

Détermination du Dinitrophenol et dérivés dans l'environnement et les aliments par la méthode spectrophotométrique

Zomi Claude LAGOBO^{1,2,3}, Véronique MAMBO¹, Bernard Ossey YAPO¹,
Valentin Pascal HOUENOU¹ et Gabi DROCHIOIU^{3*}

¹ Université Nangui Abrogoua, UFR-SGE, Laboratoire des Sciences de l'Environnement (LSE),
02 BP 801 Abidjan 02, Côte d'Ivoire

² Université Nangui Abrogoua, Institut de Recherche sur les Energies Nouvelles, 02 BP 801 Abidjan 02,
Côte d'Ivoire

³ Université Alexandru, Ioan Cuza de Iasi, Faculté de Chimie, Carol I no. 11, Iasi-700506, Roumanie

(Reçu le 19 Avril 2022 ; Accepté le 25 Juillet 2022)

* Correspondance, courriel : gabidr@uaic.ro

Résumé

Cette recherche propose une nouvelle méthode de détermination au spectrophotomètre du Dinitrophenol et de ses composés dérivés dans l'environnement et dans les aliments. Pour la mise au point de cette réaction, le resorcinol a été utilisé comme réactif en milieu acide sous de fortes chaleurs à pression atmosphérique. Les différentes formes de dinitrophenols réagissent avec le résorcinol en présence d'acide sulfurique concentré à une température élevée de 170°C pour donner des solutions colorées. Cette nouvelle méthode est proposée pour sa sensibilité, sa simplicité et sa rapidité dans la détermination de composés à base de dinitrophenol dans l'environnement et dans les aliments. La faisabilité de cette nouvelle méthode a été démontrée par la détermination spectrophotométrique du dinitro-o-crésol en utilisant le résorcinol comme réactif de détection. Les conditions optimales d'analyse ont été établies. La réaction a montré une réponse linéaire à 499 nm dans les gammes de mesure de $5,0 \times 10^{-6}$ à $5,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ du DNOC, et a présenté une limite de détection de $1,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹. La concentration molaire d'absorption a été déterminée à $1,02 \times 10^4$ mol⁻¹ cm⁻¹. Cette méthode est simple, rapide et a besoin de petites quantités de réactifs et d'échantillon. Elle pourrait être utilisée dans la détermination directe du Dinitrophenol et de ses dérivés dans l'eau polluée ou dans des échantillons solides. Les résultats de cette méthode sont confirmés par ceux obtenus avec la méthode de détermination par UV.

Mots-clés : *Dinitrophenols, résorcinol, environnement, détermination spectrophotométrique.*

Abstract

New spectrophotometric method for Dinitrophenol and its derivatives determination in the environment and food

This research proposes a new method for the spectrophotometric determination of Dinitrophenol and its derived compounds in the environment and in food. For the development of this reaction, resorcinol was used

as a reagent in an acid medium under high heat at atmospheric pressure. The different forms of dinitrophenols react with resorcinol in the presence of concentrated sulfuric acid at a high temperature of 170°C to give colored solutions. This new method is proposed for its sensitivity, simplicity and rapidity in the determination of dinitrophenol-based compounds in the environment and in food. The feasibility of this new method was demonstrated by the spectrophotometric determination of dinitro-*o*-cresol using resorcinol as detection reagent. Optimal analysis conditions have been established. The reaction showed a linear response at 499 nm in the measuring ranges from 5.0×10^{-6} to 5.0×10^{-5} mol L⁻¹ of DNOC, and had a detection limit of 1.0×10^{-6} mol L⁻¹. The molar absorptivity was calculated to be 1.02×10^4 mol⁻¹ cm⁻¹. The method is simple and rapid and consumes small amounts of reagent and sample. This method is simple, fast and requires small quantities of reagents and sample. It could be used in the direct determination of Dinitrophenol and its derivatives in polluted water or in solid samples. The results of this method are confirmed by those obtained with the UV determination method.

