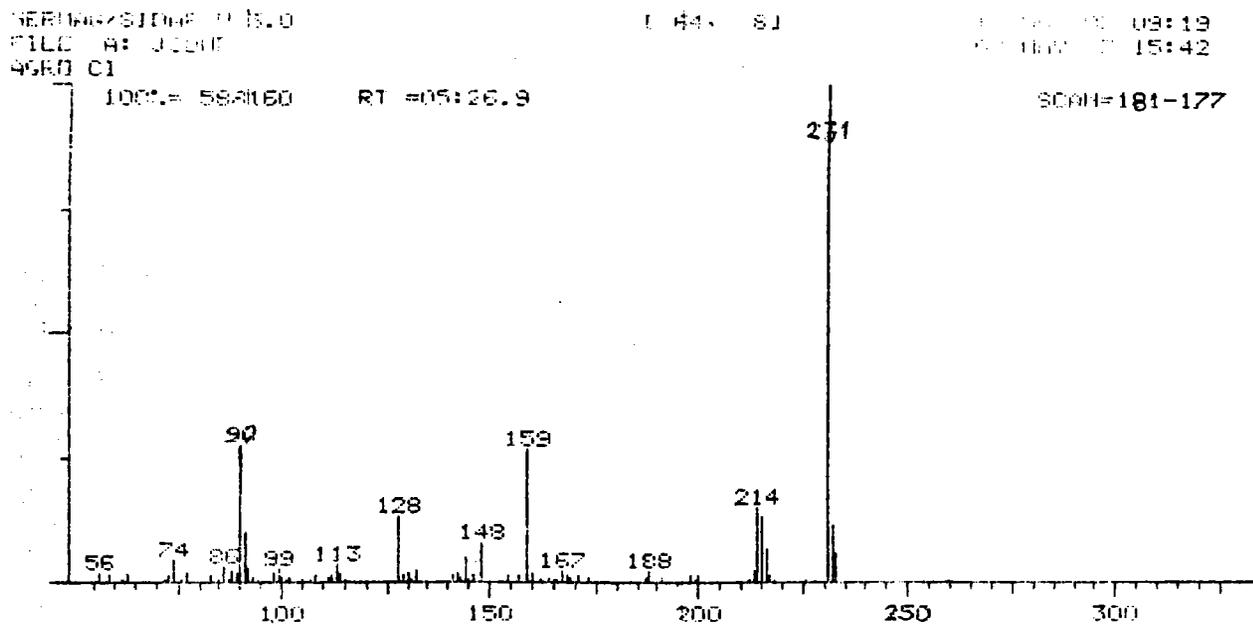


Figure 28I : Spectre de masse en ionisation chimique du très probable formyl-aminométhylcyclohexane.

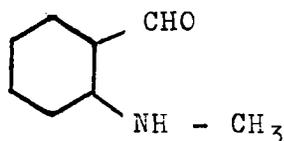
ion  $m/z = 214 \longrightarrow$  pic M + I ( $M + H^+$ )

ion  $m/z = 231 \longrightarrow$  pic M + I8 ( $M + NH_4^+$ ) .

Ces deux pics permettent de retrouver le pic moléculaire de la molécule.

Le fait que la molécule piège un ammonium, semble indiquer un certain encombrement stérique dans la molécule.

Il s'agit donc très probablement du formyl I - aminométhyl 2 - cyclohexane .



## ANNEXE XIV

Evolution de la capacité d'adsorption de la résine DUOLITE A378

en fonction de l'âge des culturesensemencées avec

- Proteus vulgaris (C/N/P = 100/20/4)
- Pseudomonas sp.5 (C/N/P = 100/20/4 )
- Proteus vulgaris (C/N/P = 100/20/0,I)
- Pseudomonas sp.5 (C/N/P = 100/20/0,I) .

Tableau LXXV : Evolution de la capacité d'adsorption de la résine DUOLITE A378 en fonction de l'âge de la cultureensemencée avec Proteus vulgaris (C/N/P = 100/20/4).

: Age de la culture (j)	: concentration initiale (mg/l)	: concentration finale (mg/l)	: volume de résine (ml)	: capacité de la résine (eq./l)
: 1	: 4100 ± 100	: 137 ± 2	: 25	: 0,64 ± 0,02
: 2	: 4050 ± 70	: 510 ± 7	: 23	: 0,62 ± 0,02
: 3	: 4010 ± 50	: 507 ± 5	: 23	: 0,62 ± 0,01
: 4	: 3700 ± 90	: 920 ± 15	: 22	: 0,51 ± 0,02
: 5	: 3470 ± 50	: 640 ± 10	: 20	: 0,57 ± 0,01

Tableau LXXVI : Evolution de la capacité d'adsorption de la résine DUOLITE A378 en fonction de l'âge de la cultureensemencée avec Pseudomonas sp.5  
(C/N/P = 100/20/4).

: Age de la culture (j):	: concentration initiale (mg/l):	: concentration finale (mg/l):	: volume de résine (ml):	: capacité de la résine (eq./l):
: 1	: 4800 ± 50	: 390 ± 4	: 27	: 0,661 ± 0,007
: 2	: 4650 ± 80	: 53 ± 2	: 27	: 0,69 ± 0,01
: 3	: 4590 ± 50	: 8,1 ± 0,7	: 27	: 0,687 ± 0,007
: 4	: 4500 ± 30	: 287 ± 3	: 27	: 0,632 ± 0,005
: 5	: 4000 ± 80	: 307 ± 6	: 23	: 0,65 ± 0,02

Tableau LXXVII : Evolution de la capacité d'adsorption de la résine DUOLITE A378 en fonction de l'âge de la cultureensemencée avec Proteus vulgaris (C/N/P = 100/20/0,1).

: Age de la culture (j):	: concentration initiale (mg/l):	: concentration finale (mg/l):	: volume de la résine (ml):	: capacité de la résine (eq./l):
: 1	: 4150 ± 70	: 870 ± 9	: 25	: 0,53 ± 0,01
: 2	: 4050 ± 50	: 834 ± 6	: 23	: 0,57 ± 0,01
: 3	: 3580 ± 70	: 612 ± 5	: 21	: 0,57 ± 0,02
: 4	: 3050 ± 80	: 400 ± 10	: 19	: 0,56 ± 0,02
: 5	: 2400 ± 100	: 143 ± 8	: 14	: 0,65 ± 0,03

Tableau LXXVIII : Evolution de la capacité d'adsorption de la résine DUOLITE A378 en fonction de l'âge de la cultureensemencée avec Pseudomonas sp.5 (C/N/P = 100/20/0,1).

: Age de la : concentration : concentration : volume de la : capacité de la :
: culture (j): initiale (mg/l): finale (mg/l) : résine (ml): résine (eq./l) :
: 1 : 3900 ± 70 : 154 ± 3 : 23 : 0,66 ± 0,01 :
: 2 : 3800 ± 50 : 93 ± 4 : 23 : 0,65 ± 0,01 :
: 3 : 3700 ± 100 : 420 ± 10 : 22 : 0,60 ± 0,02 :
: 4 : 3730 ± 50 : 174 ± 3 : 22 : 0,65 ± 0,01 :
: 5 : 3580 ± 40 : 70 ± 2 : 21 : 0,677 ± 0,08 :

# ANNEXE XV

Chromatogrammes des échantillons des cultures Proteus vulgaris

et Pseudomonas sp.5 dans les conditions C/N/P = 100/20/4 .

HERNAN/SIDAR V 3.0  
FILE # J1  
ECHANTILLON J1-4  
00% = 2426168320

[ 64, 83 ]

24-JAN-87 02:38  
24-JAN-87 01:32

TIC=0

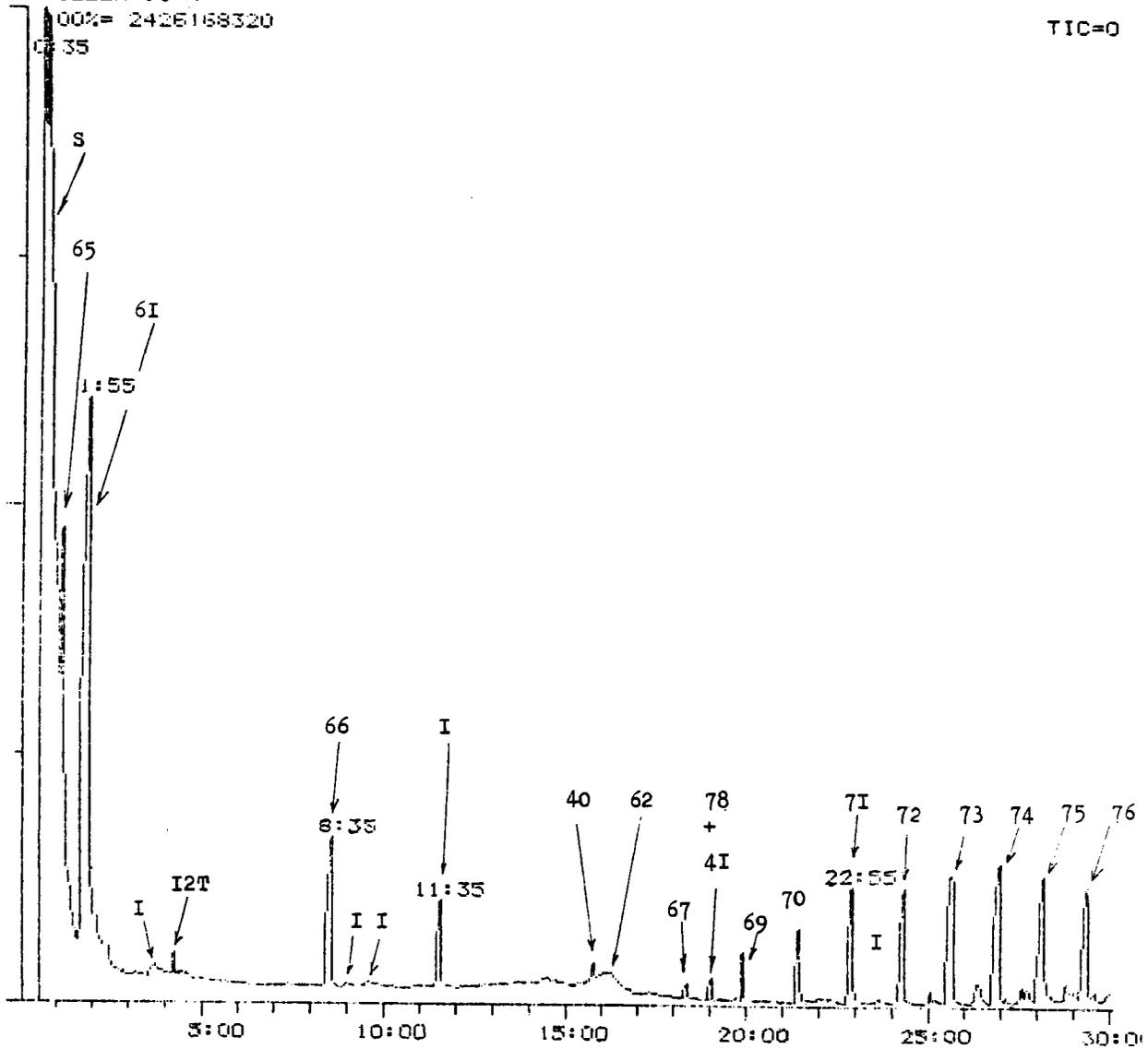


Figure 282

: Chromatogramme de l'échantillon silylé âgé de un jour après ensemencement avec Proteus vulgaris dans le milieu C/N/P = 100/20/4.

L 64, 81

25-JAN-87 12:43  
24-JAN-87 02:33

TIC=0

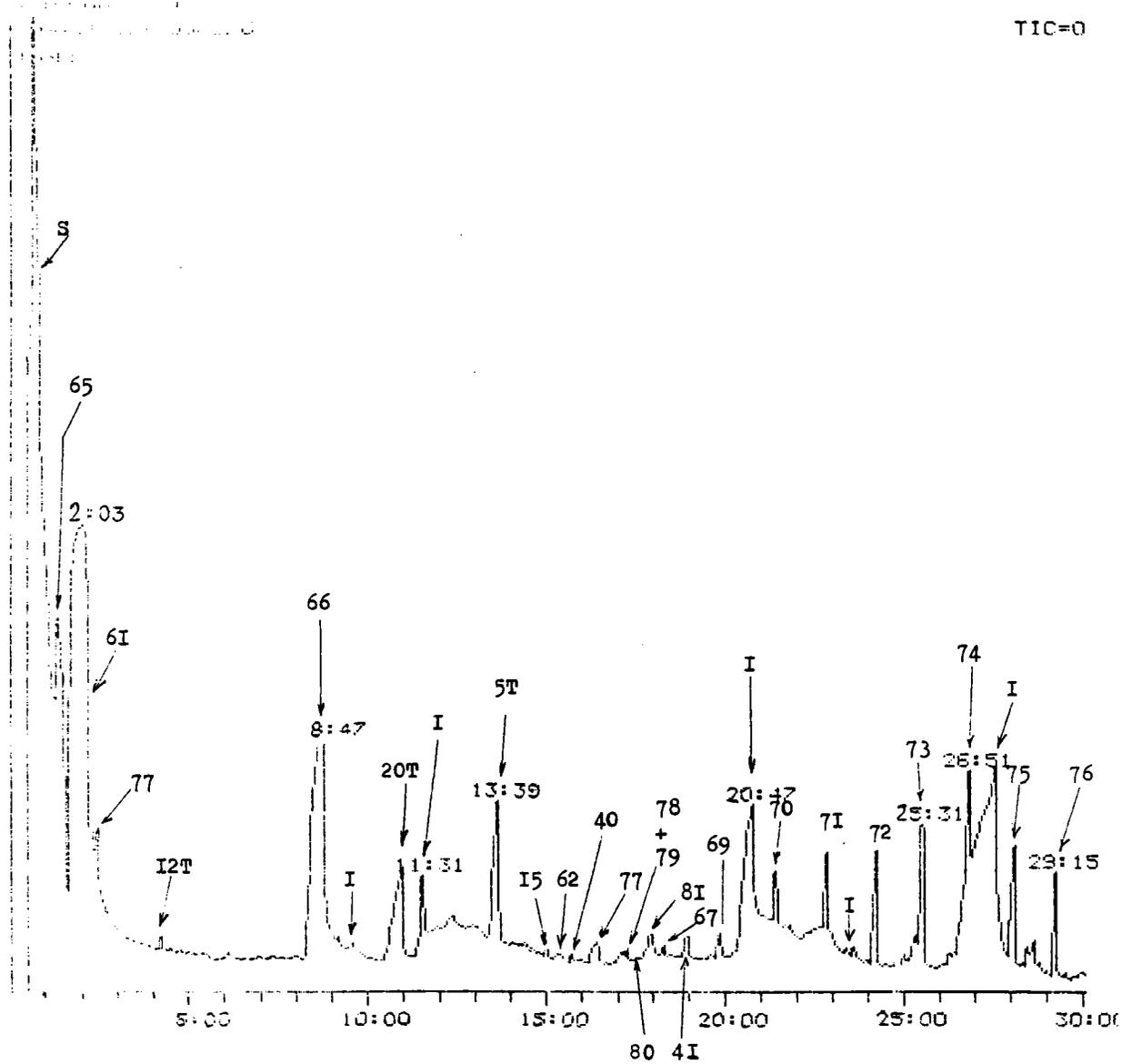


Figure 283 : Chromatogramme de l'échantillon silylé âgé de deux jours après ensemencement avec Proteus vulgaris dans le milieu de culture C/N/P = 100/20/4.

HEPNER-SIDNE U.S.O  
FILE # 15  
ECHANTILLON 15-4

[ 64, 8 ]

26-JAN-87 17:34  
24-JAN-87 03:16

TIC=0

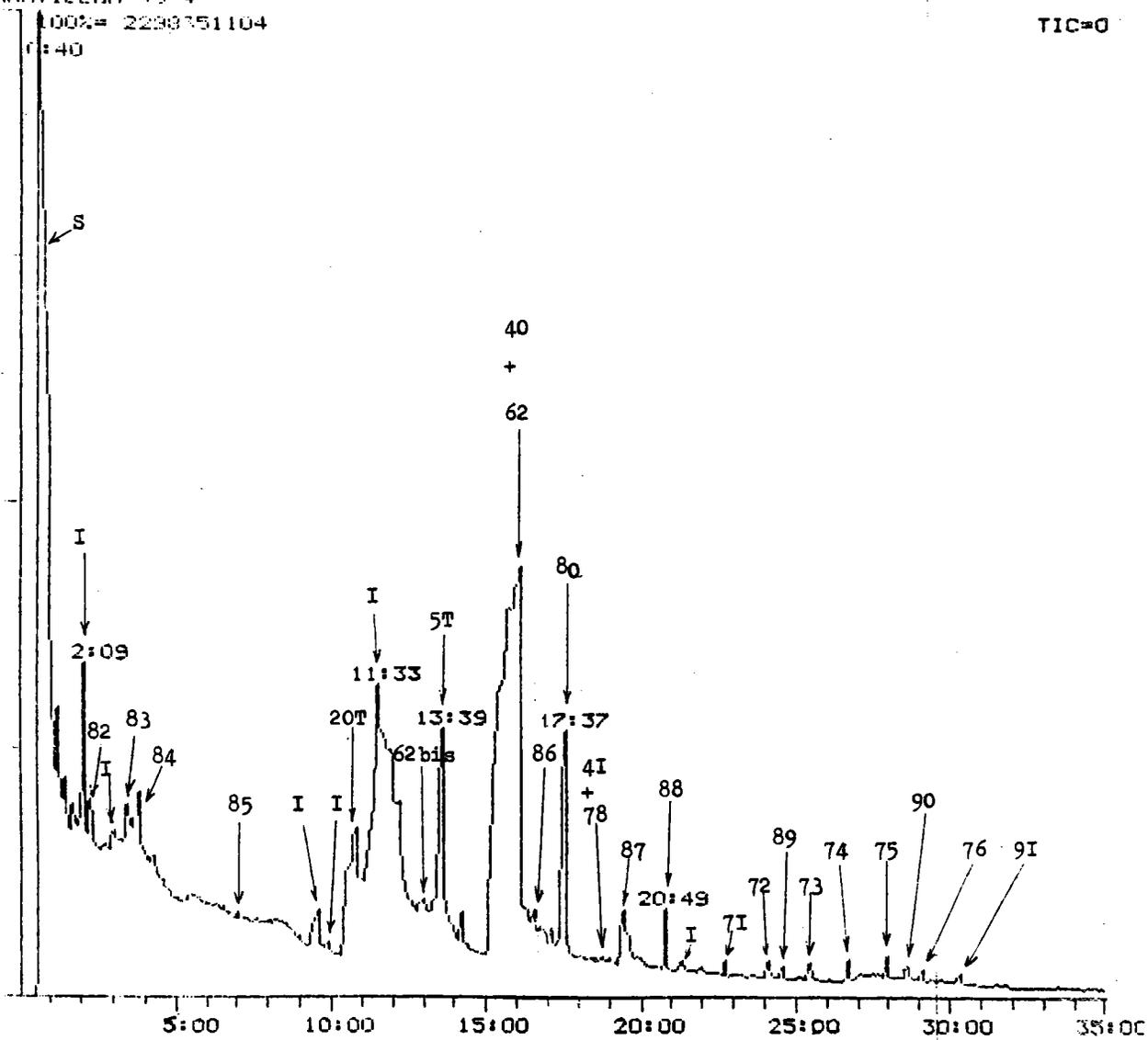


Figure 284

: Chromatogramme de l'échantillon silylé âgé de trois jours après ensemencement avec Proteus vulgaris dans le milieu C/N/P = 100/20/4.

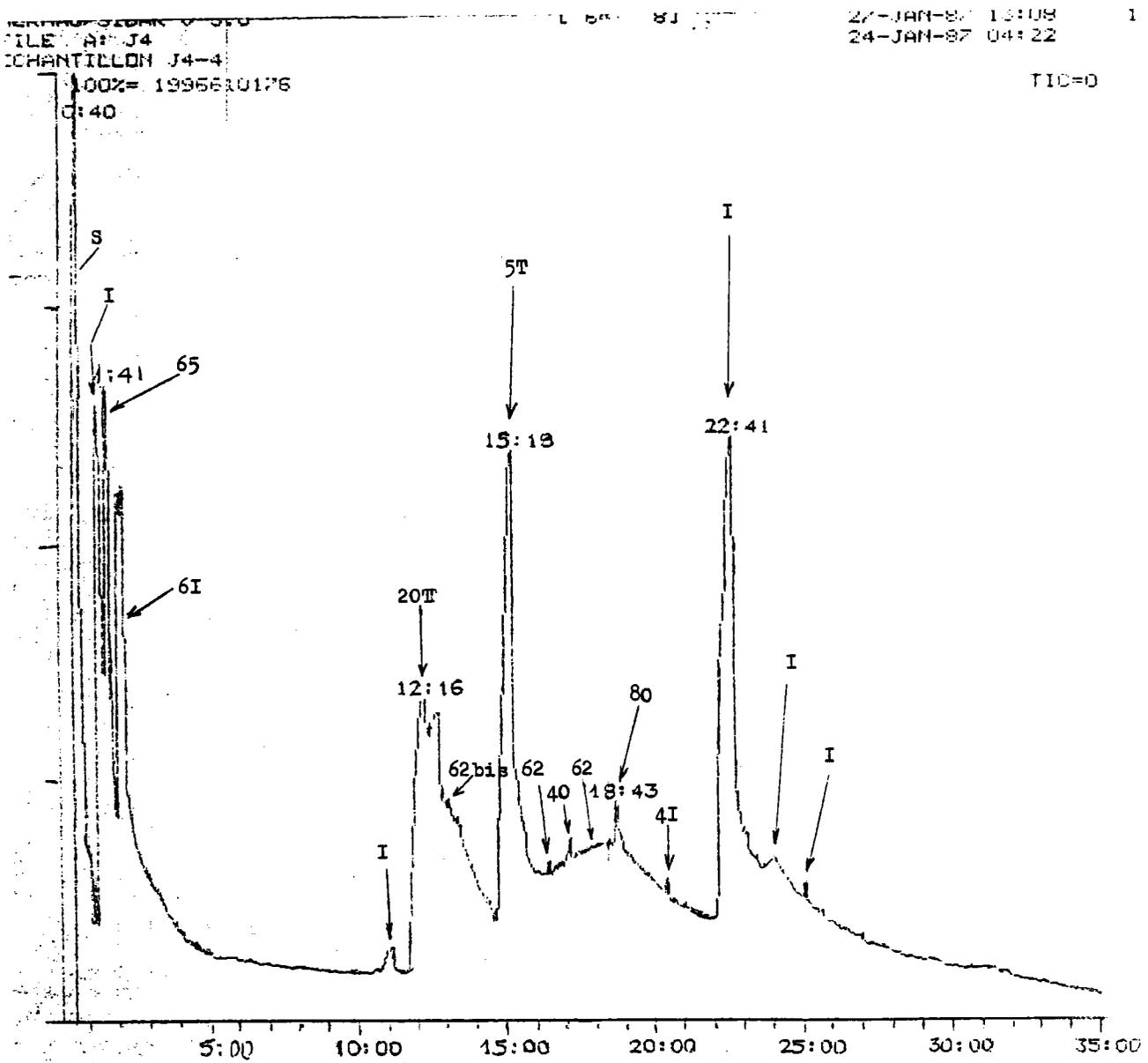


Figure 285

: Chromatogramme de l'échantillon silylé âgé de quatre jours après ensemencement avec Proteus vulgaris dans le milieu C/N/P = 100/20/4.