Keywords : *Dinitrophenols, résorcinol, environnement, spectrophotometric determination.*

1. Introduction

La contamination des denrées alimentaires par les déchets agricoles est une préoccupation croissante dans le monde entier [1]. Certains polluants environnementaux, tout comme le Dinitrophénol, sont solubles dans l'eau, toxiques et ne sont pas facilement biodégradables [1, 2]. Pour pallier au problème des terres contaminées et des eaux souterraines dans les sites de déversement de déchets, il est nécessaire d'avoir recours souvent aux méthodes simples, efficaces et rapides pour la détection de Dinitrophénol et autres résidus de pesticides du domaine [3, 4]. Les différentes formes de Dinitrophénol tels que 2,4-dinitrophénol (2,4-DNP), 2,4-dinitro-6-méthyle (DNOC), 2,4-dinitro-6-sec-butylphénol (Dinoseb) ont été identifiés dans les eaux de pluie par chromatographie en phase gazeuse en utilisant un détecteur à capture d'électrons, un détecteur sensible à l'azote et un détecteur à chimiluminescence (analyseur d'énergie thermique, par la combinaison de la chromatographie en phase gazeuse et de la spectrométrie de masse qui utilise à la fois l'impact d'électrons issus de l'ionisation chimique, par chromatographie liquide à haute performance, par l'utilisation d'un détecteur à photodiode [5, 6]). La phase solide d'extraction est une méthode de choix pour l'isolement du Dinitrophénol [7]. L'extraction basique par l'utilisation de soude (NaOH) des composés phénoliques du sol avec une forte teneur en matière organique suivie de leur concentration dans du polystyrène-divinylbenzène réticulé et l'analyse par HPLC-UV a également été proposée [8].

Cependant, la résine MIP-enduit de particules de silice a présenté à haute capacité d'adsorption, une excellente sélectivité et une accessibilité des sites pour le 2,4-DNP comme forme de Dinitrophénol [9, 10]. Il a été démontré que le 4,6-dinitro-ortho-crésol (DNOC), le 2-sec-butyl-4,6-dinitrophénol, (Dinoseb) et le 2-tert-butyl-4,6-dinitrophénol (Dinoterb) présentent des sensibilités plus élevées par détection électrochimique que par la méthode UV [11]. La détection de 2,4-DNP en utilisant la spectroscopie infrarouge à base de capteurs de Fourier a également été notifiée [12]. La détermination voltamétrique des traces de 2-méthyl-4,6-dinitrophénol a été réalisée avec une électrode en argent massif amalgame [13] et également par impulsion différentielle [14]. Une méthode de dosage du Dinitrophénol dans le sang a été élaborée [15]. Une fibre optique à double capteur chimique pour une détermination continue du 2,6-dinitrophénol (2,6-DNP) a été proposée dans le cadre d'une réaction chimique réversible entre le nouveau groupement fonctionnel polychloro-vinyl, comme matériel de détection et les électrolytes [16]. Un autre capteur à la quinine a été appliqué pour la détermination directe du 2,4-DNP synthétique dans l'eau [17]. Une méthode colorimétrique basée sur l'extraction d'ions Meisenheimer formés à partir de la réaction avec l'acide picrique et la soude aqueuse en méthyl isobutyl cétone avec un surfactant cationique tel que le bromure de cetylpyridinium est

connue. La modélisation partielle des moindres carrés a été utilisée pour la calibration multivariée des données spectrophotométriques afin d'éviter les interférences spectrales [18, 19]. La détermination simultanée spectrophotométrique de 2-sec-butyl-4,6-dinitrophénol (Dinoseb) et 2,6-dinitro-p-crésol a été réalisée avec les limites de détection respectives de 1,2 et 1,0 ng mL⁻¹ [20]. Les méthodes les plus couramment utilisées pour la détermination des dérivés de Dinitrophénol exigent une évaporation de l'extraction au solvant, puis d'une distillation à la vapeur, de l'extraction du distillat à l'évaporation et, enfin au développement de la couleur avec un réactif [21, 22]. Les mesures spectrophotométriques sont sensibles, simples et faciles à réaliser. Par conséquent, ce travail vise à présenter une méthode simple, sensible et rapide pour le dosage du Dinitrophénol et de ses dérivés dans l'environnement qui a l'avantage de pouvoir se réaliser *in situ*.

2. Matériel et méthodes

2-1. Appareillage

Un spectrophotomètre de marque Libbra S35 PC UV / VIS assorti de cellules de quartz de 1 cm a été utilisé pour les mesures spectrales. Les valeurs de pH ont été mesurées avec un pH-mètre microprocesseur HANNA PH 211. Quant au chauffage il a été réalisé dans un récipient à bain d'huile dans une gamme de 100 à 210 °C avec un agitateur magnétique AREX, quand cela a été nécessaire. Une centrifugeuse de marque 22 R Mikro a été utilisée pour la séparation des composés colorés en milieu acide.

2-2. Réactifs

Tous les produits chimiques sont des réactifs de qualité analytique et toutes les solutions ont été préparées avec l'eau de qualité milliQ ($R = 18,2 \Omega$). De l'acide sulfurique 98 %, du résorcinol (1,3-dihydroxybenzene), et du 2,4-dinitrophénol ont été achetés auprès de Merck. KOH et de NaOH ont été obtenus auprès de Lachema, Brno. Le 2,6-dinitrophénol, et l'acide 3,5-dinitrobenzoïque ont été obtenus auprès de SigmaAldrich (USA). Le 4,6-dinitro-o-crésol a été acheté chez Aldrich Chemical Co. (Milwaukee, WI) avec une pureté > 97 % et a été utilisé tel que reçu.

2-3. Procédure d'analyse

L'échantillon contenant les composés à base de Dinitrophénol est généralement extrait avec un mélange d'hexanes et purifié avec de l'acide sulfurique. Le solvant est extrait sous pression réduite, et le résidu du Dinitrophénol a été traité avec du résorcinol en présence d'acide sulfurique concentré. Cependant, comme ce travail ne visait que quelques aspects analytiques de la réaction entre les dinitrophénols et le résorcinol, nous avons utilisé des substances chimiques pures telles que le dinitro-o-crésol, 2,4-dinitrophénols, 2,6-dinitrophénol, et le Dinoseb. Pour caractériser la réaction chimique entre les Dinitrophénols et le résorcinol en présence d'acide sulfurique concentré, les résidus contenant $5 \cdot 10^{-4}$ moles de DNOC ou d'un autre Dinitrophénol sont intimement mélangés avec une quantité de $5 \cdot 10^{-4}$ à $1,5 \cdot 10^{-3}$ moles de résorcinol puis avec ajout de 1 mL d'acide sulfurique. Le mélange a été introduit dans un tube à essai et chauffé pendant 5 à 10 min de 100 °C à 210 °C dans un récipient à bain d'huile. Après chauffage, le mélange est refroidi à la température ambiante et traitée avec environ 25 mL d'eau distillée. Lorsque toute la vapeur a été dissipée, tous les contenus des éprouvettes sont portés dans des fioles de 1000 mL et traités avec une solution contenant soit 9,6 g de KOH soit 8 g de NaOH pour neutraliser l'acide sulfurique. Puis, nous avons complété au volume avec de l'eau distillée. La solution de couleur rouge a été diluée au dixième (1 : 10) selon les mesures spectrophotométriques. Chaque fois, un réactif de contrôle sans Dinitrophénol qui constitue le milieu

témoin est utilisé comme référence et traité dans les mêmes conditions. Dans une seconde phase d'analyse ou produits et réactifs sont en quantité limitée, des échantillons de 1 mL de solutions de Dinitrophénol contenant au maximum $5 \cdot 10^{-4}$ moles de DNOC ou de 2,4-dinitrophénol peuvent être pipetés et introduits dans des tubes à essai puis 1 mL de résorcinol pourrait être ajouté. Le mélange sera évaporé lentement jusqu'au tarissement et 1 mL d'acide sulfurique pourra être ajouté. Ensuite on laissera la réaction se développer à 170°C pendant 5 min. Les spectres UV-Vis ont été enregistrés dans la gamme de 190 nm à 700 nm. L'influence de la concentration du résorcinol et de la température sur la coloration de la réaction a été testée par la suite.