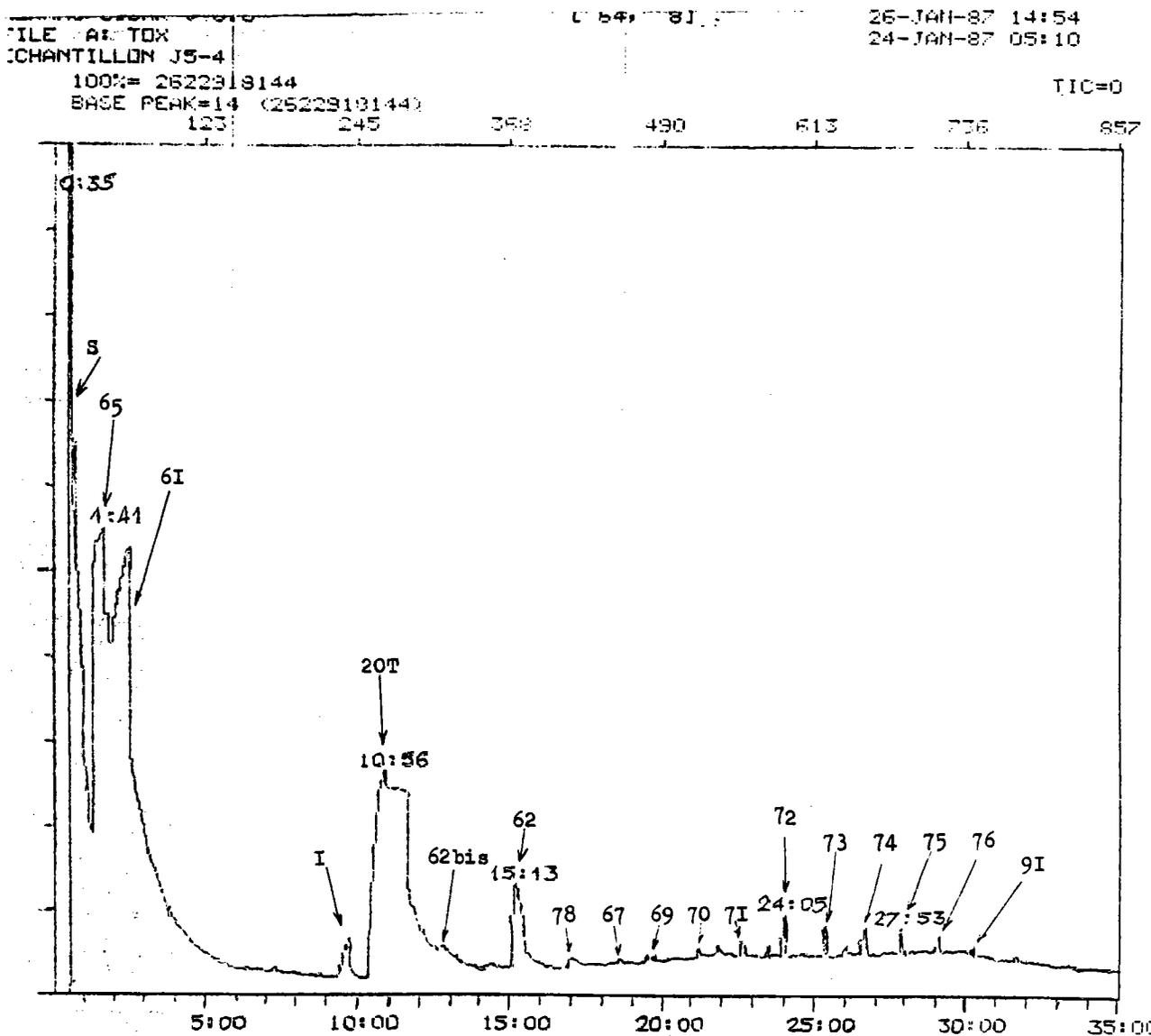


Figure 286 : Chromatogramme de l'échantillon silylé âgé de cinq jours après ensemencement avec Proteus vulgaris dans le milieu C/N/P = 100/20/4.

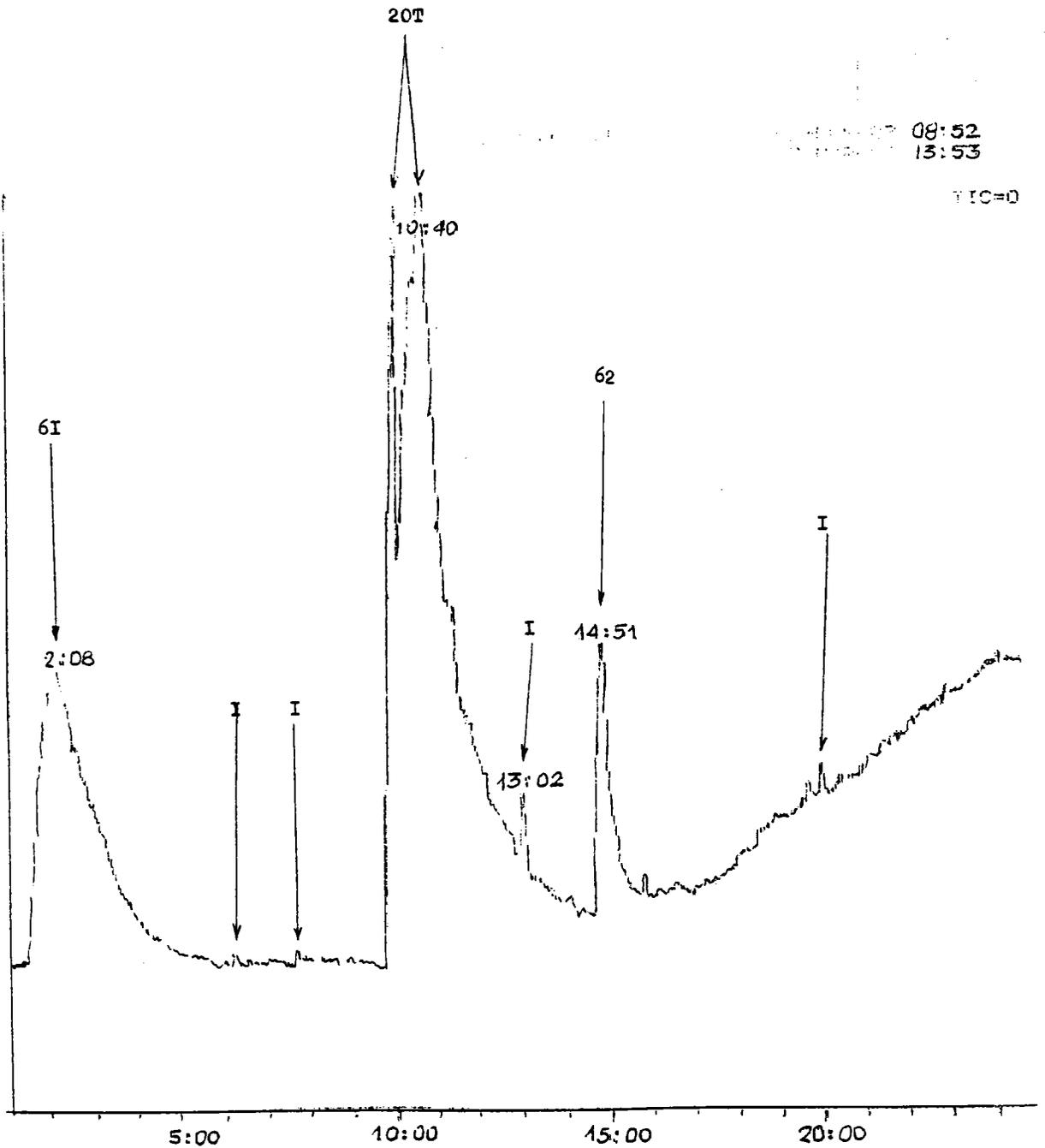


Figure 287 : Chromatogramme de l'échantillon silylé âgé de un jour après ensemencement avec Pseudomonas sp.5 dans le milieu C/N/P = 100/20/4.

1001m 5000000.0  
1001m 5000000.0

10:05

13:12

TIC=0

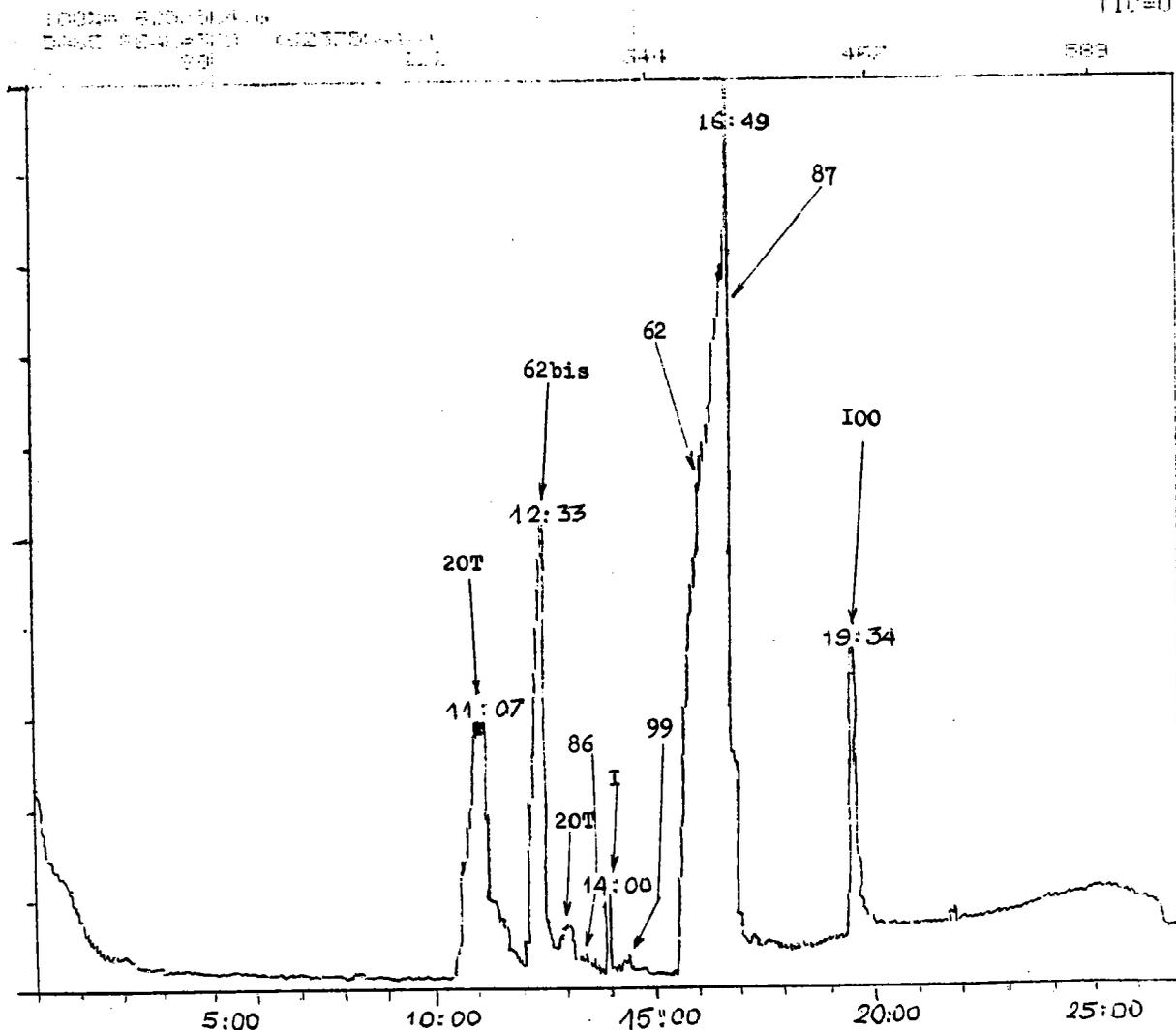


Figure 288

: Chromatogramme de l'échantillon silylé âgé de deux jours après ensemencement avec *Pseudomonas* sp.5 dans un milieu C/N/P = 100/20/4.

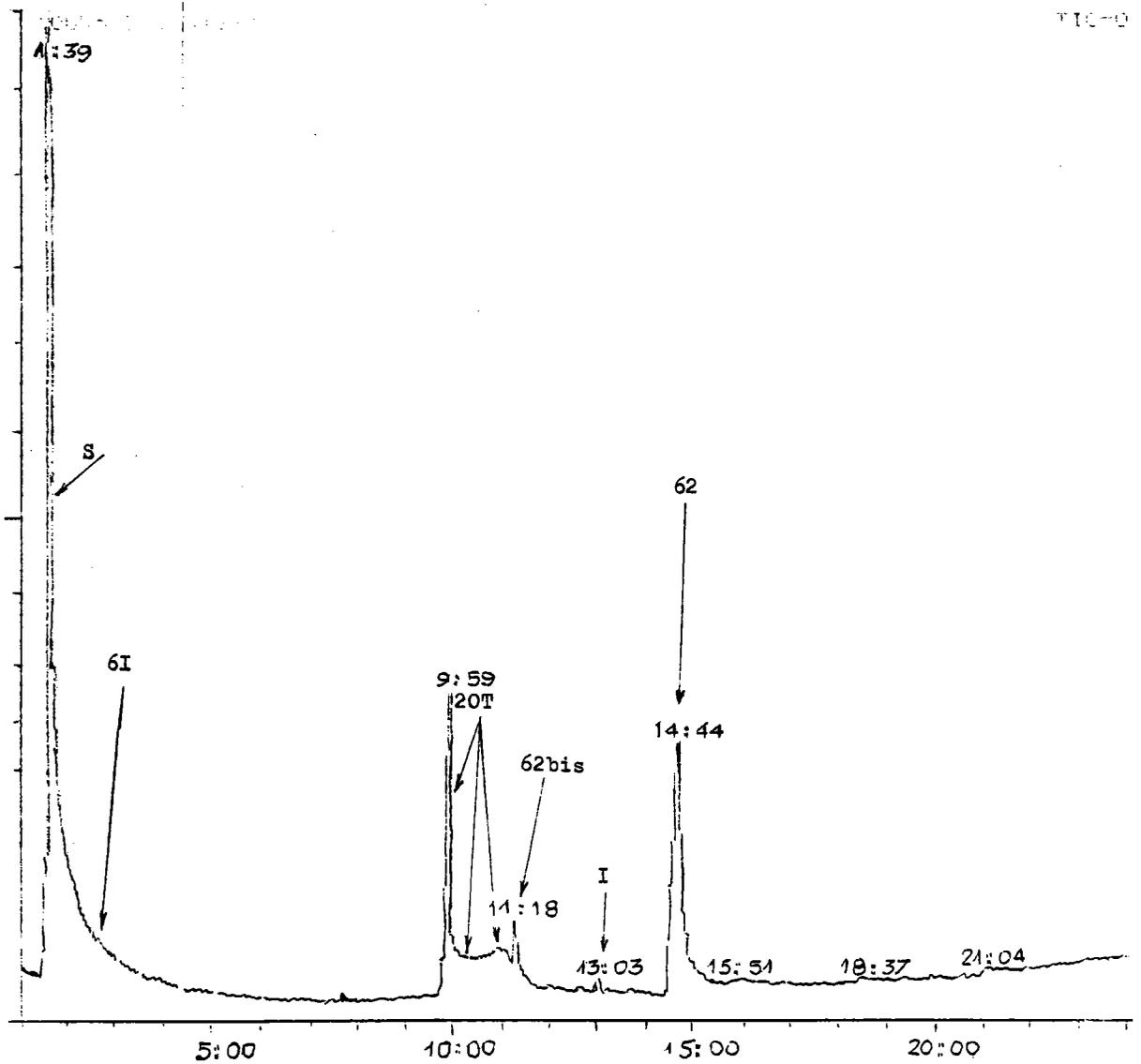


Figure 289

: Chromatogramme de l'échantillon silylé âgé de trois jours après ensemencement avec Pseudomonas sp. 5 dans un milieu C/N/P = 100/20/4.

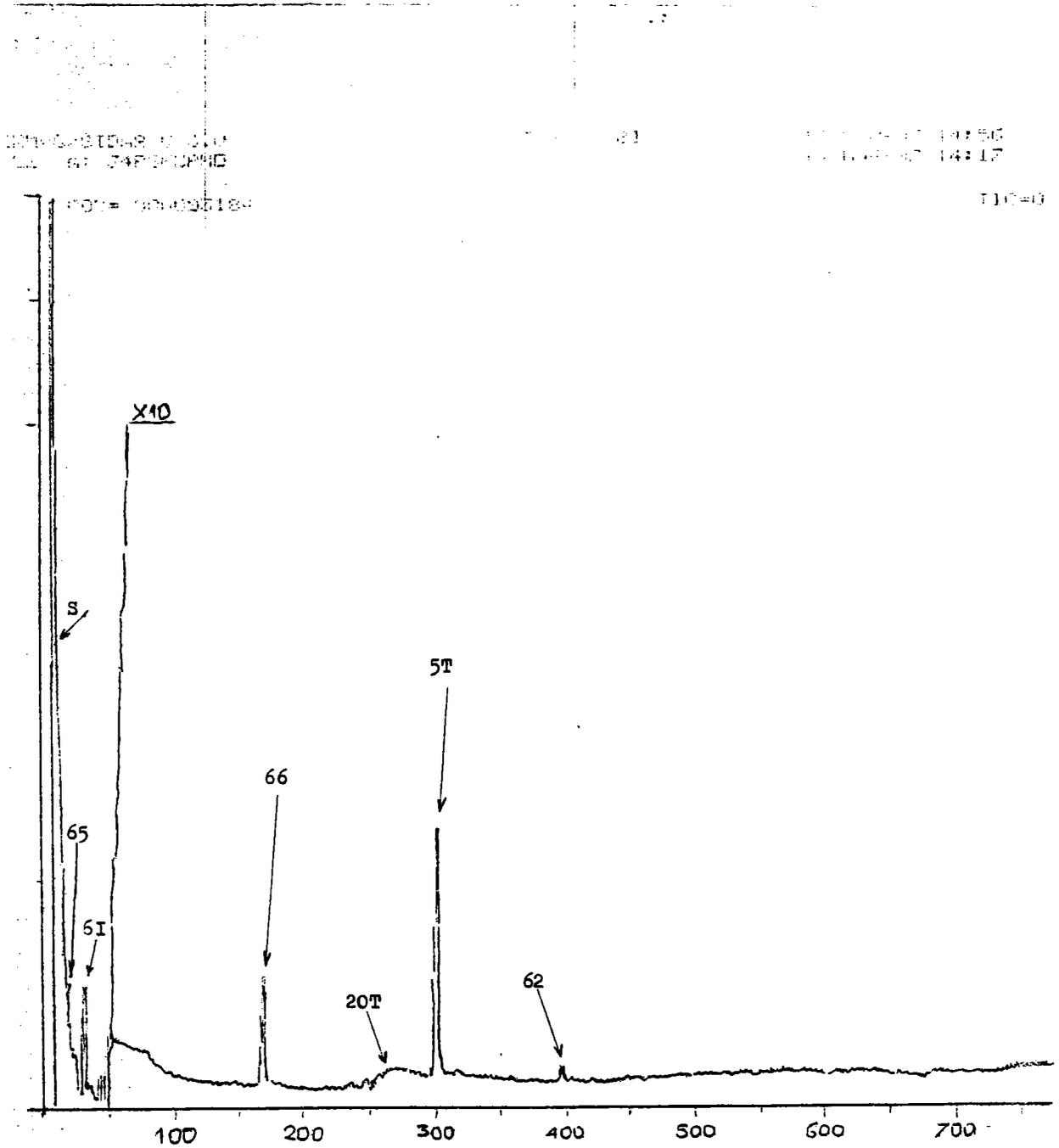


Figure 290

: Chromatogramme de l'échantillon silylé âgé de quatre jours après ensemencement avec Pseudomonas sp.5 dans un milieu C/N/P = 100/20/4.

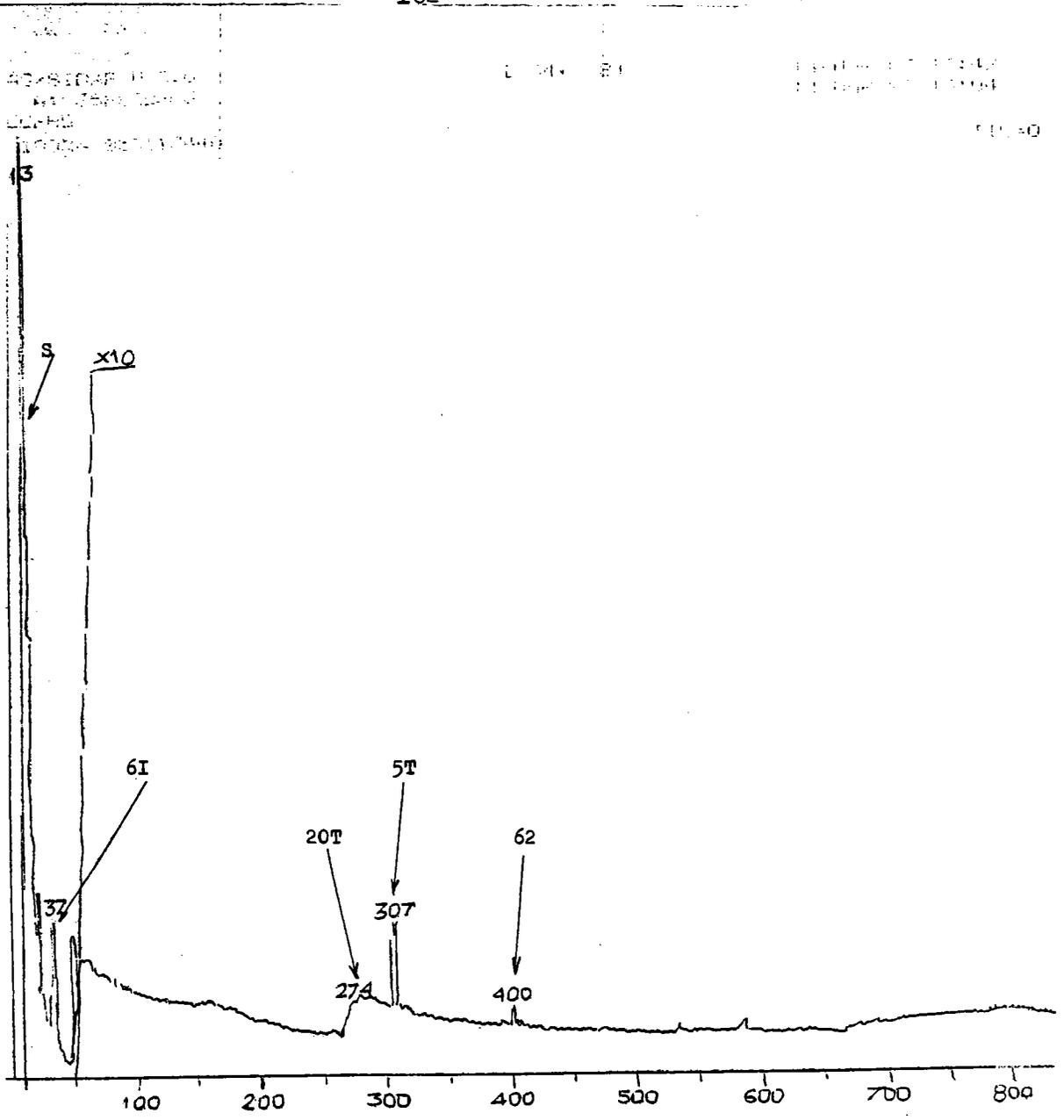


Figure 29I : Chromatogramme de l'échantillon silylé âgé de cinq jours après ensemencement avec Pseudomonas sp. 5 dans un milieu C/N/P = 100/20/4.

## ANNEXE XVI

Chromatogrammes des échantillons des cultures Proteus vulgaris

et Pseudomonas sp.5 dans les conditions C/N/P = 100/20/0,1 .