3. Résultats et discussion

3-1. Réaction du résorcinol avec le Dinitrophénol

La réaction entre le résorcinol et le Dinitrophénol est peu documentée jusqu'à ce jour dans la bibliographie scientifique. Par contre la réaction entre le Résorcinol et le nitrite à haute température a été approfondie [23]. Cependant, nous considérons qu'une réaction entre Dinitrophénol et résorcinol dans lequel un groupe de NO_2 pourrait être impliqué serait possible en présence d'acide sulfurique. C'est pourquoi des recherches plus approfondies sont recommandées pour caractériser cette réaction en chimie organique.

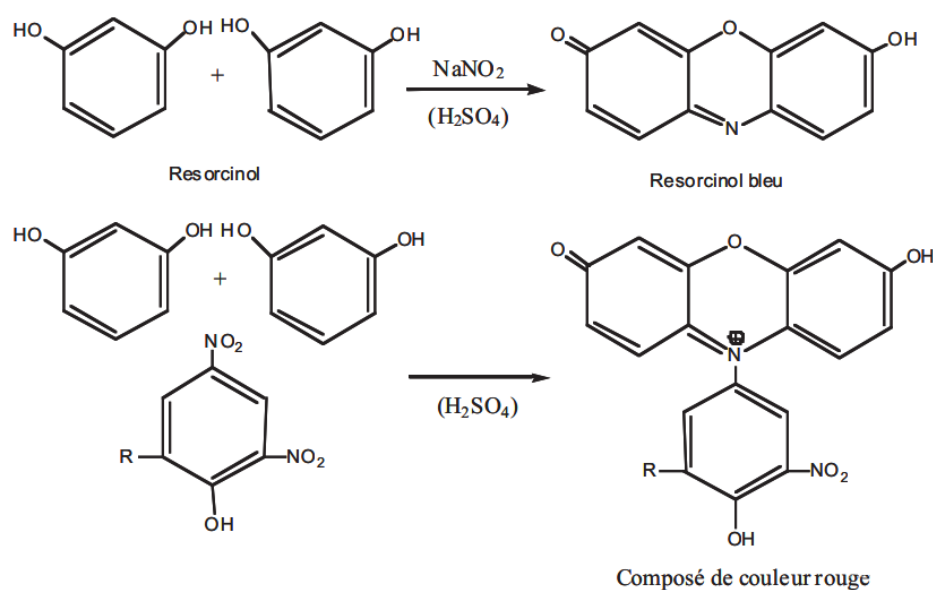


Figure 1 : Réaction possible entre résorcinol et les composés à base de Dinitrophénol

3-2. Caractéristiques du spectre

La plupart des réactions de coloration sont actuellement faites à température ambiante ou à 100°C pour déterminer la concentration d'un composé donné. Nous proposons ici une réaction analytique qui se produit au-delà de 100°C en présence de l'acide sulfurique concentré. Cette méthode proposée est simple, sensible, et sélective. Elle est intéressante pour la détermination de composés à base de Dinitrophénols dans les échantillons solides ou liquides et même de leur identification rapide dans l'environnement et dans les aliments tels que les poissons et autres espèces aquatiques. De manière spécifique, le résorcinol traité seul avec de l'acide sulfurique à 170°C ne présente aucune absorbance significative au-delà de 340 nm dans le spectre visible des UV (Figure 2).