NERMAC/SIDAR U.C.O.  
FILE A: OP3:11  
PROTEUS J1 0.1%PHOSPHORE  
100/20/0, I

( 84, 81

23-FEB-87 11:06  
21-FEB-87 09:58

TIC: 0

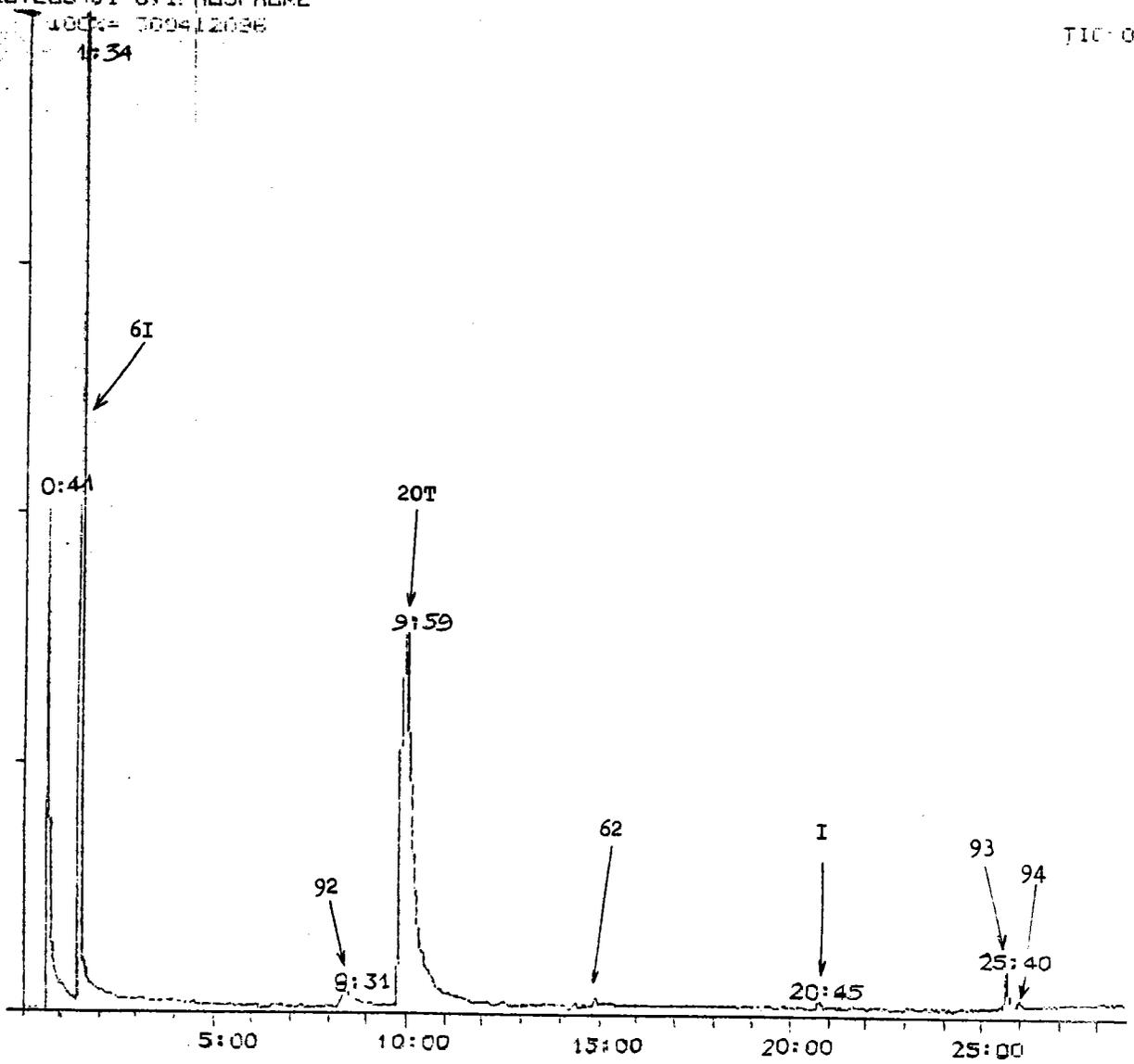


Figure 292

: Chromatogramme de l'échantillon âgé de un jour après  
ensemencement avec Proteus vulgaris dans un milieu  
C/N/P = 100/20/0, I.

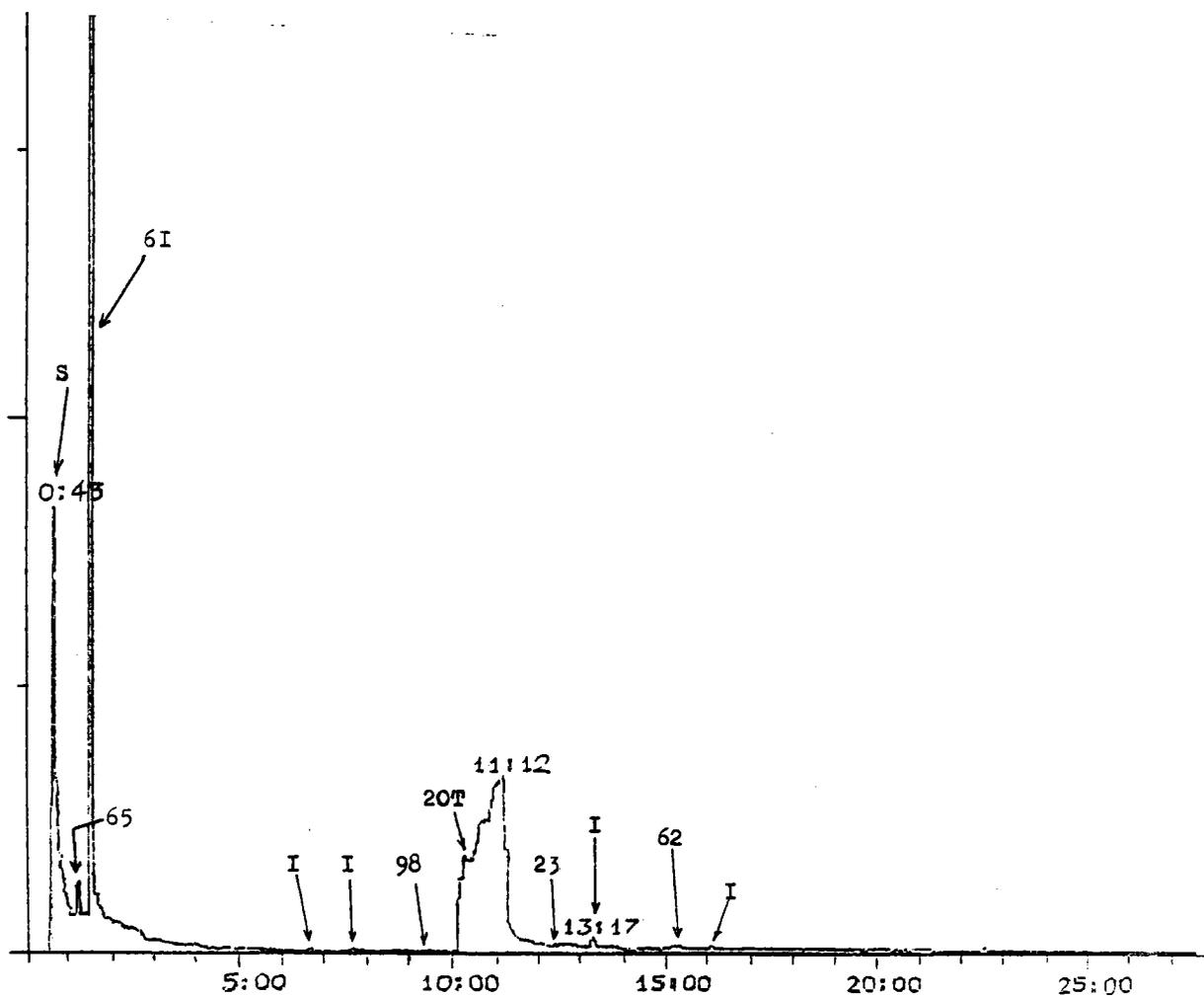


Figure 293 : Chromatogramme de l'échantillon âgé de deux jours après ensemencement avec Proteus vulgaris dans un milieu C/N/P = 100/20/0,1.

CPMAG SIDAR V 3.0  
R.D. M.A. DPS:03  
S. PROTEUS O.I.P

0.64 80

23-FEB-87 12:58  
21-FEB-87 11:21

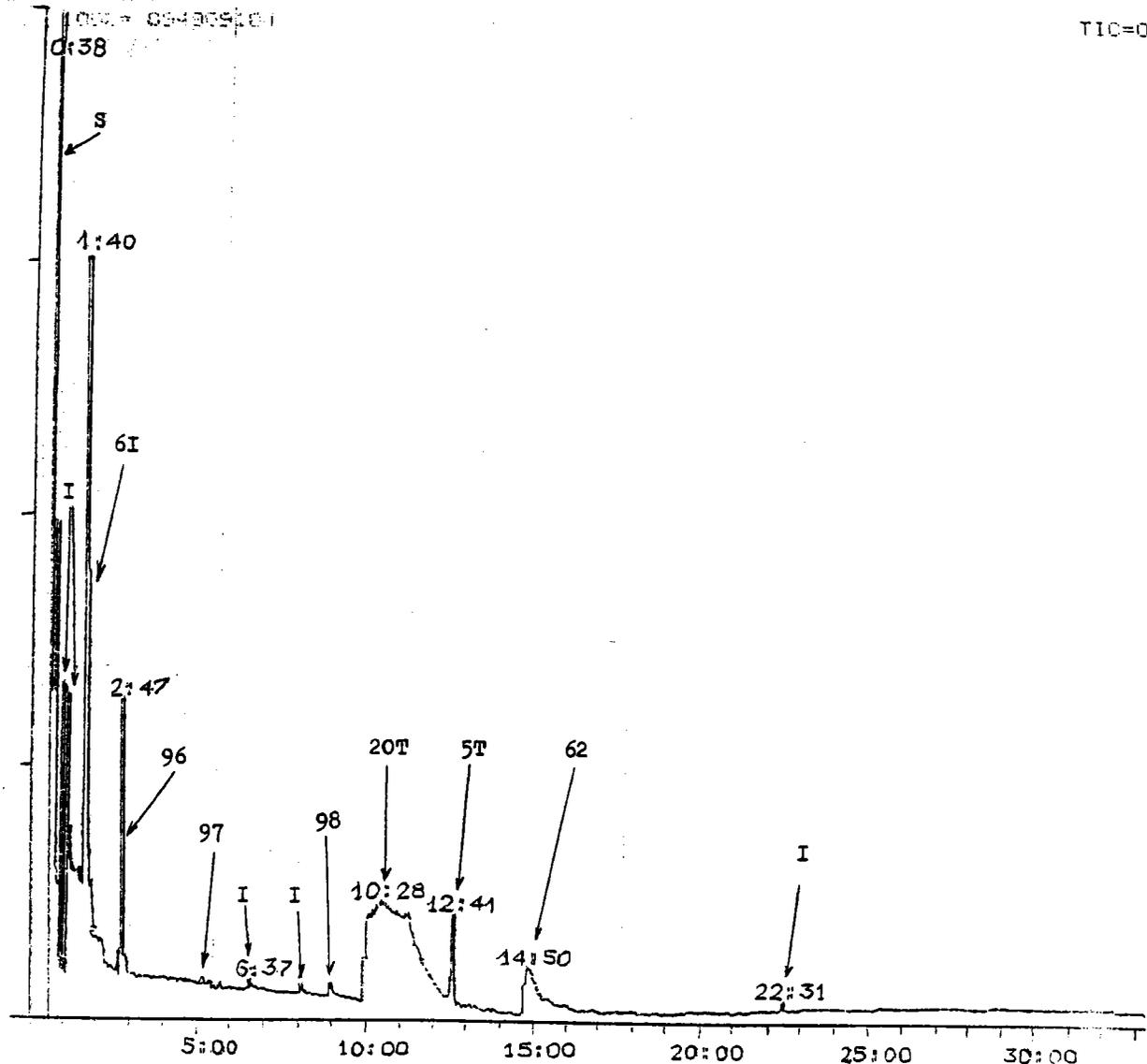


Figure 294 : Chromatogramme de l'échantillon âgé de trois jours après ensemencement avec Proteus vulgaris dans un milieu C/N/P = 100/20/0,I.

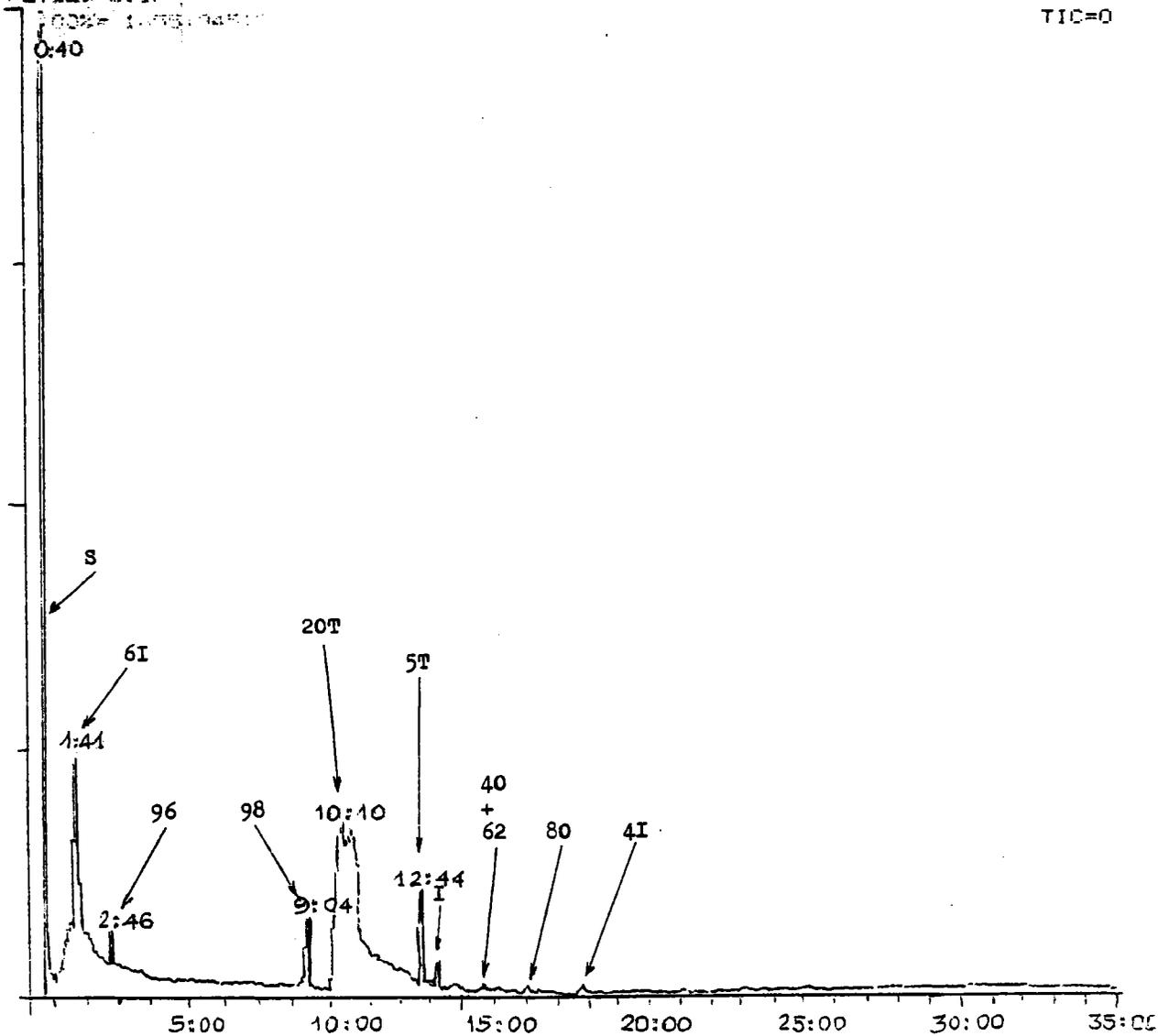


Figure 295 : Chromatogramme de l'échantillon âgé de quatre jours après ensemencement avec Proteus vulgaris dans un milieu C/N/P = 100/20/0,1.

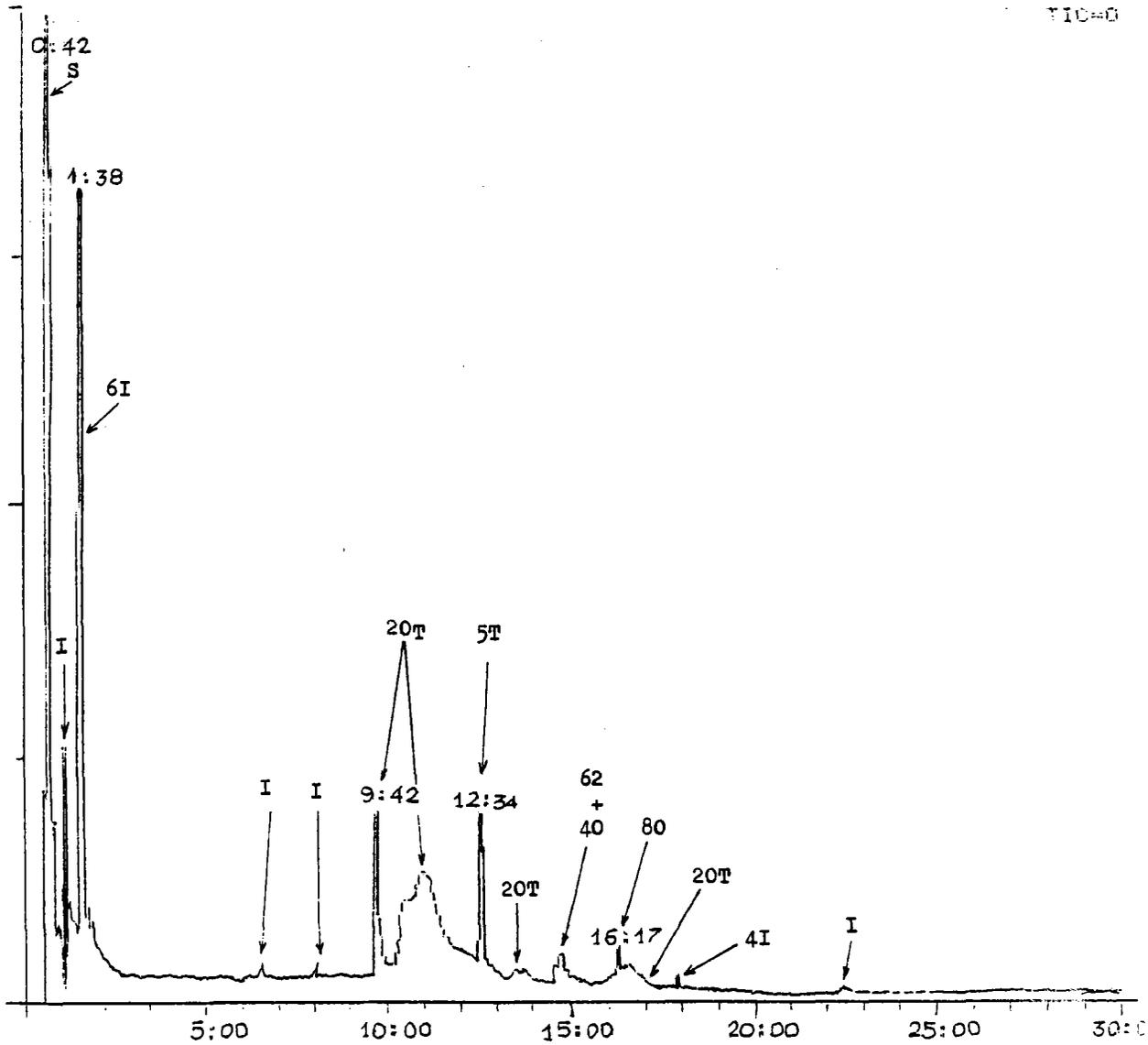


Figure 296 : Chromatogramme de l'échantillon âgé de cinq jours après ensemencement avec Proteus vulgaris dans un milieu C/N/P = 100/20/0,I.

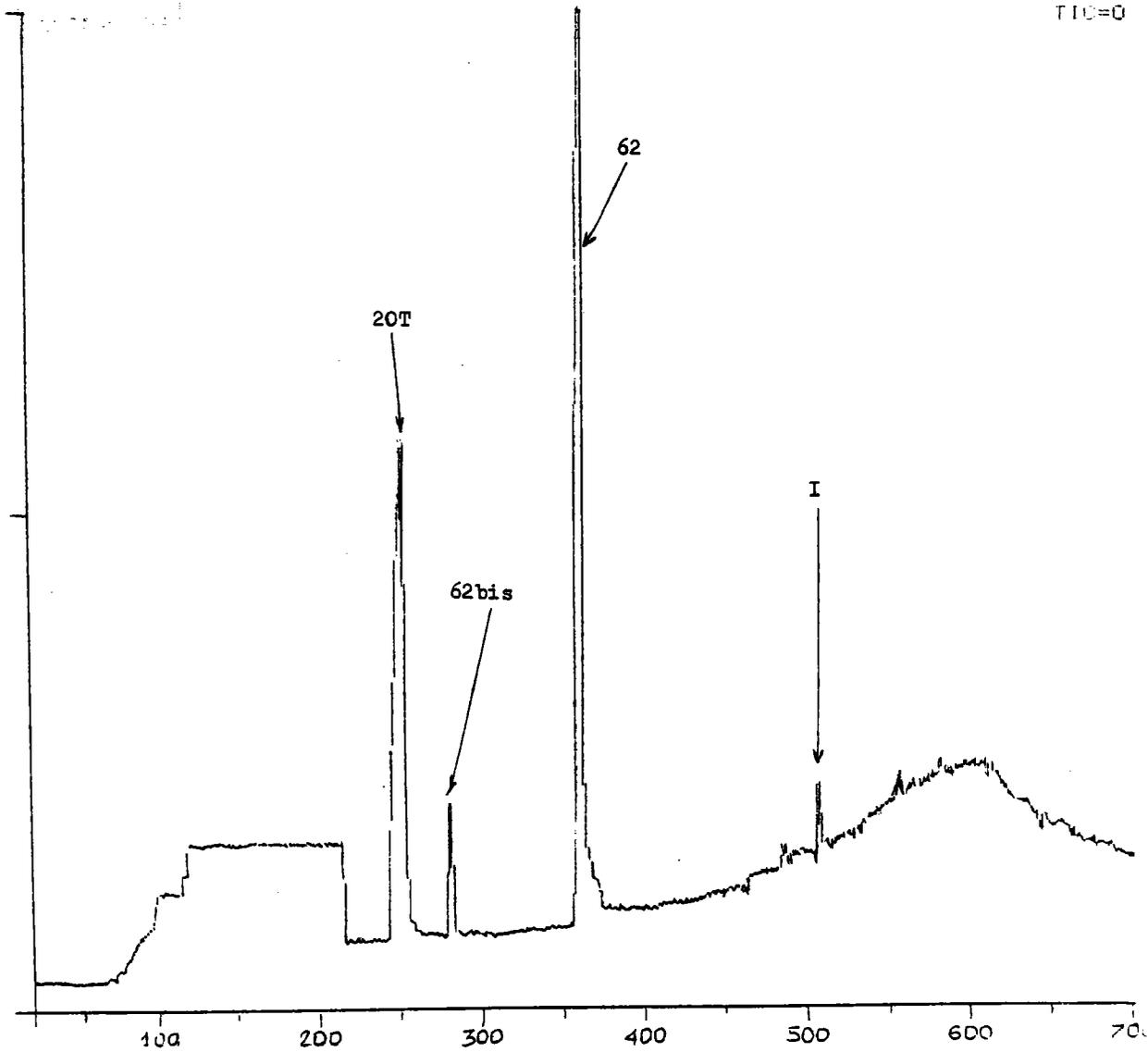


Figure 297 : Chromatogramme de l'échantillon âgé de un jour après  
ensemencement par Pseudomonas sp.5 dans un milieu  
C/N/P = 100/20/0,I.

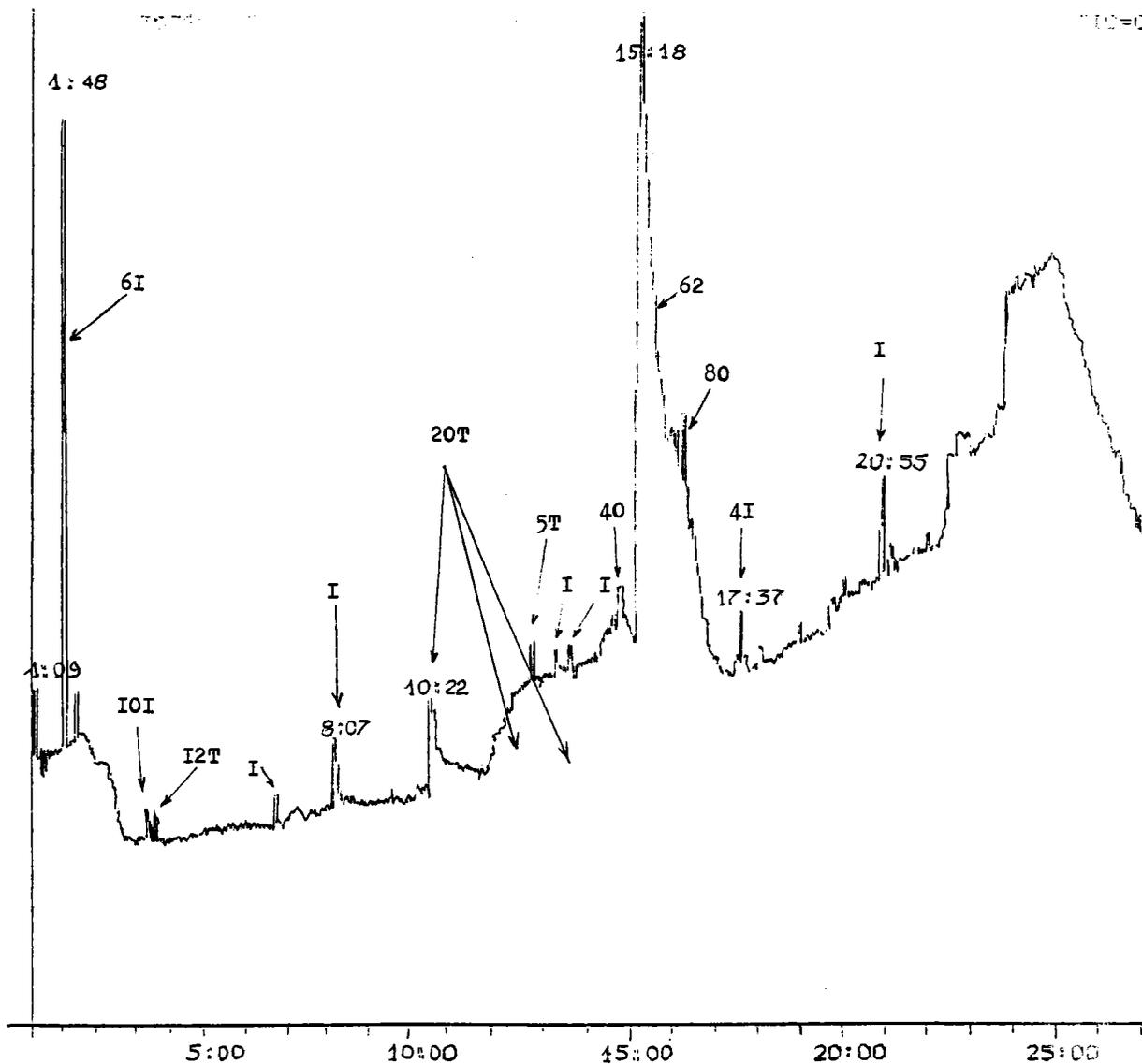


Figure 298 : Chromatogramme de l'échantillon âgé de deux jours après ensemencement par *Pseudomonas* sp.5 dans un milieu C/N/P = 100/20/0,I.

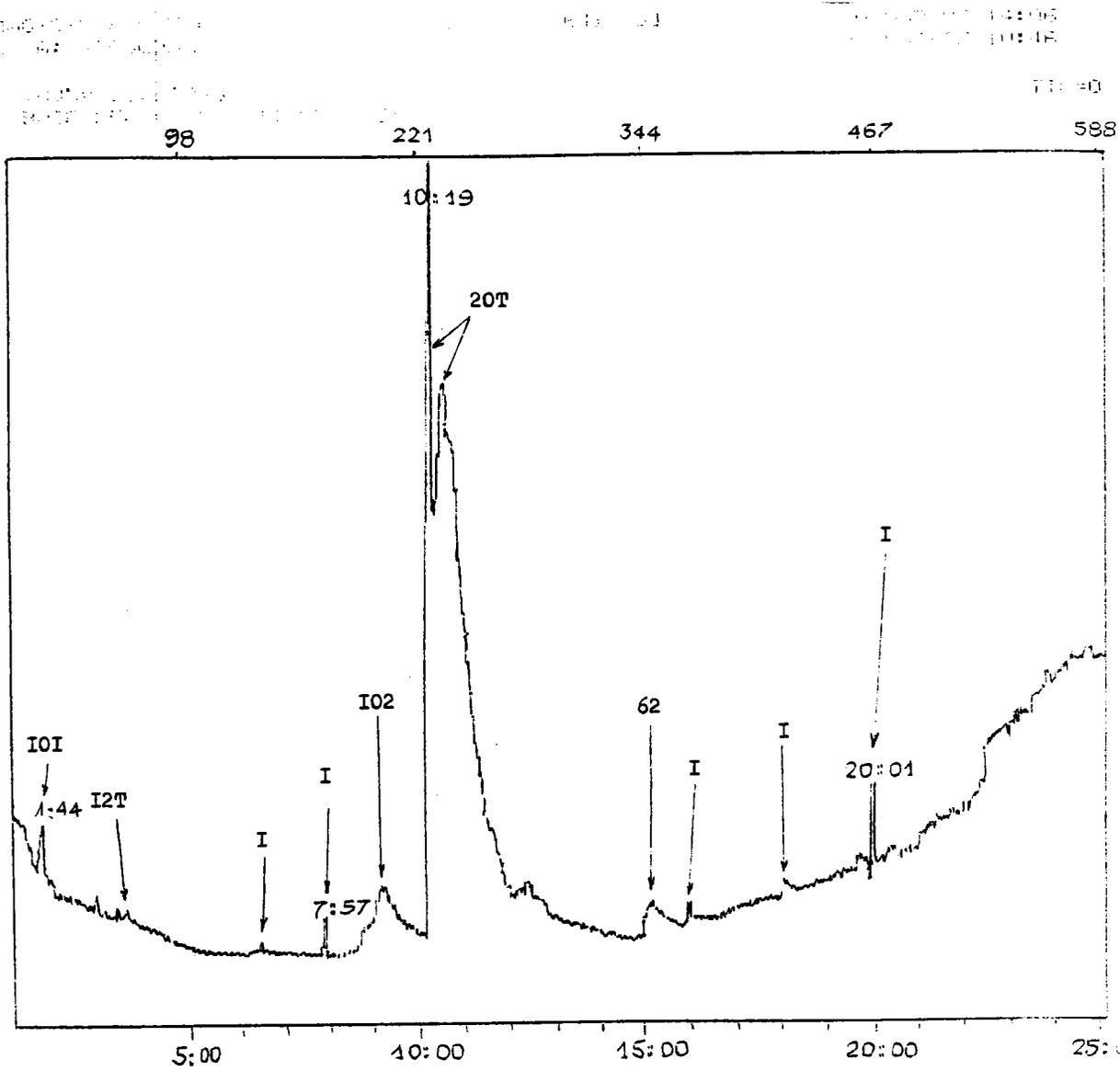


Figure 299

: Chromatogramme de l'échantillon âgé de trois jours  
ensemencé par Pseudomonas sp.5 dans un milieu  
C/N/P = 100/20/0,I.

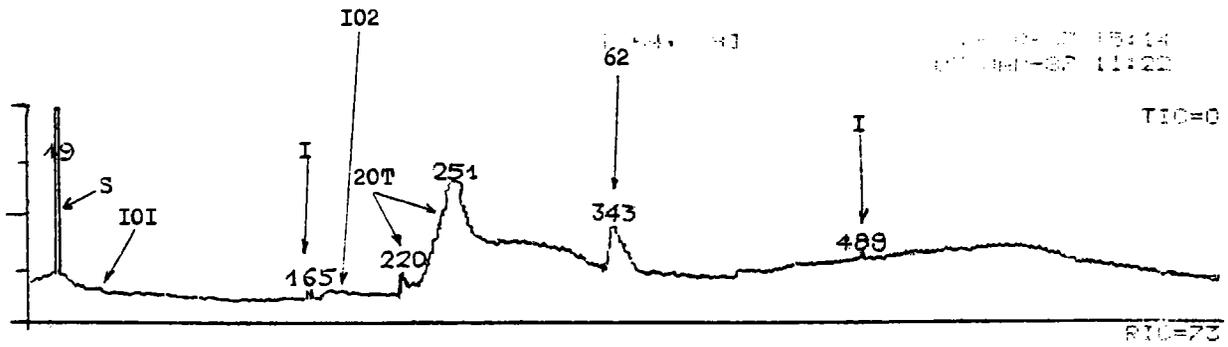


Figure 300 : Chromatogramme de l'échantillon âgé de quatre jours après ensemencement avec *Pseudomonas* sp.5 dans un milieu C/N/P = 100/20/0,I.

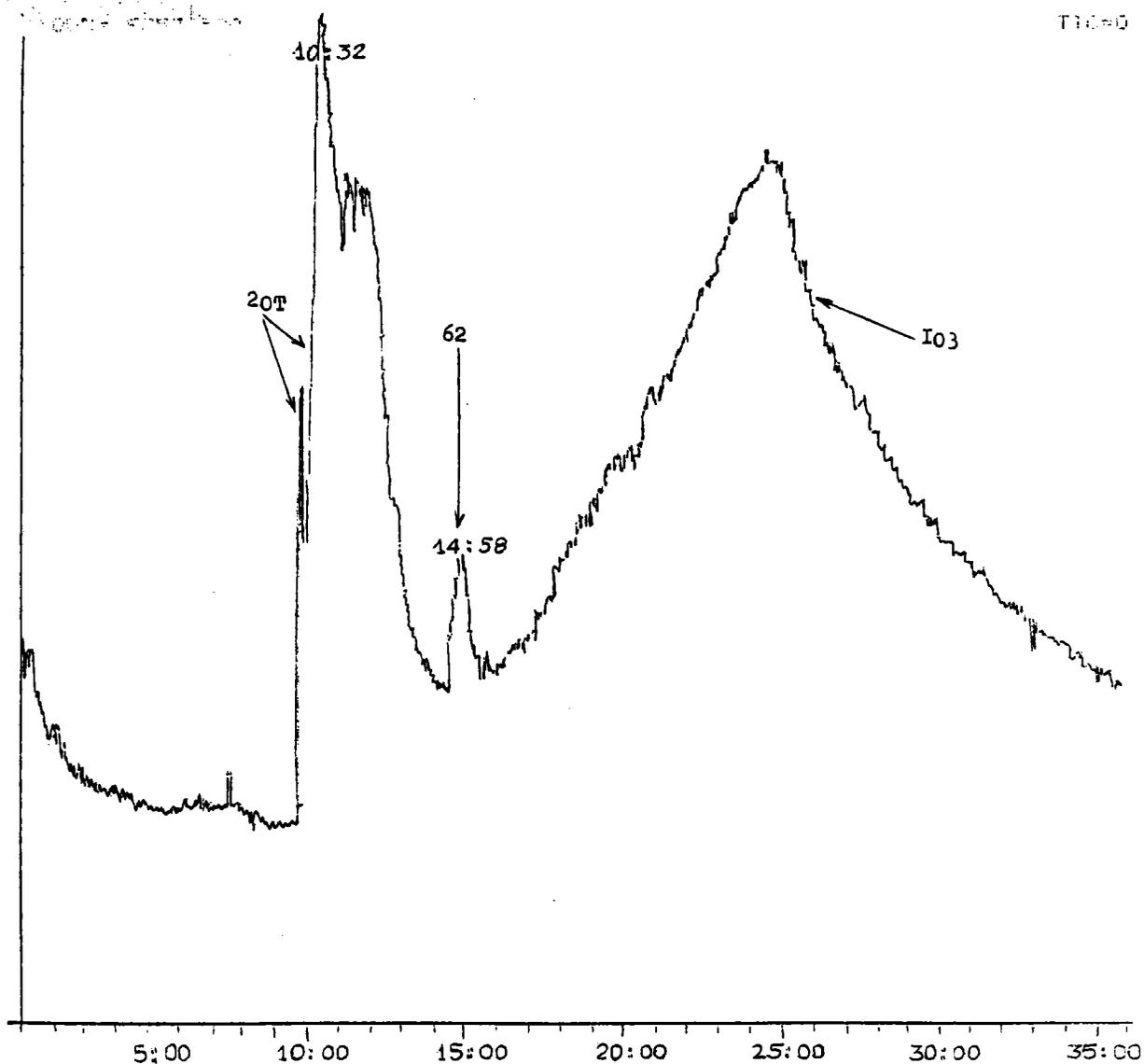


Figure 30I : Chromatogramme de l'échantillon âgé de cinq jours après ensemencement avec Pseudomonas sp.5 dans un milieu C/N/P = 100/20/0,1.

## ANNEXE XVII

Spectres de masse de :

- Chlorocarbazole triméthyl silylé
  
- Dichlorocarbazole
  
- Dichlorocarbazole triméthyl silylé
  
- Trichlorocarbazole
  
- Chlorométhylcarbazole
  
- Bromocarbazole .

Le composé 80 correspond à la molécule silylée de monochlorocarbazole comme le montre le spectre de masse à 70 eV (figure 302 ) sur lequel est observé le pic de masse  $m/z = 273$  et le pic  $m/z = 275$  qui vaut le tiers du pic  $m/z = 273$ .

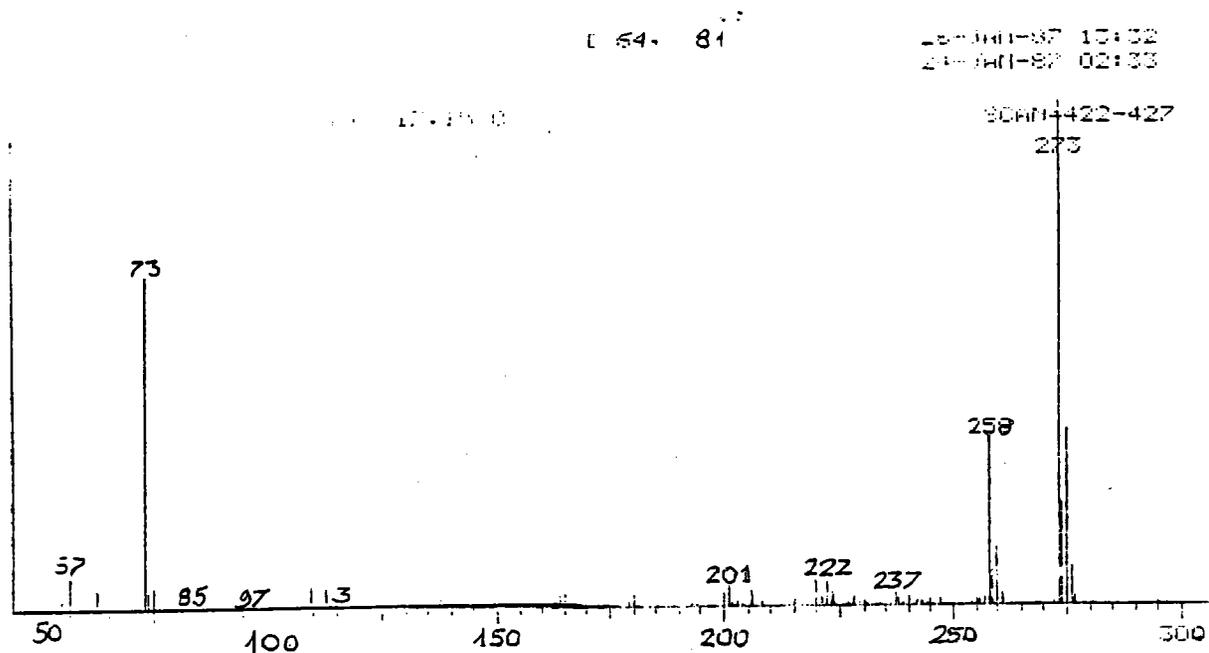


Figure 302 : Spectre de masse du monochlorocarbazole silylé.

Le spectre de masse de la molécule en ionisation chimique est représenté sur la figure 303 et permet d'identifier le pic de masse.

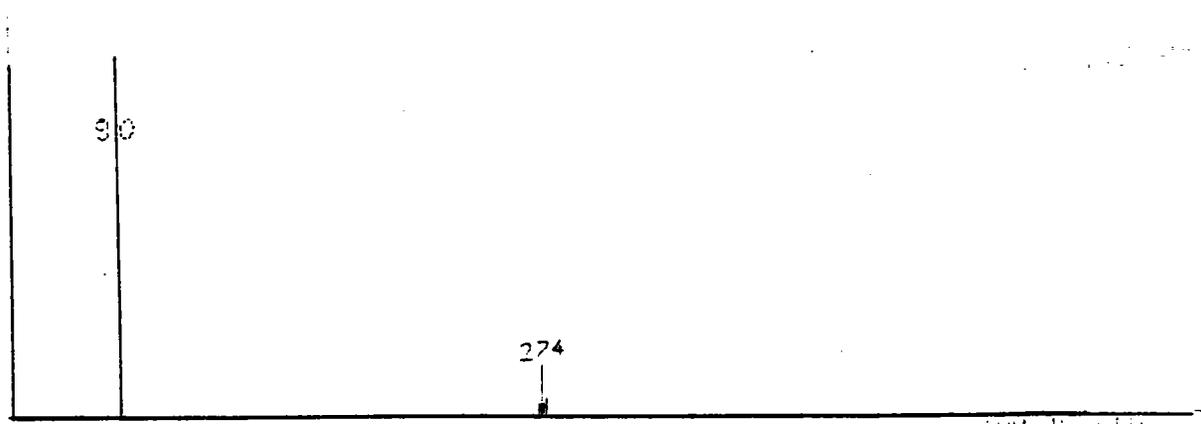


Figure 303 : Spectre de masse en ionisation chimique de la molécule.

Les composés 86 et 87 correspondent à deux molécules de dichlorocarbazole.

Leur spectre de masse à 70 eV (figure 304 ) permet de retrouver les pics  $m/z = 235, 237$  et  $239$  ayant les rapports d'intensité 9/6/I caractéristiques des molécules à deux chlores (pic de masse  $m/z = 235$  isotope  $^{35}\text{Cl}$ ).

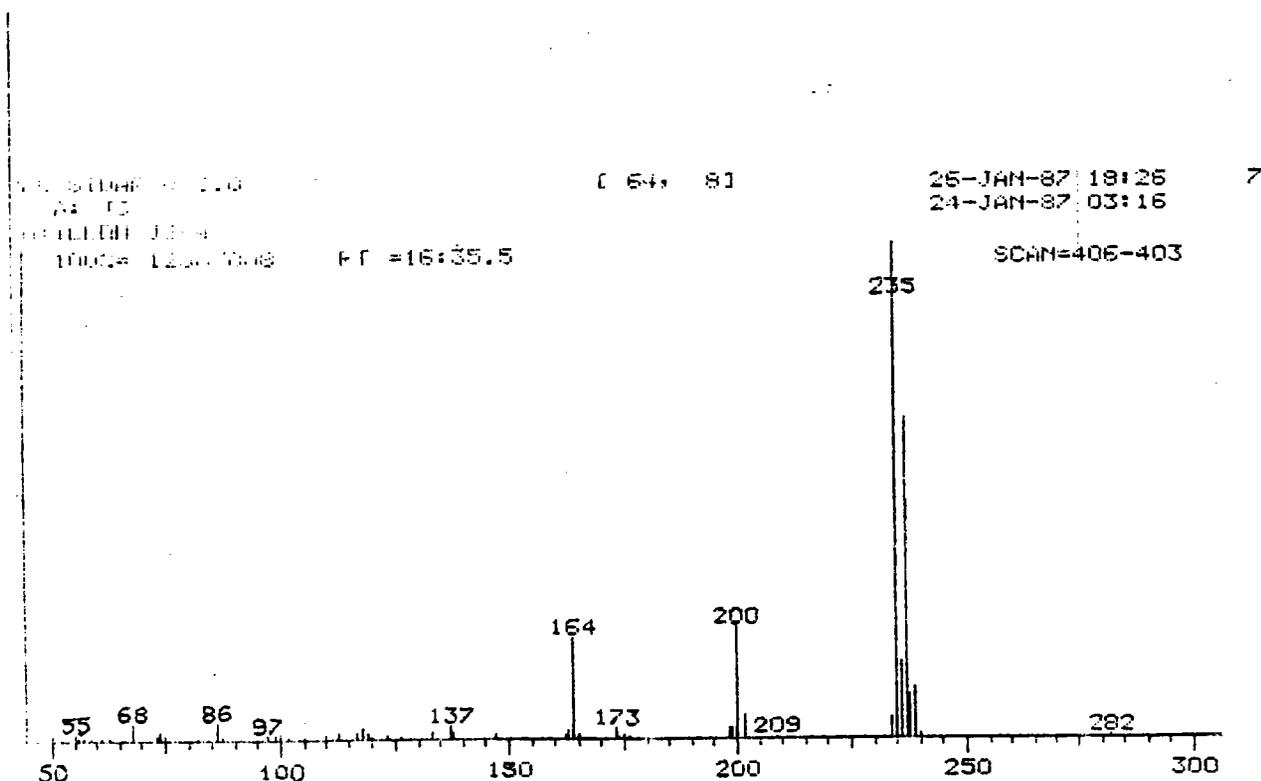


Figure 304 : Spectre de masse du dichlorocarbazole (70 eV).

Le composé 88 correspond à une molécule de dichlorocarbazole silylée. Son spectre de masse à 70 eV (figure 305 ) permet de retrouver les pics  $m/z = 307, 309$  et  $311$  avec les intensités 9/6/I caractéristiques des molécules à deux chlores (pics de masse  $m/z = 307$  isotope  $^{35}\text{Cl}$ ).

SPRINGSIDER V 3.0  
FILE # 13  
SUBANTILLON 03-4

[ 64, 81

26-JAN-87 18:31  
24-JAN-87 03:16

11

100% = 41064448 RT = 20:50.0

SCAN=510-507

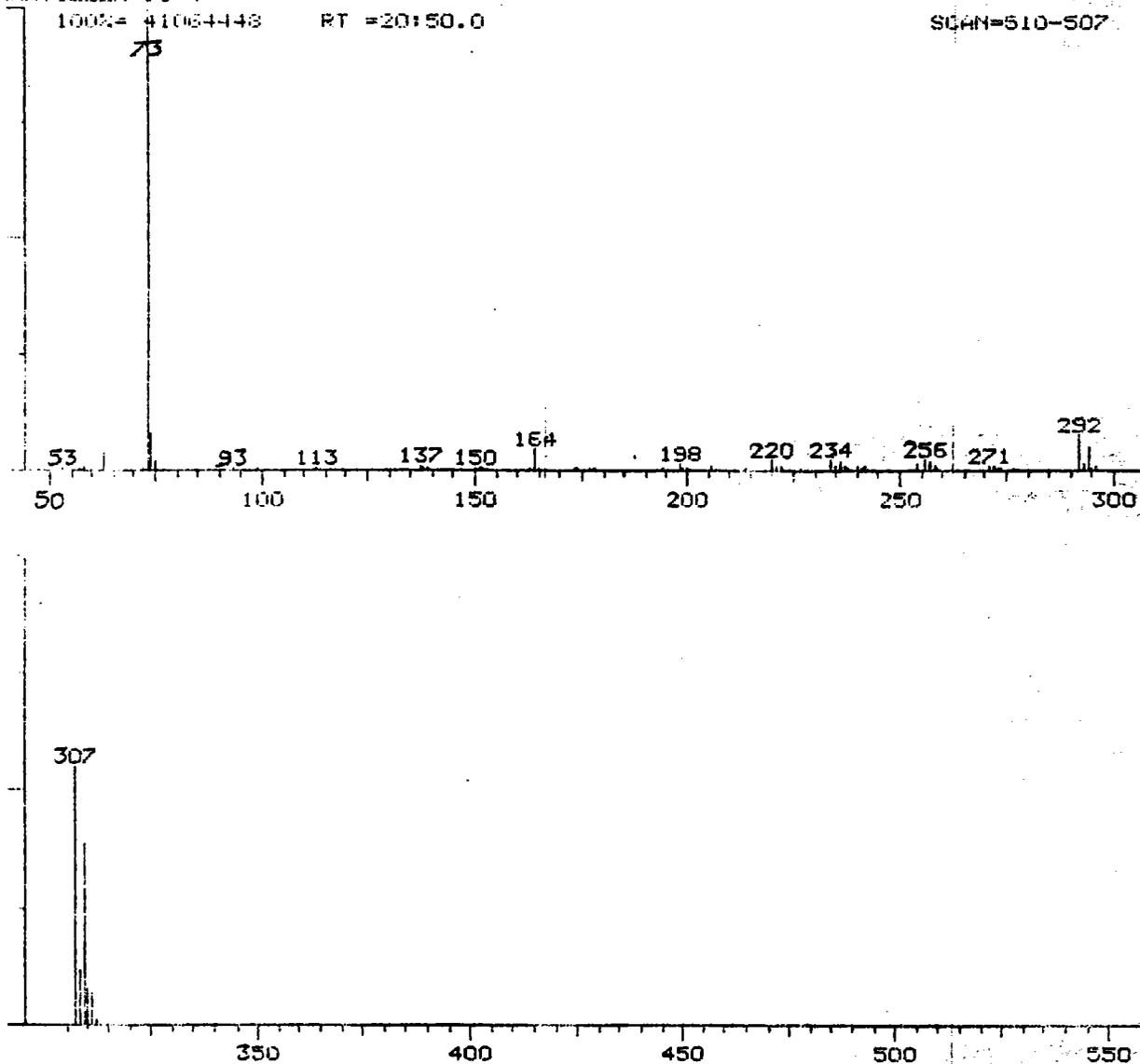


Figure 305 : Spectre de masse du dichlorocarbazole silylé (70 eV).