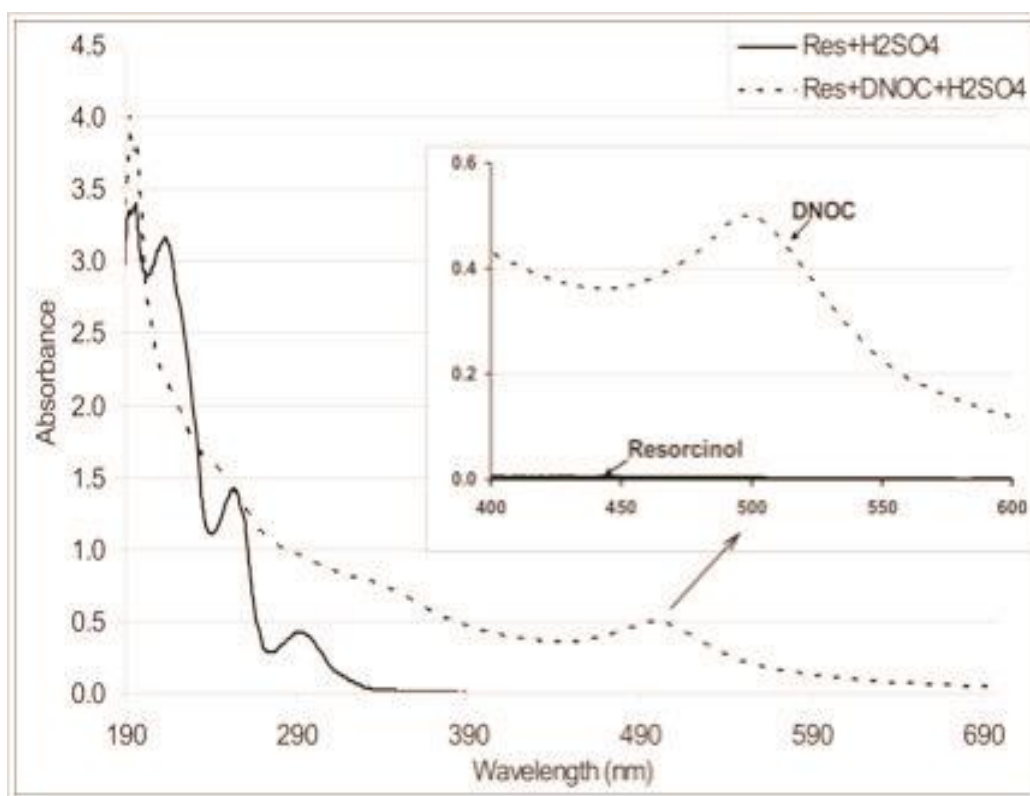


Figure 2 : Courbe du Résorcinol et du DNOC traité avec le résorcinol en UV visible

Cependant en traitant le résorcinol en présence du DNOC, le spectre a changé complètement et un maximum d'absorption à 499 nm a été observé. La réaction met seulement 5 min pour atteindre son maximum UV avec une coloration rouge très intense. Ainsi les composés à base de Dinitrophénols pourraient facilement être identifiés sur le terrain avec un spectrophotomètre de poche. De plus, la température de réaction pourrait être maintenue dans une large gamme comprise de 120°C à 210°C ; si le maximum d'absorption n'est pas nécessaire pour la détection de dérivés à base de Dinitrophénols. De plus, pour une détermination précise de la concentration de Dinitrophénol en solution, une température de 170°C pendant 5 min est recommandée. Mais l'identification de composés à base de Dinitrophénols pourrait être possible par simple chauffage de son mélange avec du résorcinol et de l'acide sulfurique concentré. Les nitrates et les nitrites n'ont aucune interférence sur la détermination des composés colorés libérés qui absorbent à différentes longueurs d'onde.

3-3. Dimension dynamique linéaire et limite de détection de la réaction

On observe que l'absorption à 499 nm est proportionnelle à la concentration de DNOC au-delà de 5×10^{-6} jusqu'à $5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ comme calculé à partir de la quantité initiale de DNOC (99 mg, 5×10^{-4} moles) utilisée et de la dilution à 10.000 mL (**Figure 3**). Une courbe d'étalonnage a été établie en utilisant des concentrations de DNOC et les valeurs d'absorption enregistrées à la **Figure 4**. On a enregistré un très grand coefficient de corrélation de 0,999 et une équation de régression $\text{Abs} = 0,1016 \cdot C_{\text{DNOC}}$ a été calculée dans laquelle Abs est la valeur d'absorption et C_{DNOC} la concentration de DNOC dans une gamme de 10^5 M . A partir de ces constatations nous avons calculé une absorption molaire de $1,02 \cdot 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ avec une limite de détection de $1,0 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (**Figure 4**).