Le composé I00 correspond à la molécule trichlorocarbazole.

Son spectre de masse à 70 eV (figure 306 ) permet de repérer son pic de masse ( $m/z = 269$ ) qui est assez faible.

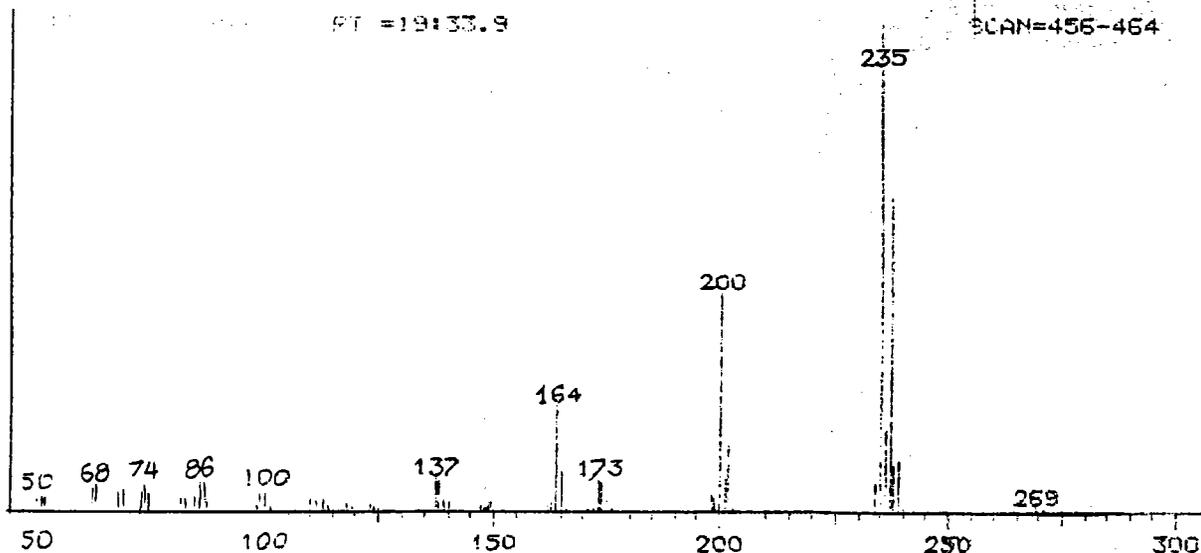


Figure 306 : Spectre de masse du trichlorocarbazole ( $m/z = 269$ ) (70 eV).

Le composé 99 correspond à la molécule chlorométhylcarbazole. Son spectre de masse à 70 eV (figure 307 ) permet de repérer son pic de masse  $m/z = 215$  et le pic  $m/z = 217$  qui vaut le tiers du pic  $m/z = 215$ .

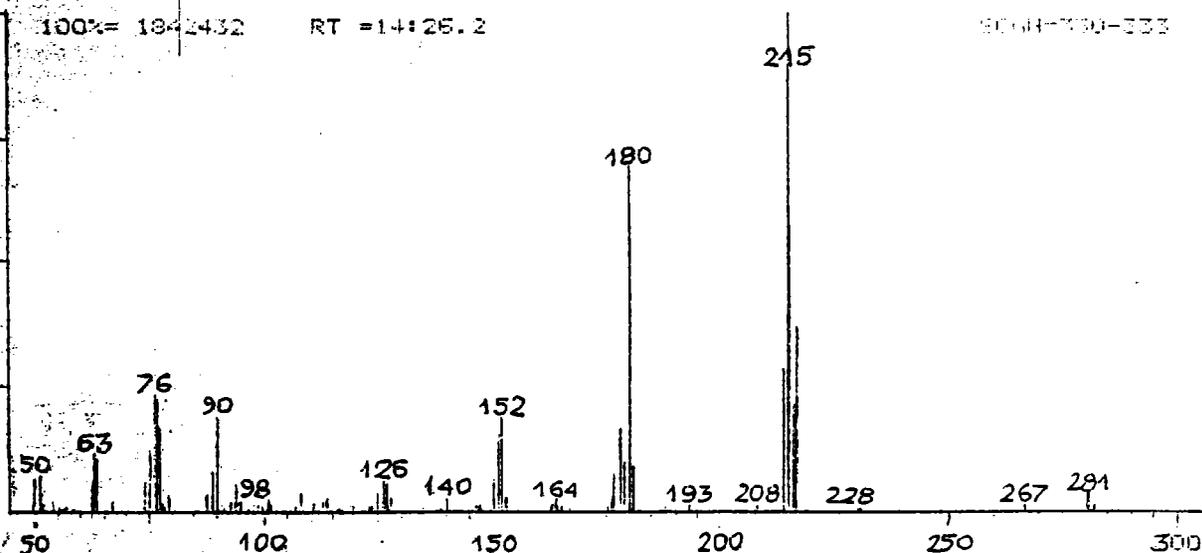


Figure 307 : Spectre de masse du chlorométhylcarbazole ( $m/z = 215$ ) (70 eV).

Le composé 78 correspond à la molécule bromocarbazole.

Son spectre de masse à 70 eV (figure 308 ) permet de repérer les deux pics  $m/z = 245$  et  $247$  correspondant aux deux isotopes du brome (intensité 51/49 pour  $^{79}\text{Br}/^{81}\text{Br}$ ).

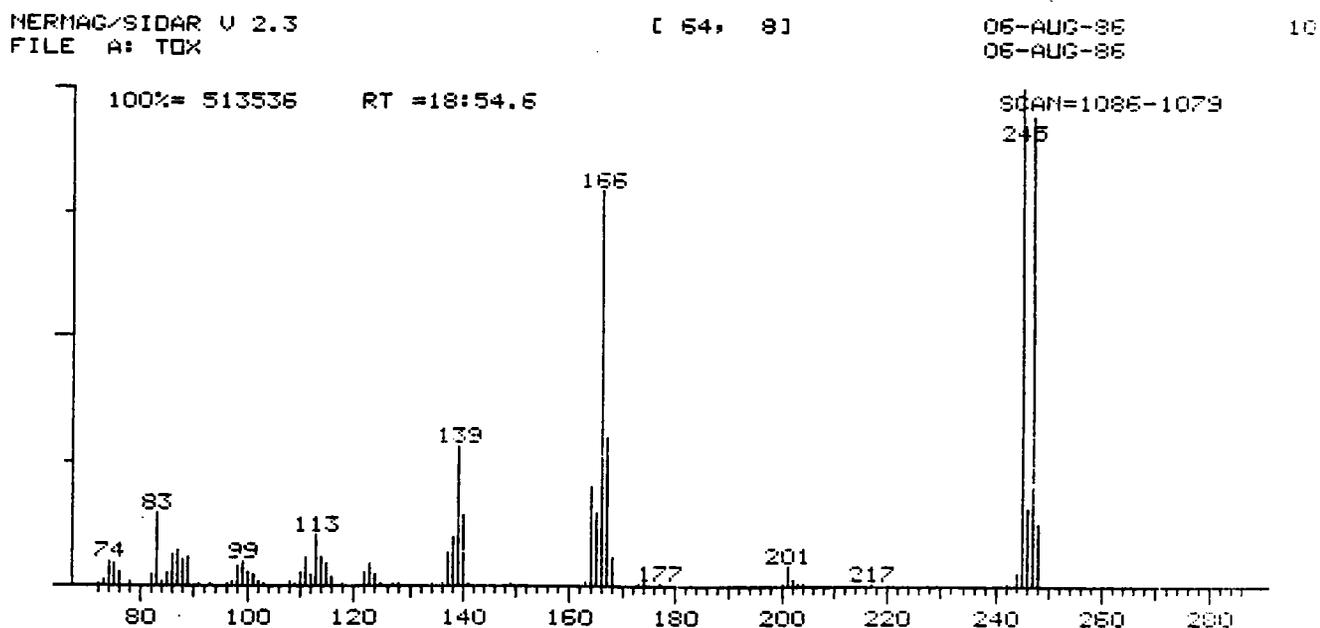


Figure 308 : Spectre de masse du bromocarbazole ( $m/z = 245$ ) (70eV).

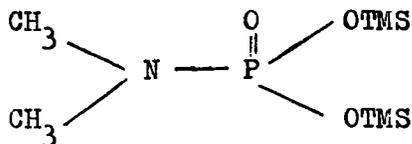
## ANNEXE XVIII

Spectres de masse de :

- Acide Aminométhylphosphonique triméthyl silylé
- Acide Amino diméthylphosphonique triméthyl silylé
- Pyrophosphate triméthyl silylé
- Alcane
- Dérivés type polycyclohexane
- Acide gras triméthyl silylé .

Le composé 65 correspond à la molécule acide aminodiméthylphosphonique triméthyl silylée comme le confirme l'ordinateur avec un taux de similitude de 82%.

Sa formulation est la suivante :



Le spectre de masse à 70 eV correspond à la figure 309 .

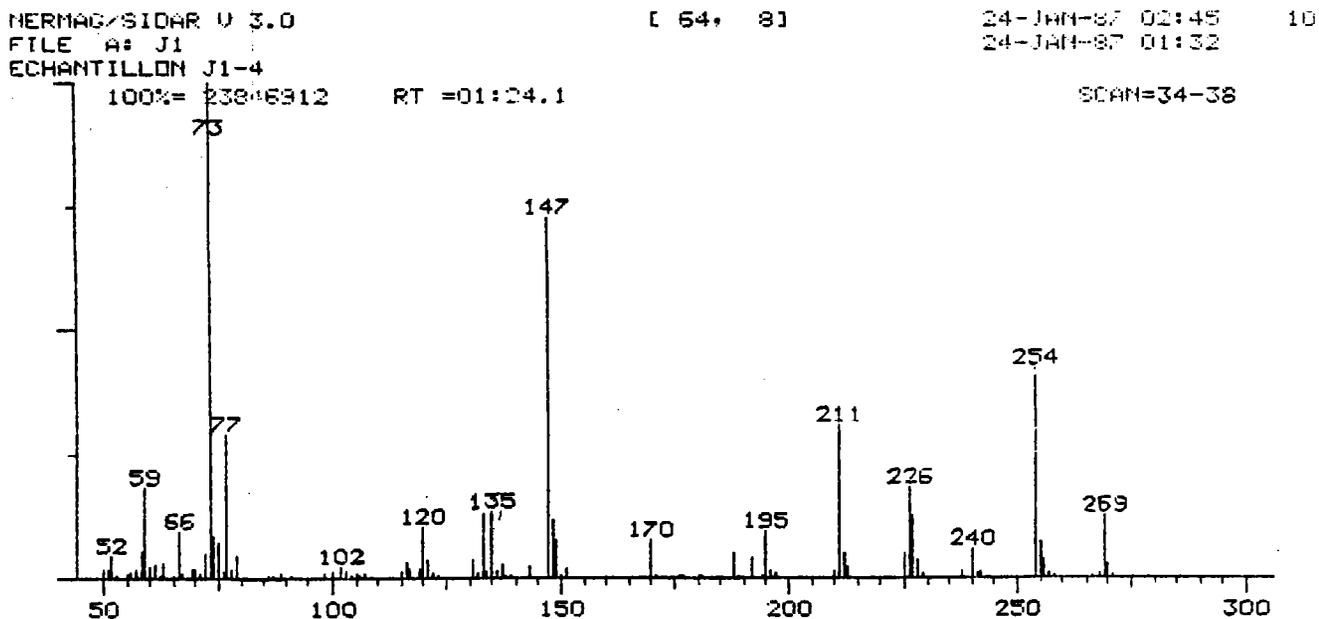


Figure 309 : spectre de masse de la molécule acide aminodiméthylphosphonique triméthyl silylée (70 eV).

Son poids moléculaire ( $m/z = 269$ ) est confirmé par son spectre de masse en ionisation chimique (figure 310 ).



HERNAC/SIDAR U 3.0  
FILE A: J2  
ECHANTILLON J2-4

[ 64, 81

26-JAN-87 13:13  
24-JAN-87 02:33

10

100% = 88902096 RT = 02:25.3

SCAN=59-62

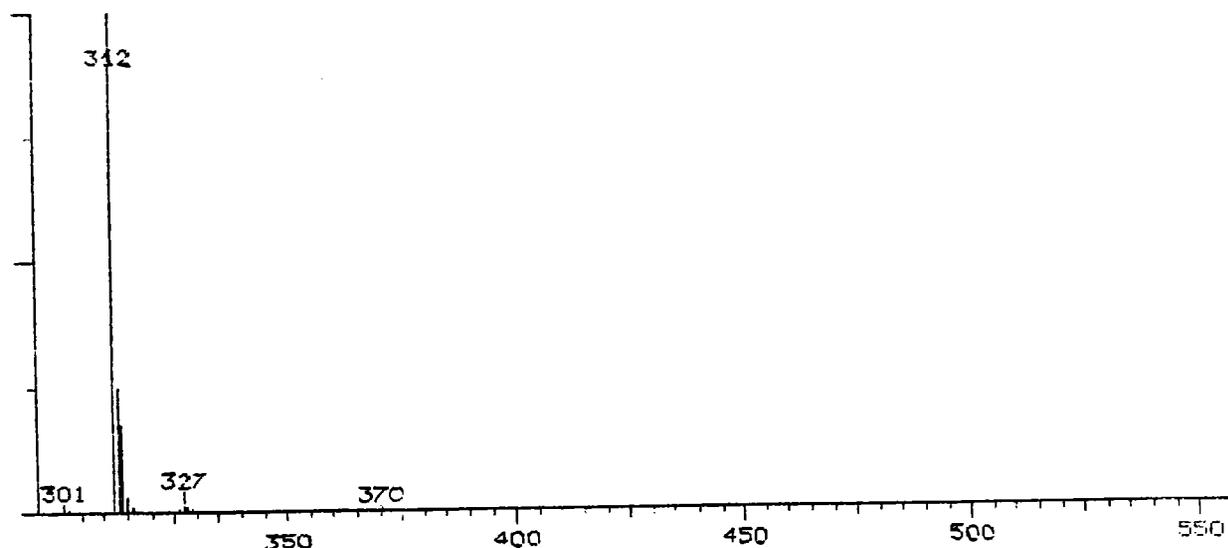
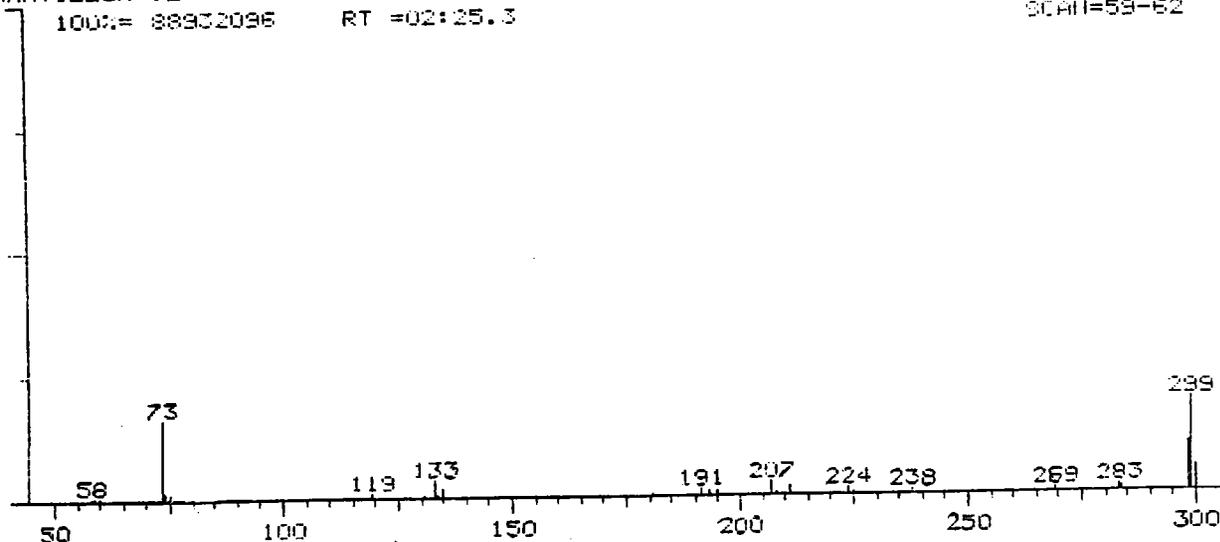


Figure 311 : Spectre de masse d'un possible acide aminométhyl-  
phosphonique triméthyl silylé (70 eV).

Le composé 66 correspond à l'acide pyrophosphorique tétratriéthyl  
silylé comme le confirme l'ordinateur avec un taux de similitude de  
73%.

Le spectre de masse est représenté sur la figure 312 .

HERMAG-SIDAR V 3.0  
FILE A: J1  
ECHANTILLON J1-4

[ 54, 81 ]

24-JAN-87 02:57  
24-JAN-87 01:32

100% = 133786624 RT = 08:33.3

SCAN=209-199

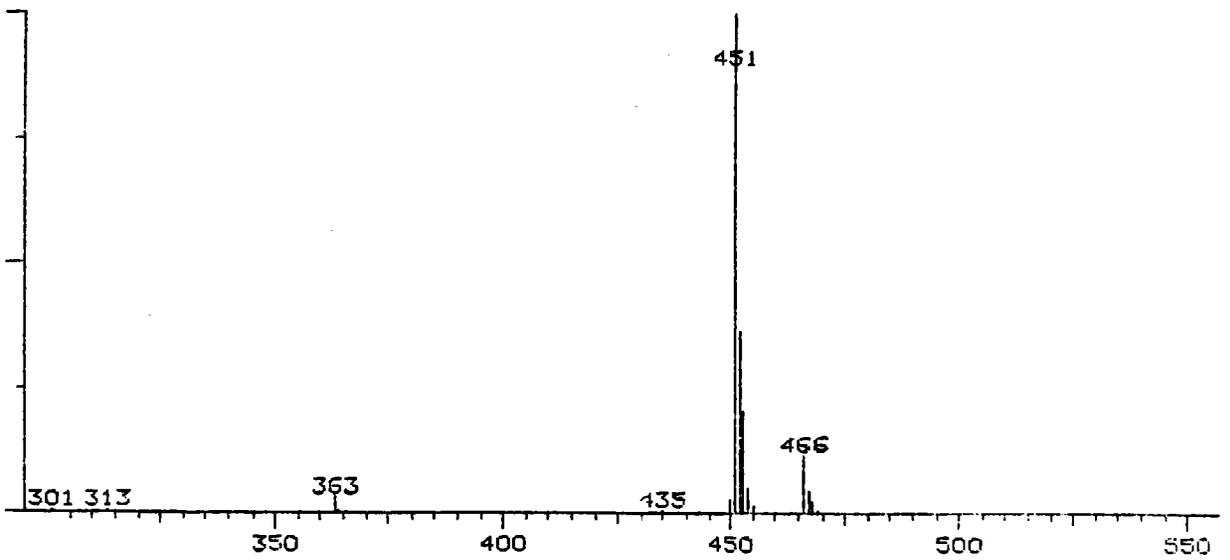
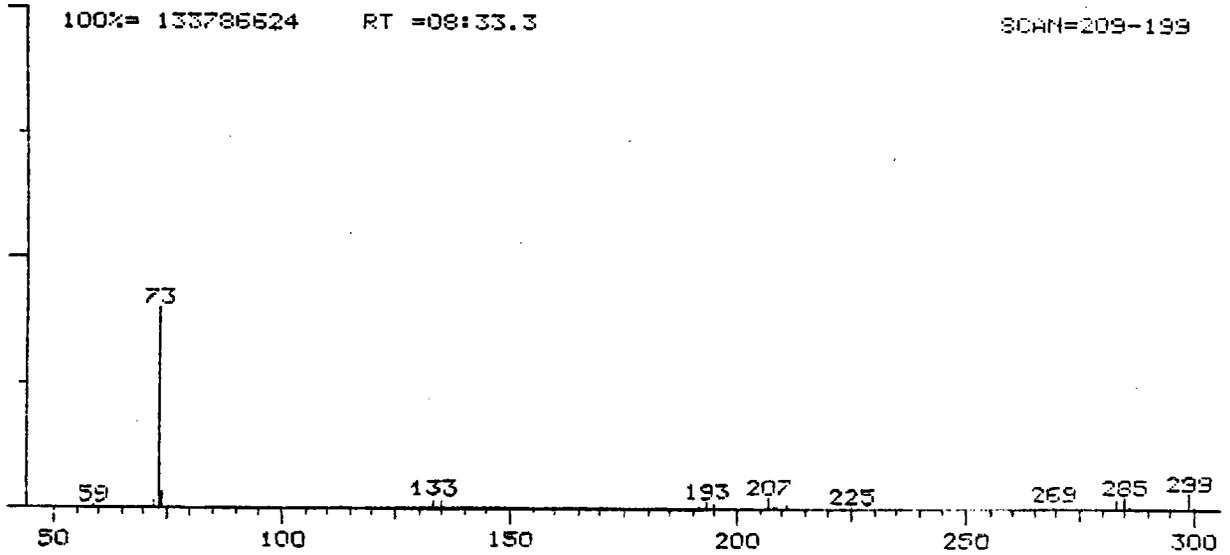


Figure 3I2 : Spectre de masse de l'acide pyrophosphorique tétra-triméthyl silylé (70 eV).

Son poids moléculaire ( $m/z = 466$ ) est confirmé par son spectre de masse en ionisation chimique (figure 3I3 ).

ERMAG/SIDAR U 3.0  
FILE R: J3PH01

[ 64 81

15:05  
11:54

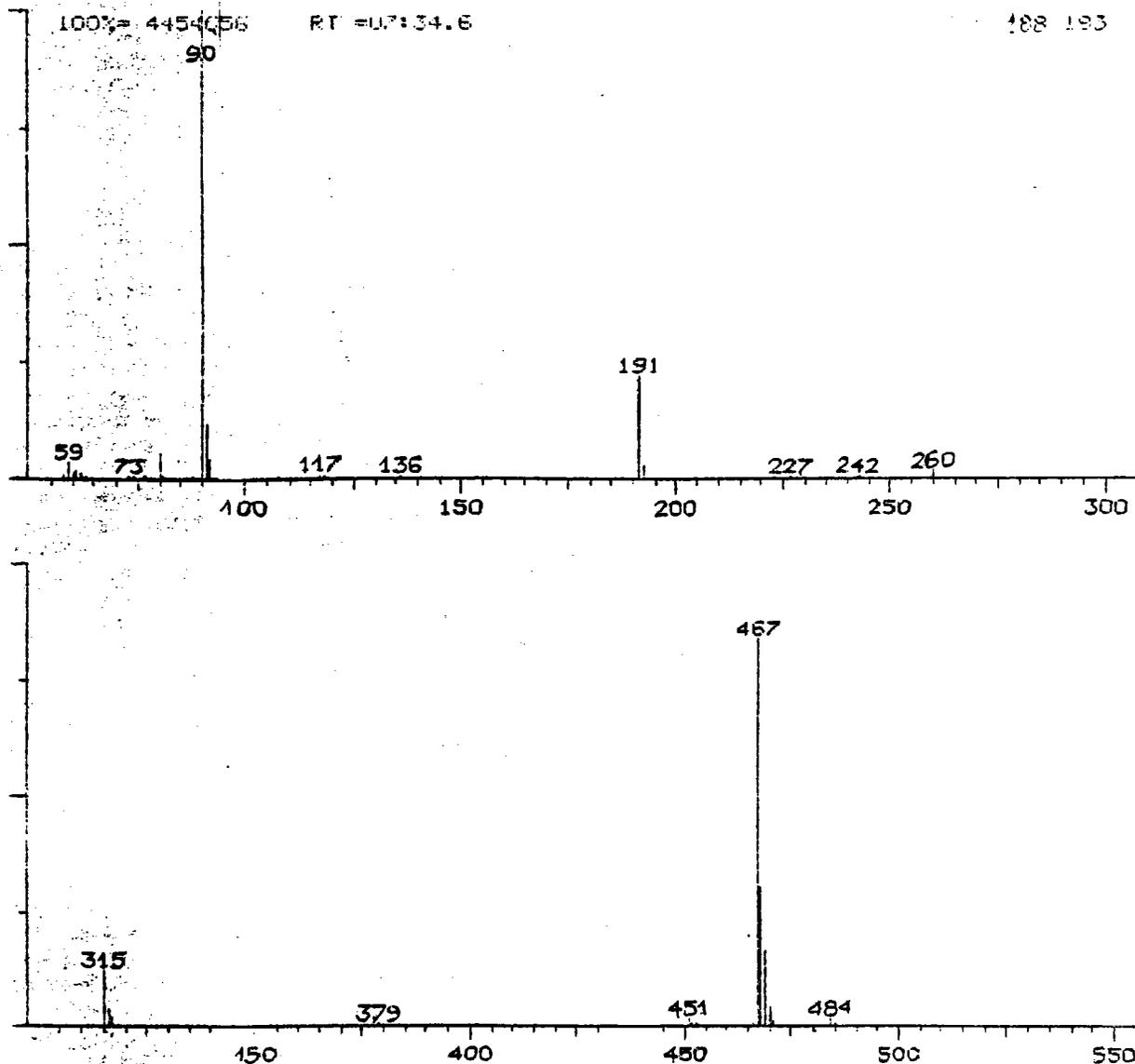


Figure 313 : Spectre de masse en ionisation chimique de l'acide pyrophosphorique tétratriméthyl silylé.