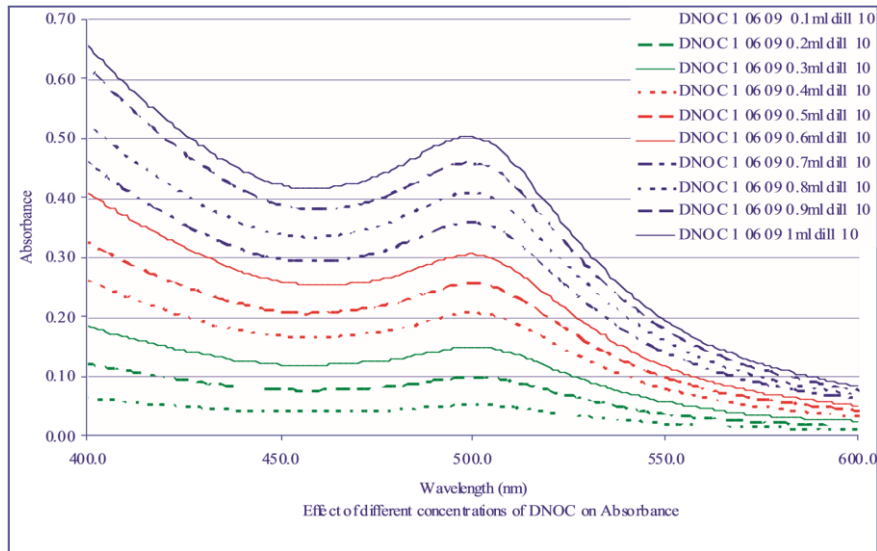


Figure 3 : *Effet de différentes concentrations de DNOC sur l'absorbance de la solution colorée*

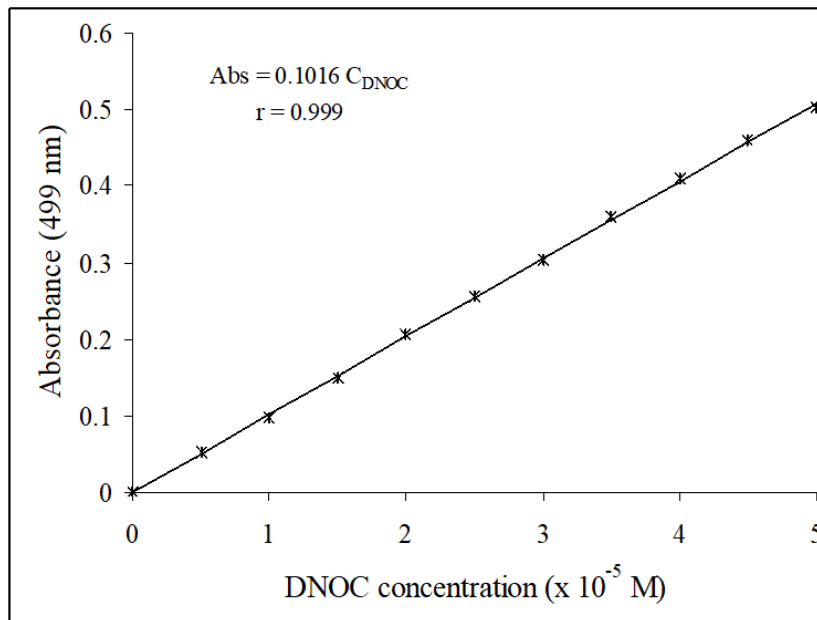


Figure 4 : *Courbe d'étalonnage présentant la relation entre la concentration de DNOC et l'absorbance à 499 nm*