Les composés 67, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 79, 81, 89, 90 et 91 correspondent à des alcanes de grande taille ( $C > 20$ ) comme le confirme l'ordinateur avec un taux de similitude de 96% pour la plupart.

Un exemple de spectre de masse est représenté sur la figure 3I4 .  
Leur grande taille n'a pas permis de déterminer leur poids moléculaire en ionisation chimique.

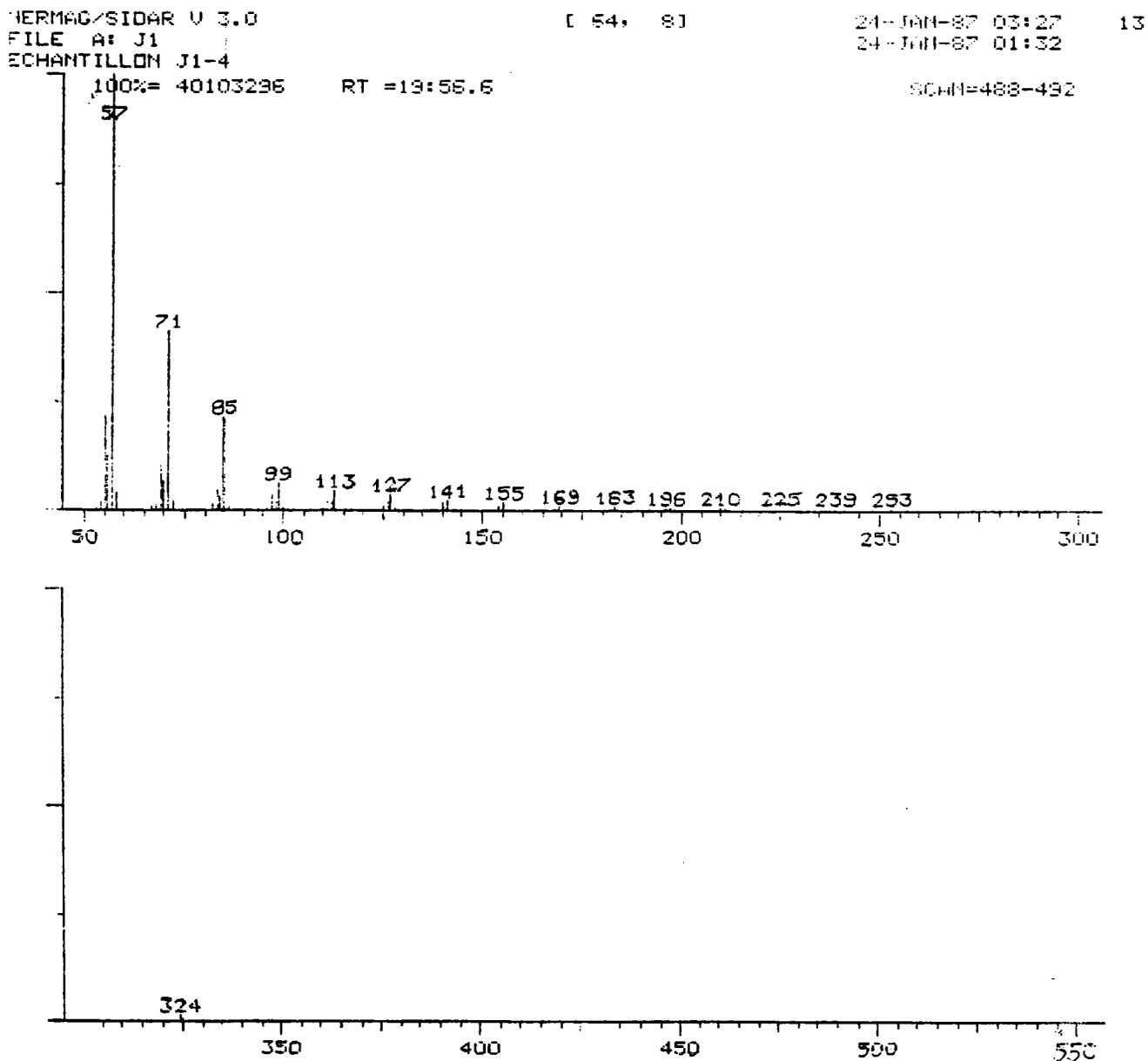


Figure 3I4 : Spectre de masse d'un alcane de grande taille (70 eV).

Le composé 93 correspond à un dérivé bicyclohexane comme le confirme l'ordinateur avec un taux de similitude de 75%.

Le spectre de masse à 70 eV est représenté sur la figure 3I5 .  
Son poids moléculaire n'a pu être déterminé.

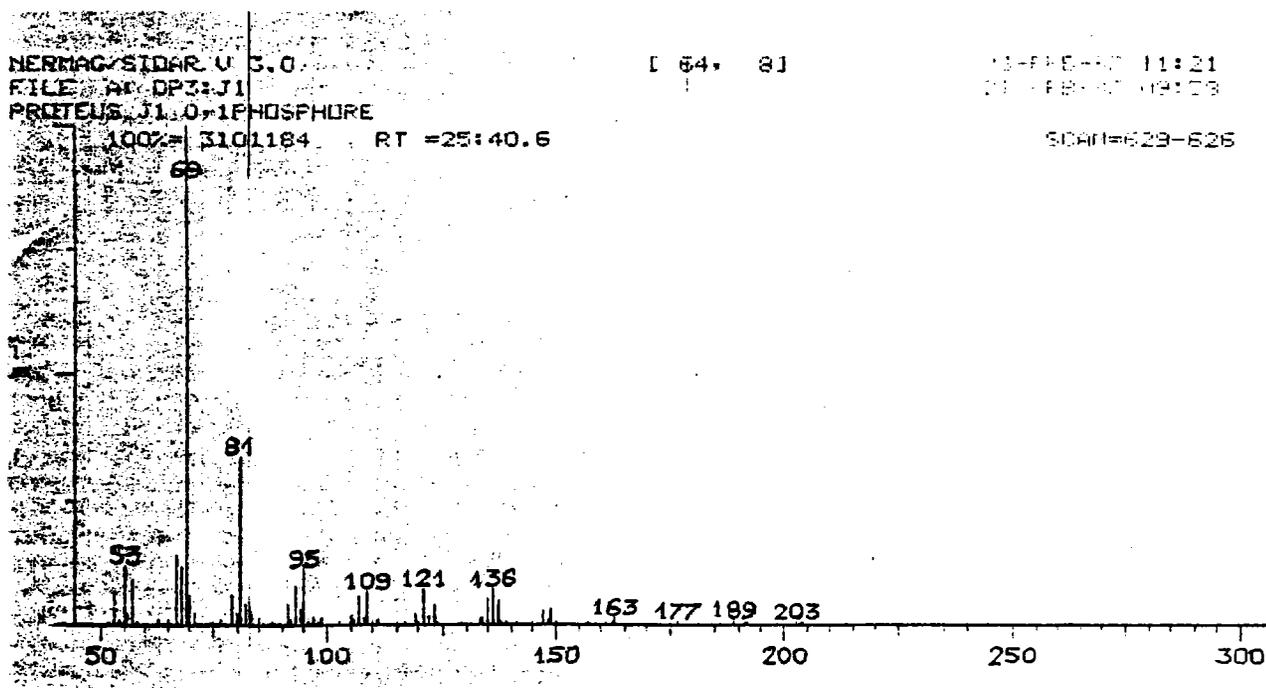


Figure 3I5 : Spectre de masse (70 eV) du dérivé bicyclohexane.

Le composé 94 peut correspondre à un dérivé type polycyclohexane comme semble le confirmer l'ordinateur avec un taux de similitude de 64%.

Son spectre de masse à 70 eV est représenté sur la figure 3I6 .  
Son poids moléculaire n'a pu être déterminé.



Le spectre de masse est représenté sur la figure 3I7 .  
Son poids moléculaire n'a pu être déterminé.

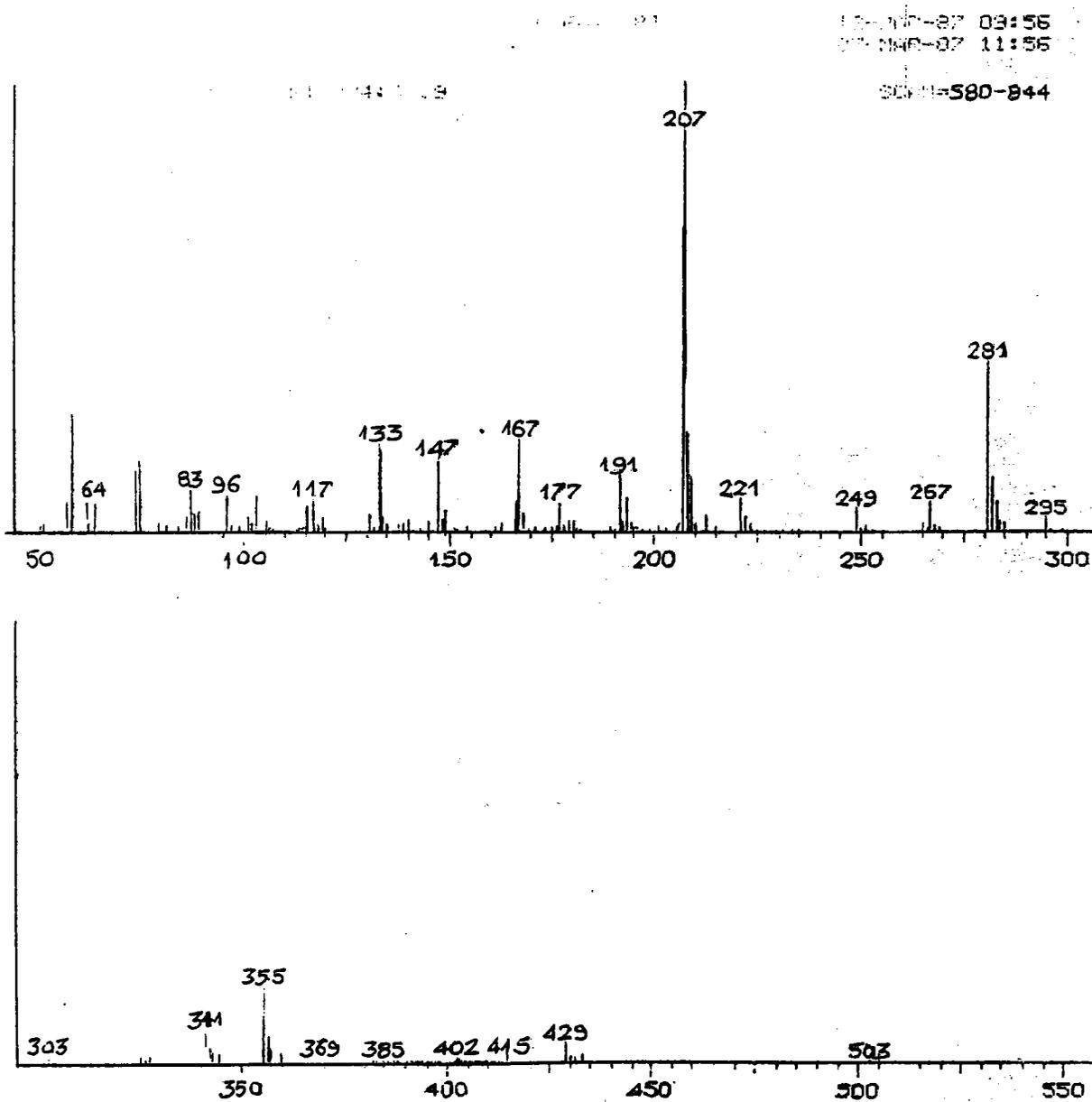


Figure 3I7 : Spectre de masse (70 eV) du composé 103.

# ANNEXE XIX

Spectres de masse de :

- Aminométhyl 1-éthyl 2-cyclohexane triméthyl silylé
- Amino-éthyl 1-éthyl 2-cyclohexane
- Dérivé de l'indole
- Dihydro carbazole dione
- Indole
- Chloroindole
- Acide indole carboxylique
- Catéchol
- Isatine .

Le composé 82 peut correspondre à l'aminométhyl I - éthyl 2 -cyclohexane triméthyl silylé.

Son spectre de masse est représenté sur la figure 318 et sa formulation peut être la suivante :

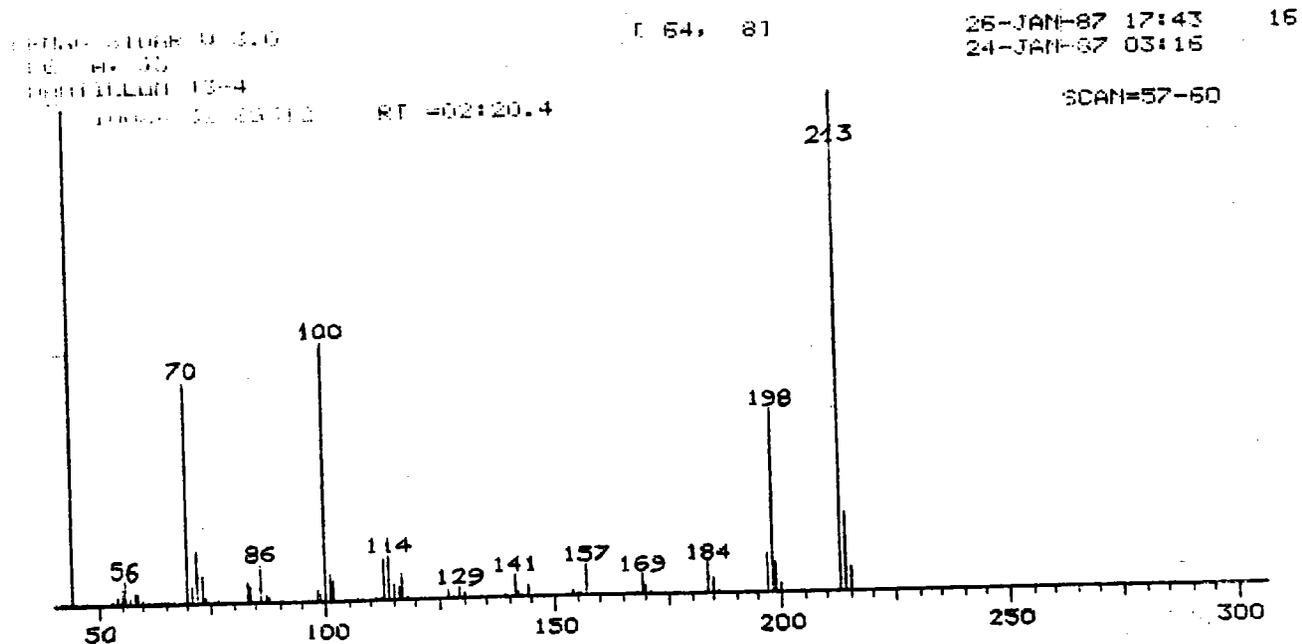
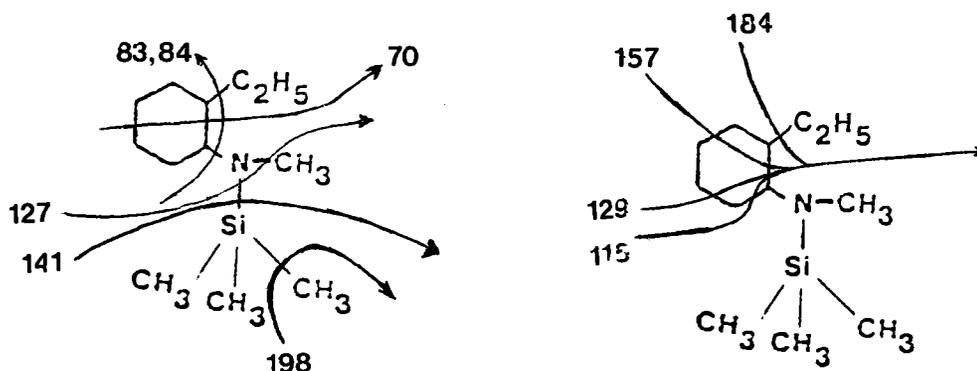


Figure 318 : Spectre de masse (70 eV) d'un possible aminométhyl I - éthyl 2 - cyclohexane.

Le pic de masse  $m/z = 213$  a été confirmé par ionisation chimique malgré sa faible intensité.

Le composé 83 correspond probablement à l' aminoéthyl I - éthyl 2 - cyclohexane.

Son spectre de masse est représenté sur la figure 319 et sa formulation peut être la suivante :

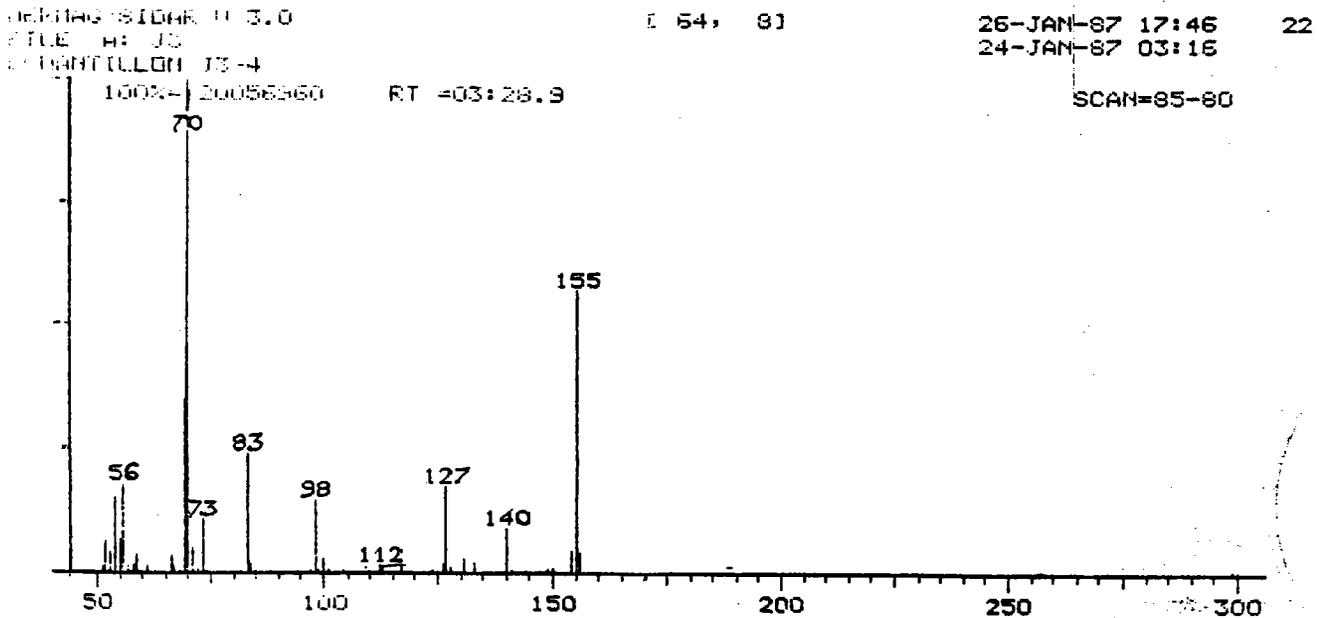
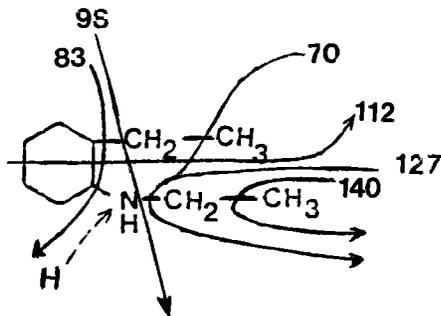


Figure 319 : Spectre de masse (70 eV) d'un probable aminoéthyl I - éthyl 2 - cyclohexane.

Le pic de masse  $m/z = 155$  a été confirmé par ionisation chimique (figure 320 ).

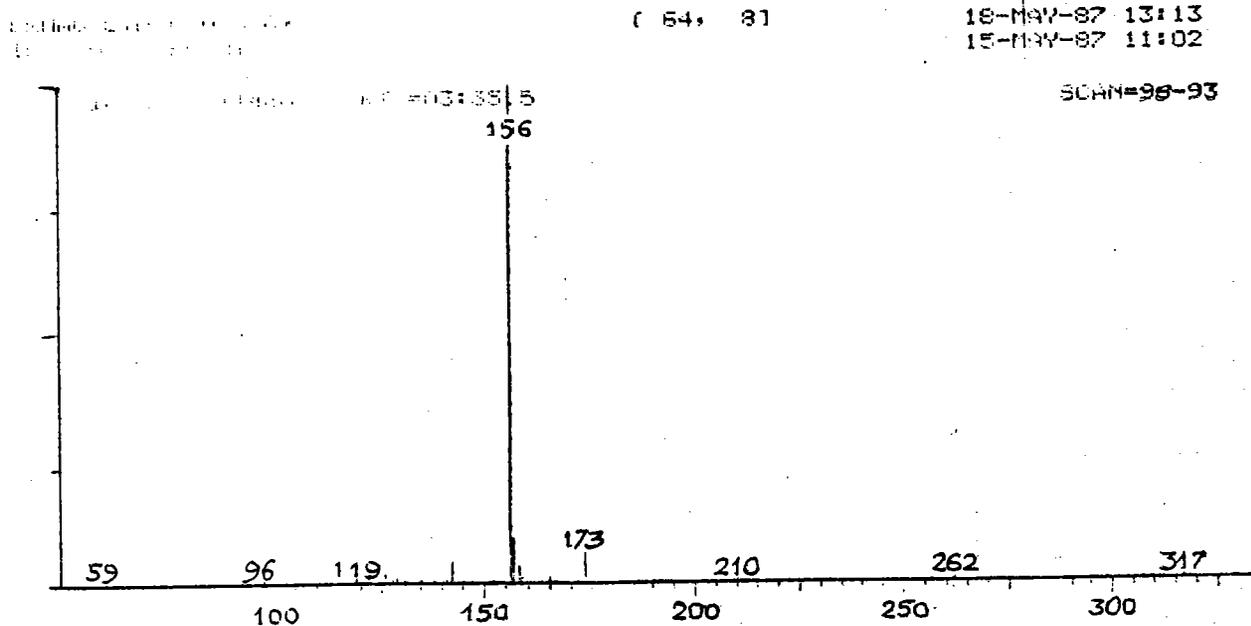


Figure 320 : Spectre de masse en ionisation chimique du probable aminoéthyl I - éthyl 2 - cyclohexane.

ion m/z = 156       $\longrightarrow$       pic M + I (M + H<sup>+</sup>)

ion m/z = 173       $\longrightarrow$       pic M + I8 (M + NH<sub>4</sub><sup>+</sup>)

Le composé 83 peut correspondre à la molécule dihydrocarbazole dione triméthyl silylée.

Son spectre de masse est représenté sur la figure 32I et sa formulation peut être la suivante :

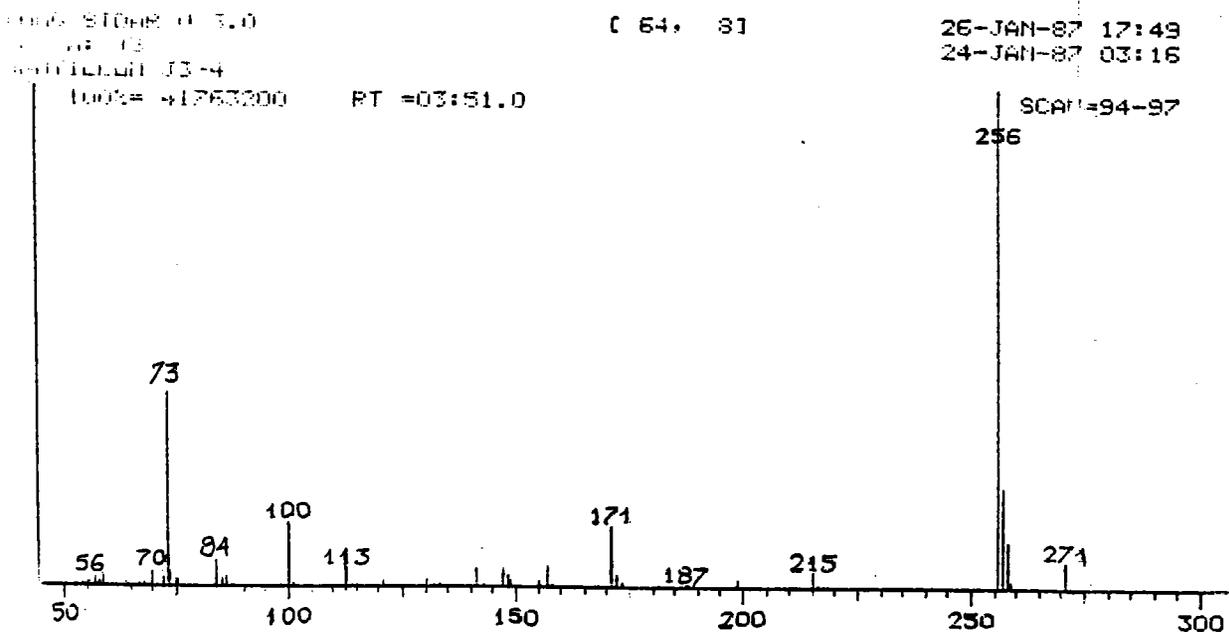
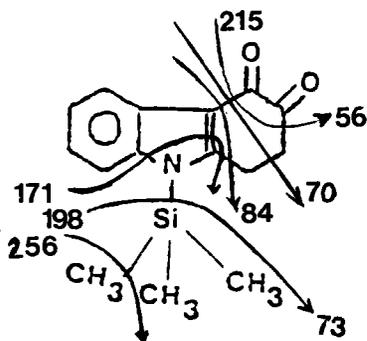


Figure 32I : Spectre de masse (70 eV ) d'une très probable molécule dihydrocarbazole dione triméthyl silylée.

Le poids moléculaire n'a pu être confirmé par ionisation chimique.

Le composé 85 correspond à un dérivé de l'indole comme le confirme l'ordinateur qui a comparé le spectre du produit avec ceux de six dérivés indoliques.

Son spectre de masse est représenté sur la figure 322, son poids moléculaire n'a pu être confirmé par ionisation chimique.

Sa formulation peut être la suivante :

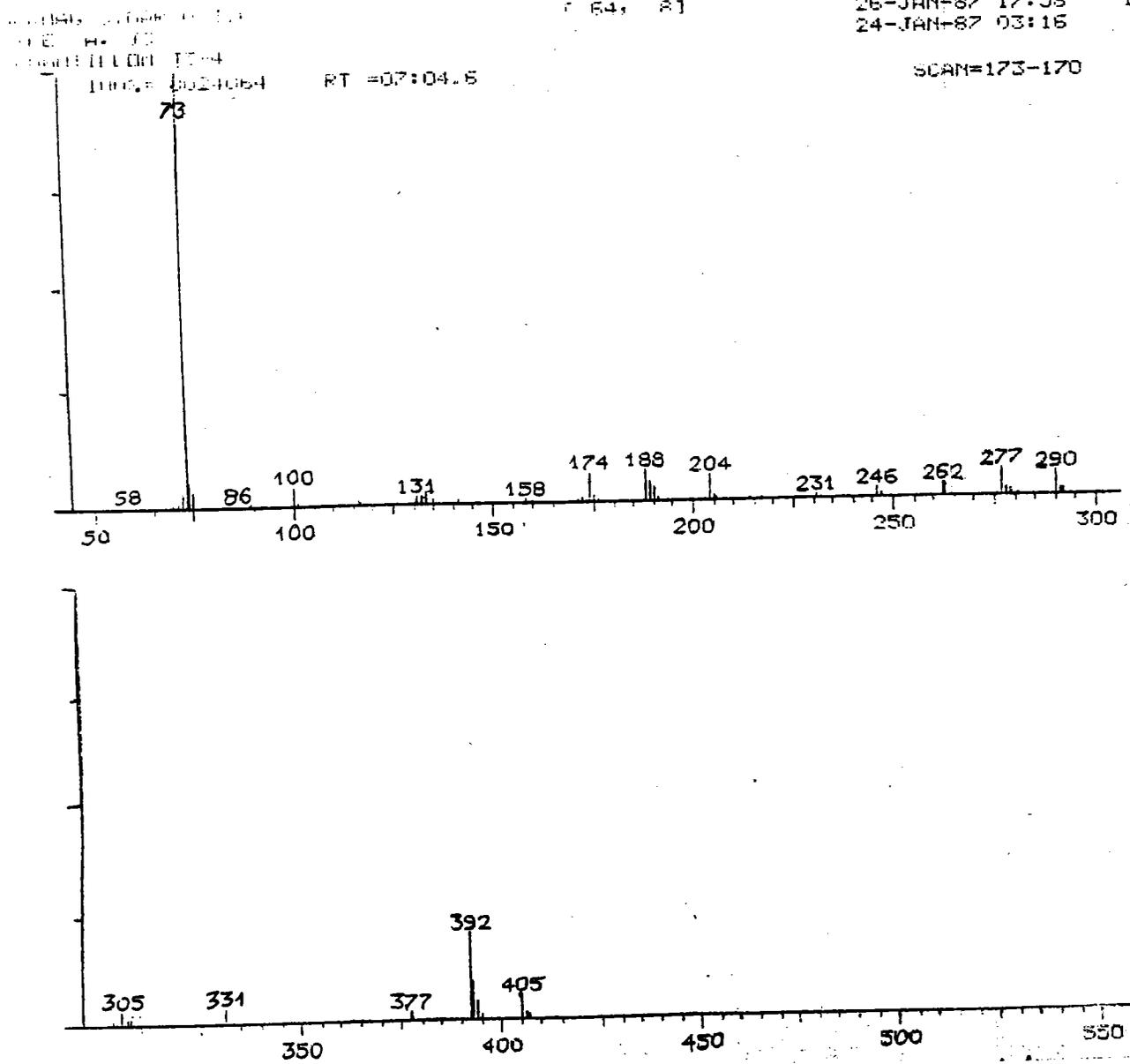
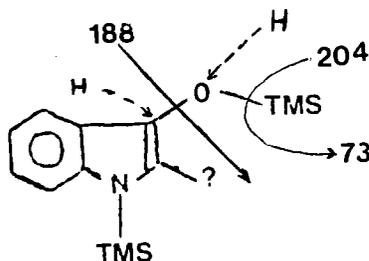


Figure 322 : Spectre de masse (70 eV) d'un probable dérivé de l'indole.

Le composé 96 correspond à la molécule d'indole silylée.

Le spectre de masse est représenté sur la figure 323 et comparé à celui de l'étalon Merck Art. 4730 (figure 324 ).

Les spectres sont semblables ainsi que les temps de rétention.

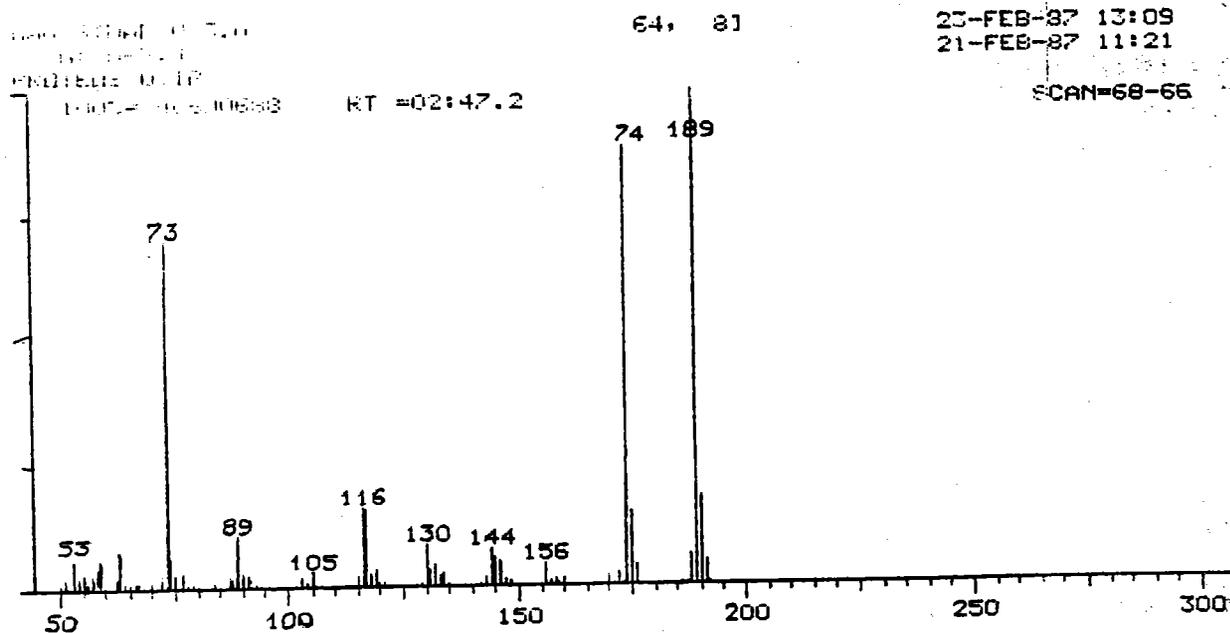


Figure 323 : Spectre de masse (70 eV) de l'indole dans les échantillons (RT = 2,47 mn).

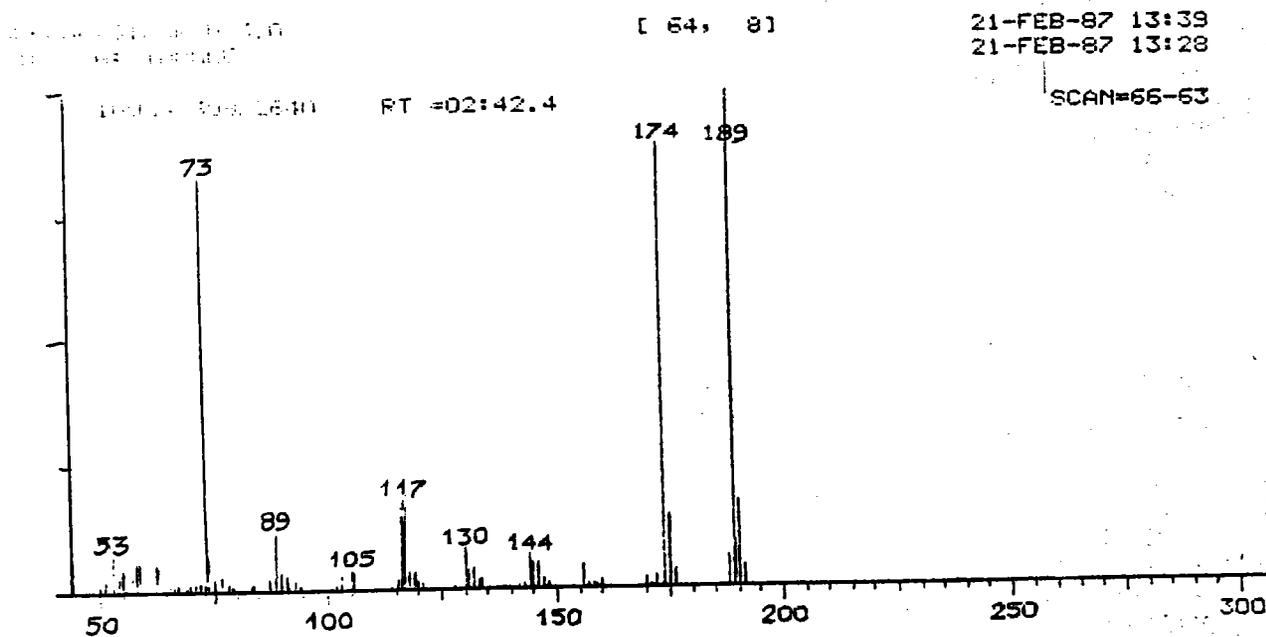


Figure 324 : Spectre de masse (70 eV) de l'étalon Merck (n° 4730) (RT = 2,42 mn).

Le pic moléculaire ( $m/z = 189$ ) a été confirmé par ionisation chimique (figure 325 ).

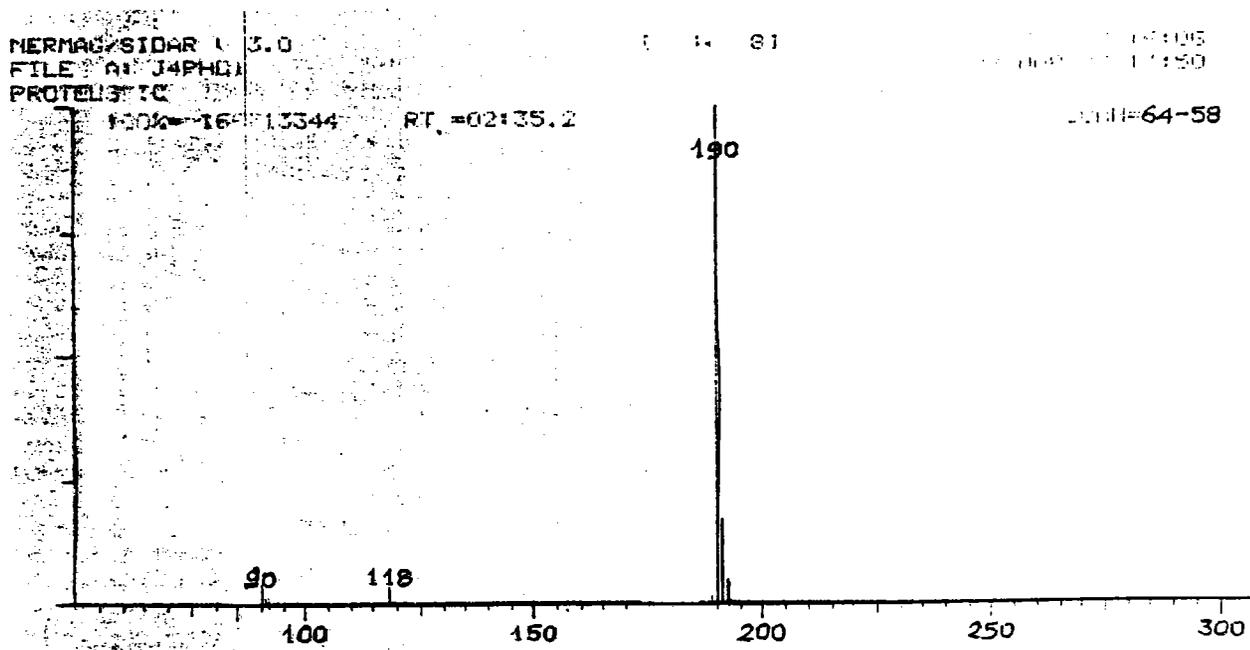


Figure 325 : Spectre de masse de l'indole en ionisation chimique.

Le composé 97 correspond à la molécule chloroindole silylée.

Le spectre de masse est représenté sur la figure 326 et son poids moléculaire est confirmé par ionisation chimique (figure 327 ).

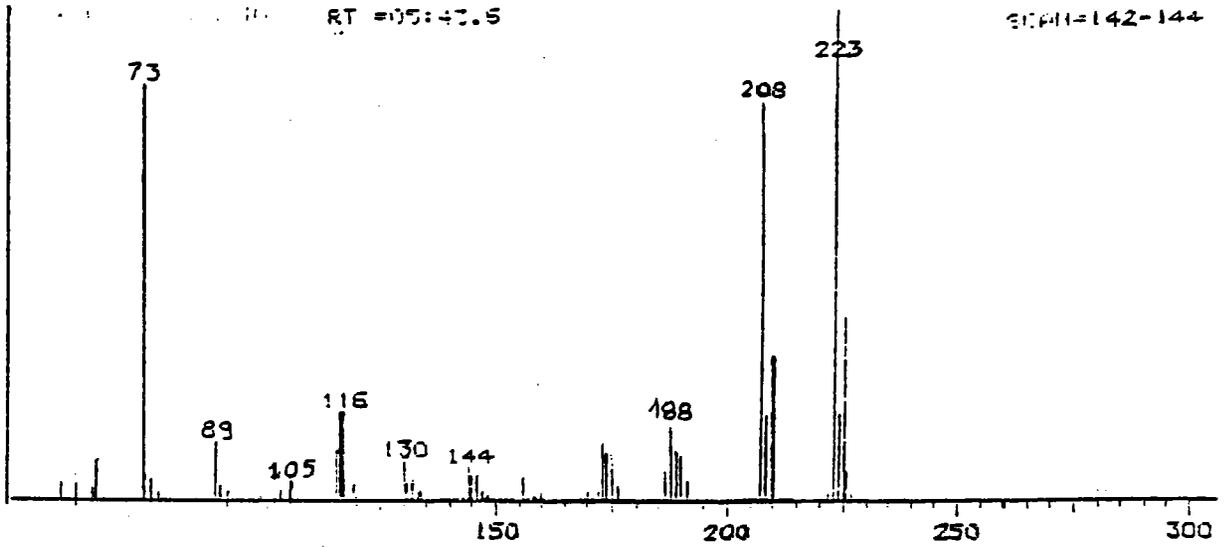


Figure 326 : Spectre de masse (70 eV) de la molécule chloroindole.

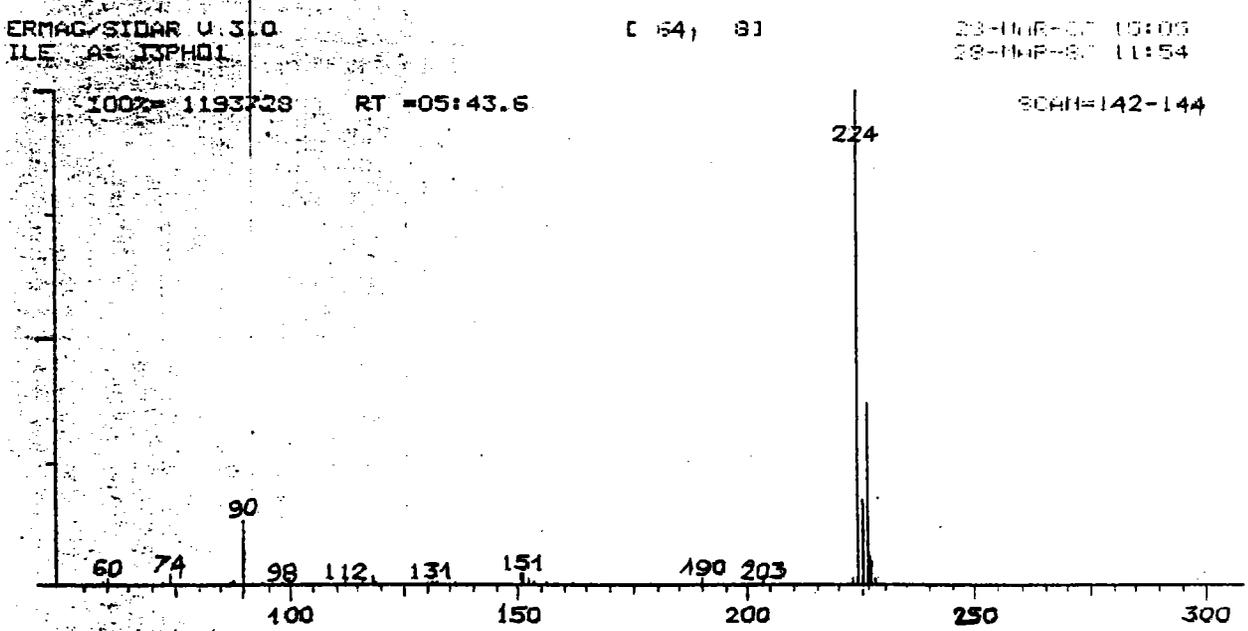
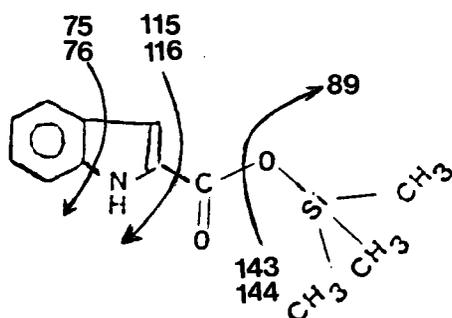


Figure 327 : Spectre de masse en ionisation chimique de chloroindole.

Le composé 98 correspond à la molécule acide carboxy - 2 indole mono-silylée sur le groupement carboxylique (figure 328 ).  
Son poids moléculaire a été confirmé par ionisation chimique ( $m/z=233$ ) (figure 329 ) et sa formulation est la suivante :



Les temps de rétention en chromatographie en phase gazeuse (cf. 3.7.9.4/) et en HPLC (cf. 3.7.9.5.I/) sont identiques à l'étalon (EGA - CHEMIE I - 510 - 9).

CRIDA SIDAR U 3.0  
FILE SA JZPH01  
7 FEBRUARY 1987

[ 64, 91

23-FEB-87 13:15  
21-FEB-87 11:21

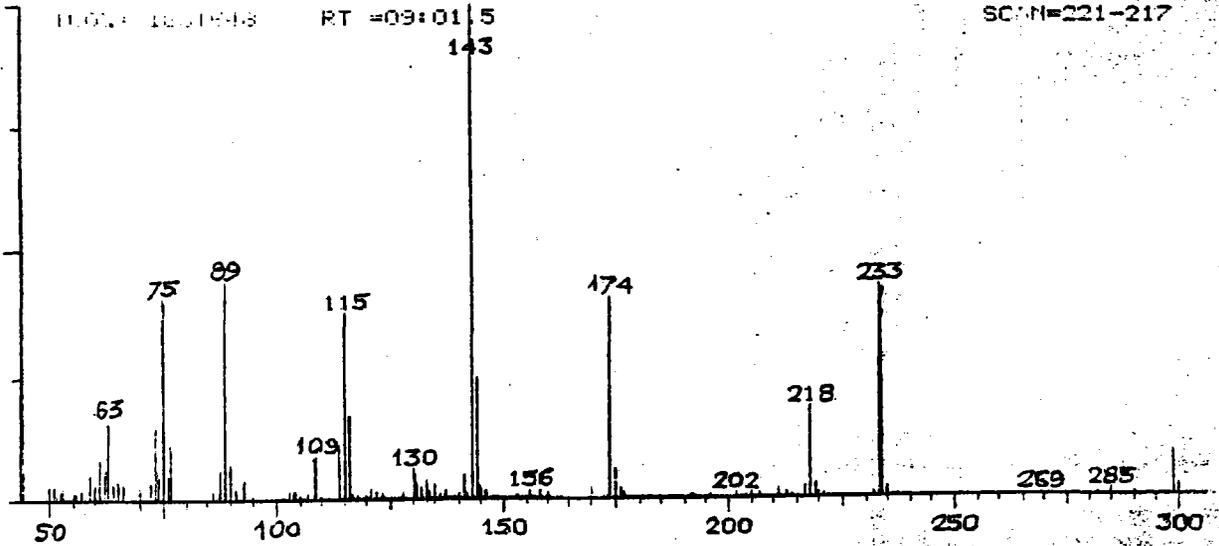


Figure 328 : Spectre de masse à 70 eV de l'acide indole carboxylique monosilylé.

NERMAG SIDAR U 3.0  
FILE SA JZPH01  
PROTEUS IC

[ 64, 91

21-FEB-87 13:06  
23-FEB-87 15:22

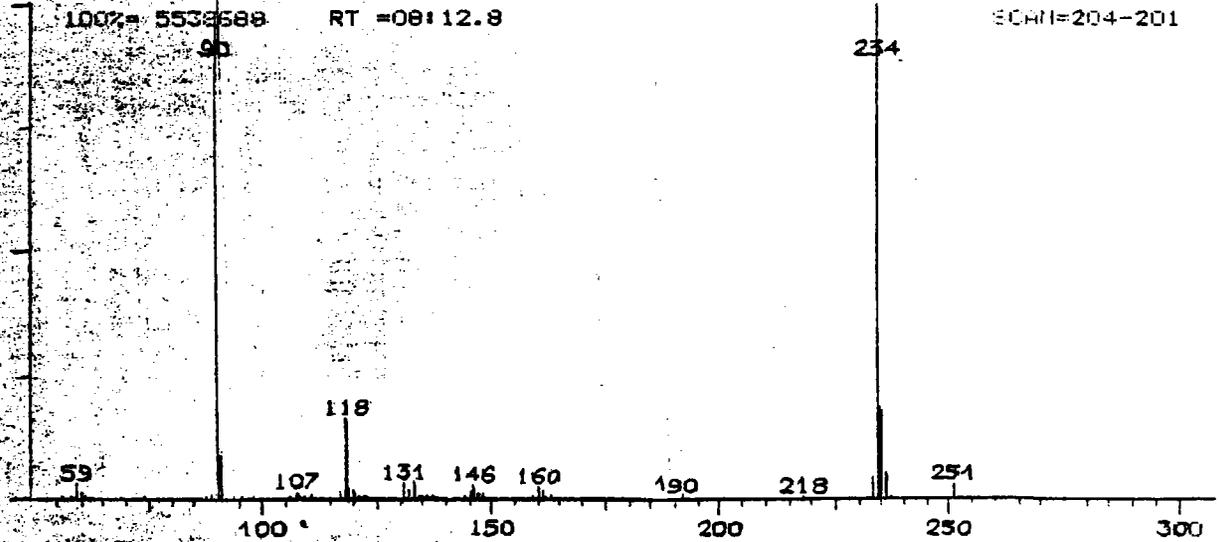
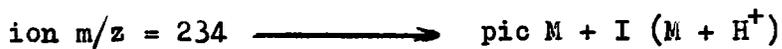


Figure 329 : Spectre de masse en ionisation chimique de l'acide indole carboxylique monosilylé.



Le composé IOI correspond à la molécule de catéchol silylée.

Le spectre de masse est représenté sur la figure 330 et comparé à celui de l'étalon catéchol Aldrich - Chemie (réf I3, 50I - I) (figure 33I ).

Les spectres sont semblables, ainsi que les temps de rétention.

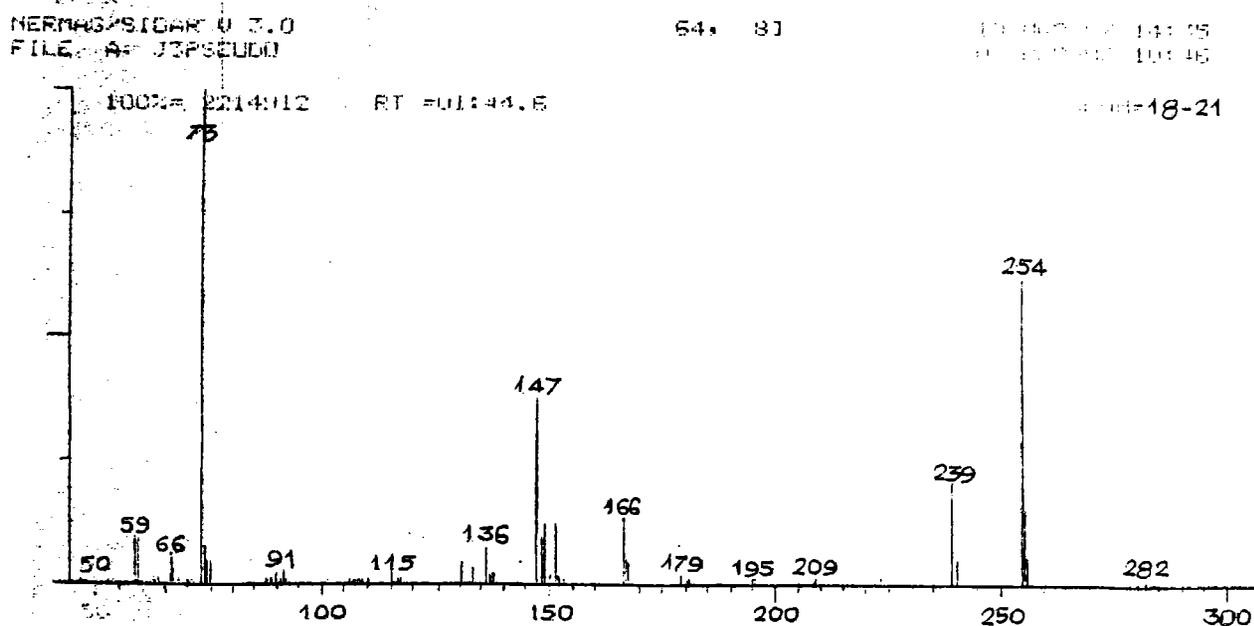


Figure 330 : Spectre de masse à 70 eV du catéchol dans les échantillons (RT = 1,44 mn).

PERMAG/SIDAR V 7.0  
FILE: A: ETALONS  
CATECHOL

01: 81

14 JUN 87 13:33  
14 JUN 87 13:20

SI-MH-43-39

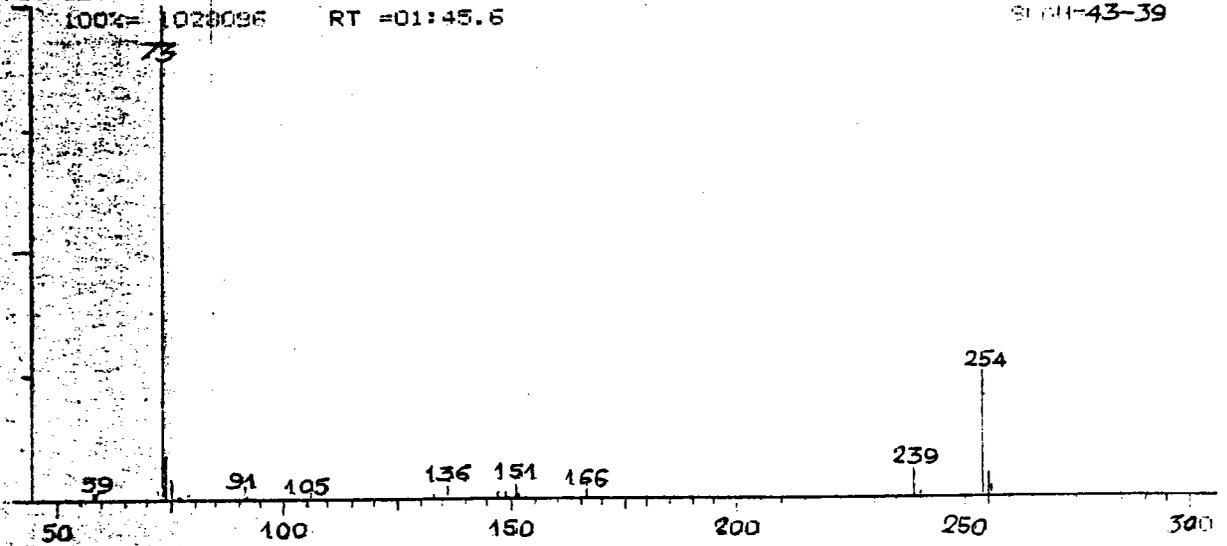


Figure 331 : Spectre de masse (70 eV) de l'étalon Aldrich -  
Chemie (n° I3, 50I - I).

Le pic moléculaire ( $m/z = 254$ ) a été confirmé par ionisation chimique à la fois sur les échantillons (figure 332 ) et sur le témoin (figure 333 ).

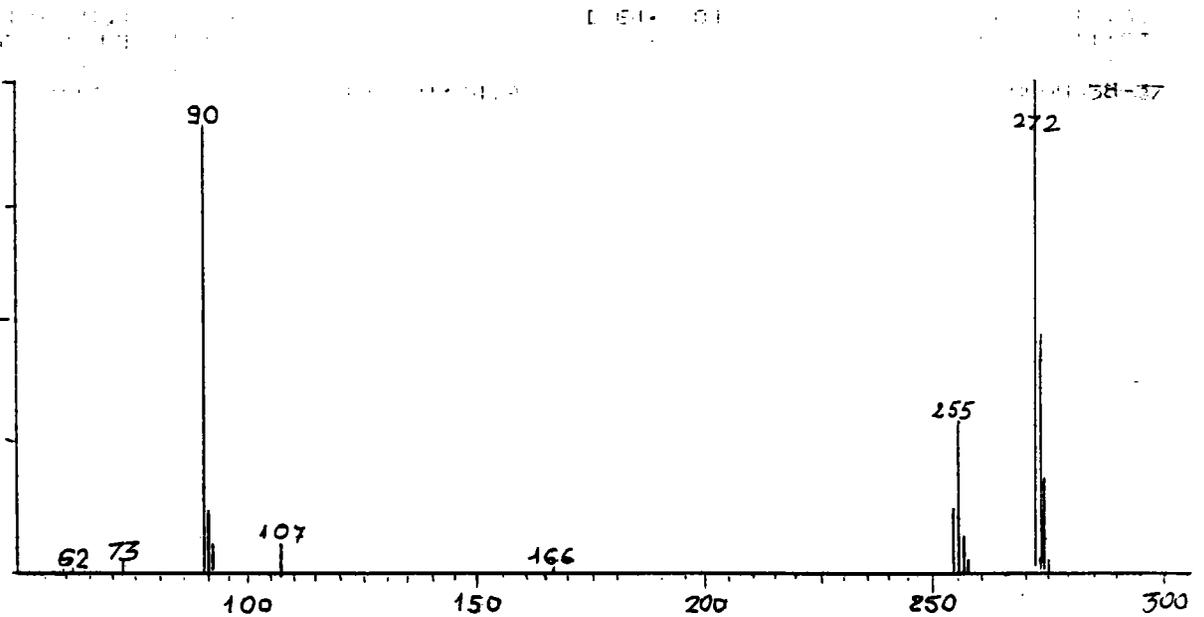


Figure 332 : Spectre de masse en ionisation chimique du catéchol  
dans les échantillons.

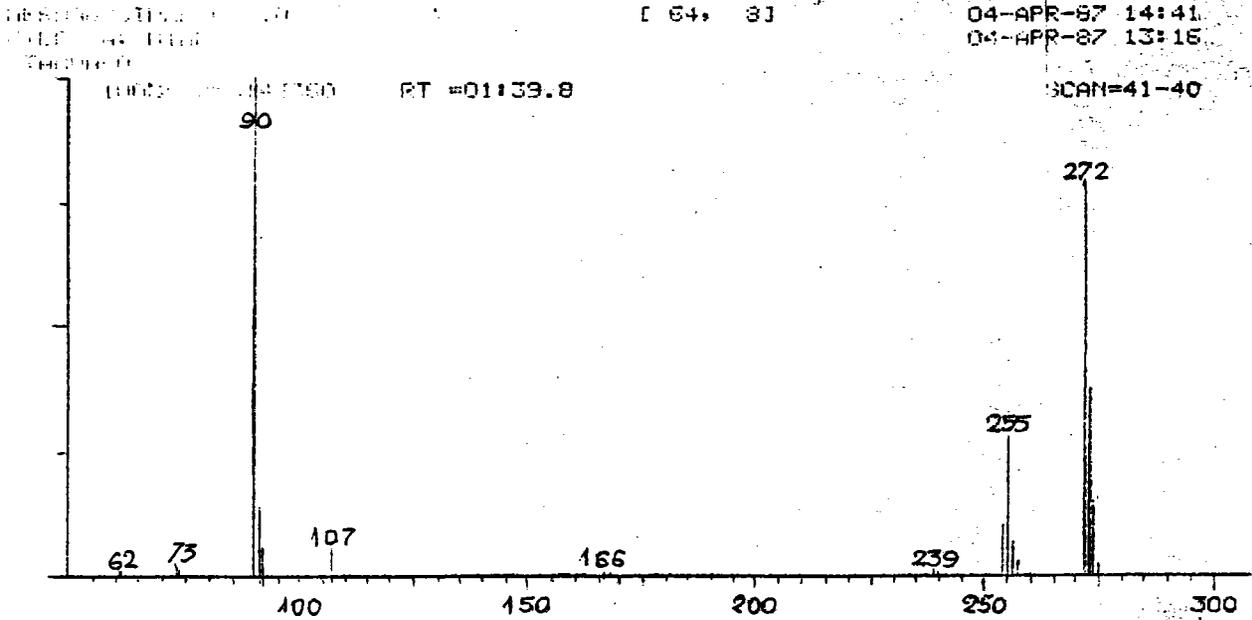


Figure 333 : Spectre de masse en ionisation chimique de l'étalon Aldrich - Chemie (n° I3, 50I - I).

pic  $m/z = 255$  correspond à  $M + I (M + H^+)$

pic  $m/z = 272$  correspond à  $M + I8 (M + NH_4^+)$

Le composé I02 correspond à l'isatine.

Le spectre de masse est représenté sur la figure 334 et est comparable à celui de l'étalon isatine Merck n° 3694 (figure 335 ).

La molécule relativement polaire, ne présente pas un beau pic chromatographique.

La colonne utilisée fait que l'isatine s'élimine de la colonne chromatographique pendant plusieurs minutes.

BERNHARD/SIDAK V 15.0  
FILE A: JEPSCLND

07-14-87

11-11-87 14:45

22

07-11-87 10:46

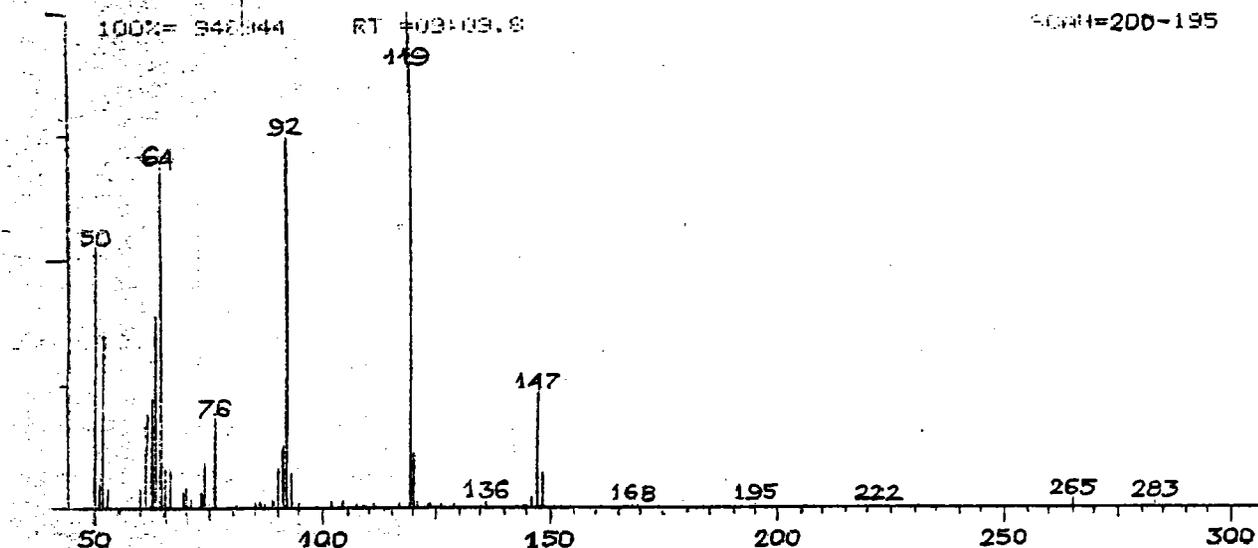


Figure 334 : Spectre de masse de l'isatine des échantillons (70eV )

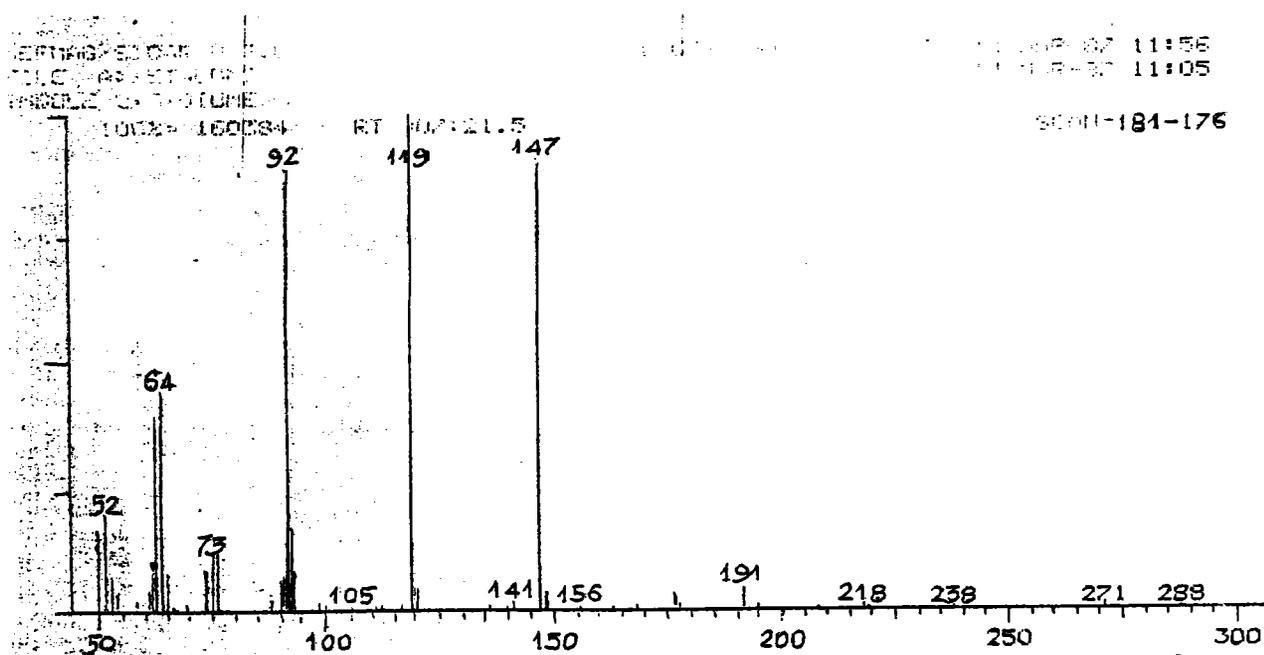


Figure 335 : Spectre de masse de l'isatine Merck (n° 3694) (70 eV )

Parallèlement, la molécule d'isatine triméthyl silylée a été retrouvée (figure 336 ) et son poids moléculaire ( $m/z = 219$ ) a été confirmé par ionisation chimique (figure 337 ).

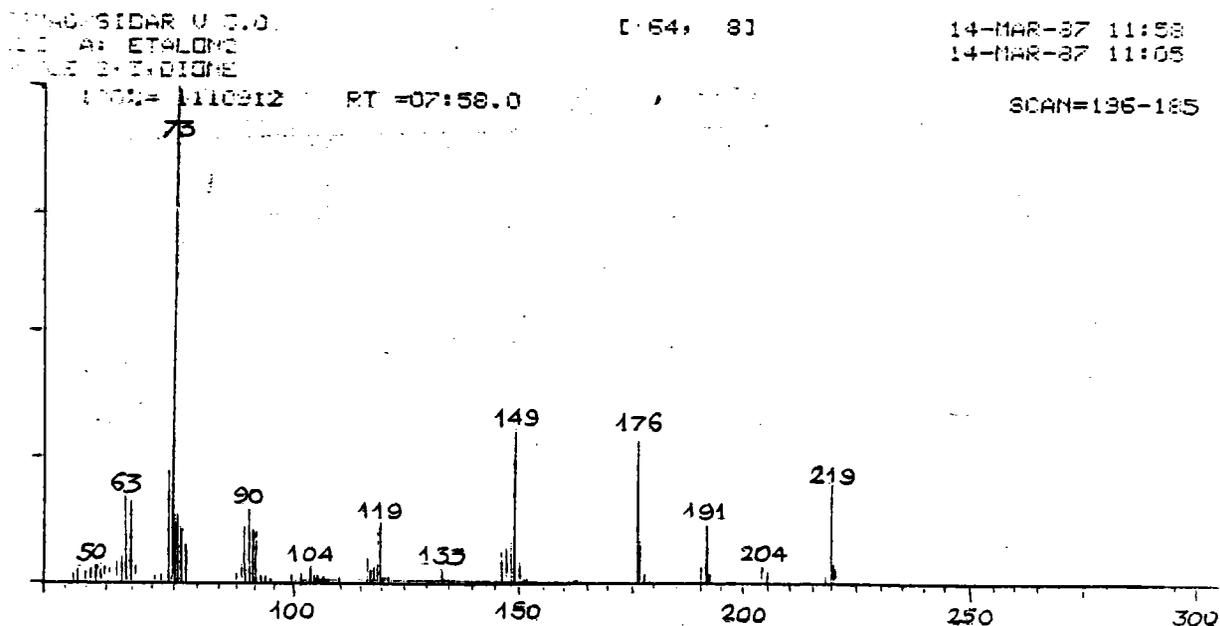


Figure 336 : Spectre de masse de la molécule Isatine triméthylsilylée (70 eV ).

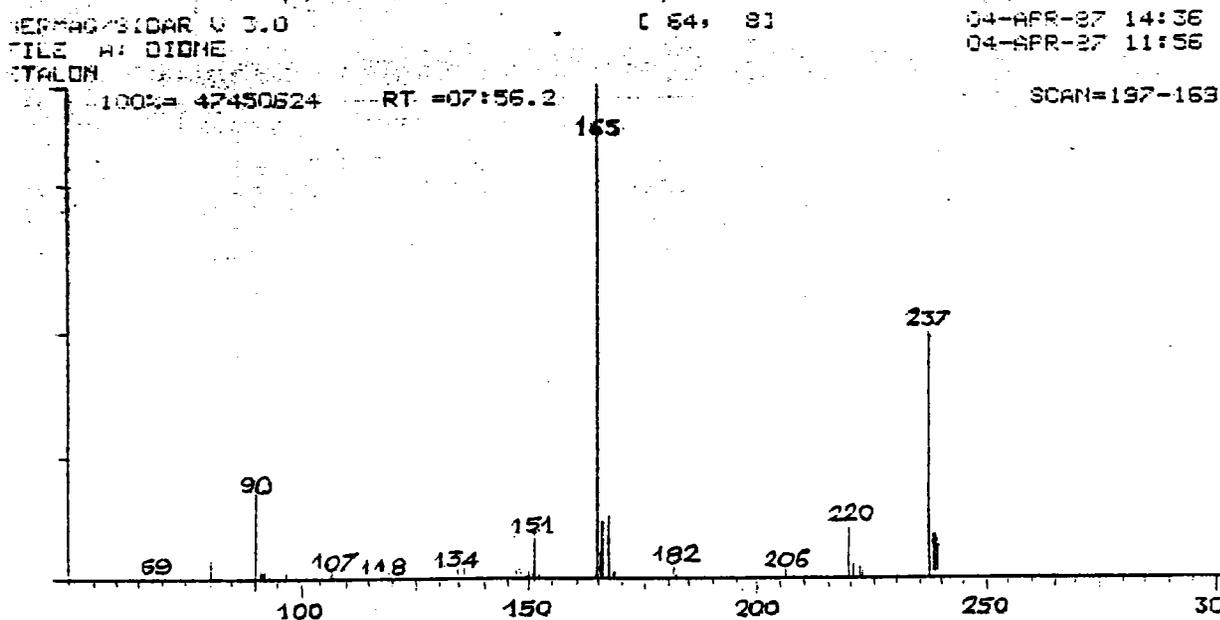


Figure 337 : Spectre de masse de l'isatine triméthyl silylée en ionisation chimique.

pic  $m/z = 220$  correspond à  $M + I (M + H^+)$

pic  $m/z = 237$  correspond à  $M + I8 (M + NH_4^+)$