3-4. Effet de la concentration du résorcinol

Lorsqu'on utilise différentes concentrations de résorcinol, nous obtenons différents spectres d'absorption en UV visible dans des solutions colorées (**Figure 5**). Cette figure montre que l'augmentation de la proportion du résorcinol dans un ratio DNOC/Résorcinol semble compliquer la réaction. Ainsi, la plus haute absorbance a été atteinte dans le cas du ratio 2 : 1 du résorcinol et du DNOC, alors que la forme des absorbances est restée identique dans le cas où le résorcinol est présent à faible proportion par rapport au résorcinol non réactifs, pareillement aux absorbances en DNOC (pour les ratios molaires 1 : 1 et 0,5 : 1, dessous de 350 nm. Ainsi, la forme d'absorption UV du respectivement). En outre, un grand excès de résorcinol, comme dans le cas du ratio molaire 3 : 1 résorcinol / résorcinol à la **Figure 5** est semblable à celle du DNOC DNOC, a abouti à un grand nombre de molécules de traité avec le résorcinol dans les proportions 1 : 3.

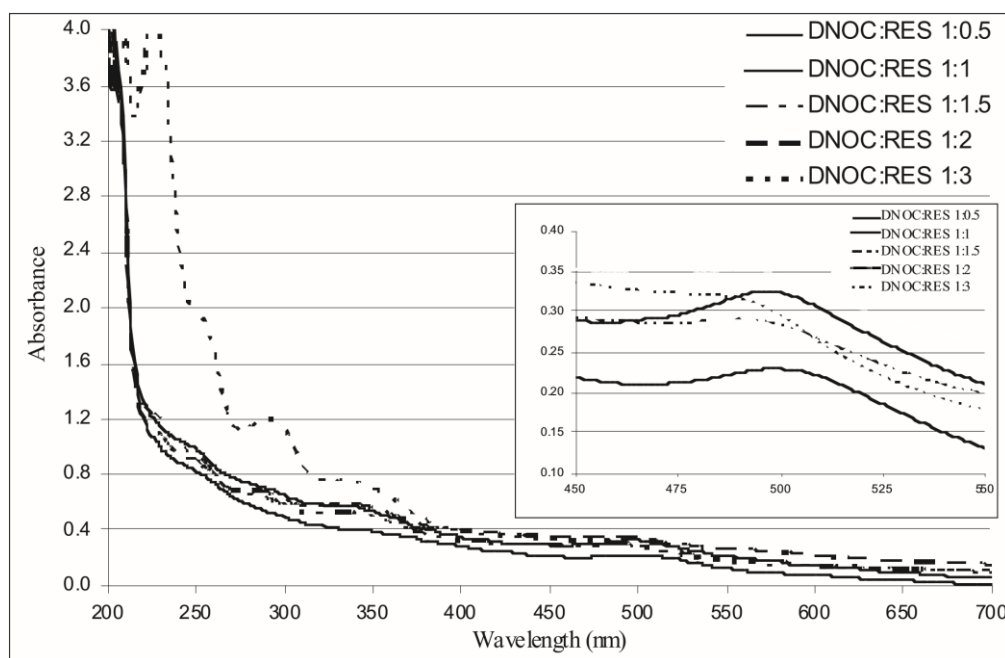


Figure 5 : Effet de différents ratios de concentrations molaires de DNOC : Résorcinol sur les absorbances des solutions colorées obtenues

3-5. Effet du pH

En raison de la forte incidence de retrait d'électrons de l'atome d'azote chargé positivement, les protons du groupe hydroxyde HO peuvent être facilement libérés dans des conditions alcalines. Par conséquent, l'absorption maximale qui est à une longueur d'onde de 440 nm à pH 4 se voit décaler à 499 nm à pH 10,0 dans l'évolution de la réaction. Cependant l'intensité de l'absorbance à 499 nm est plus élevée par rapport à celle en milieu acide (Figure 6).

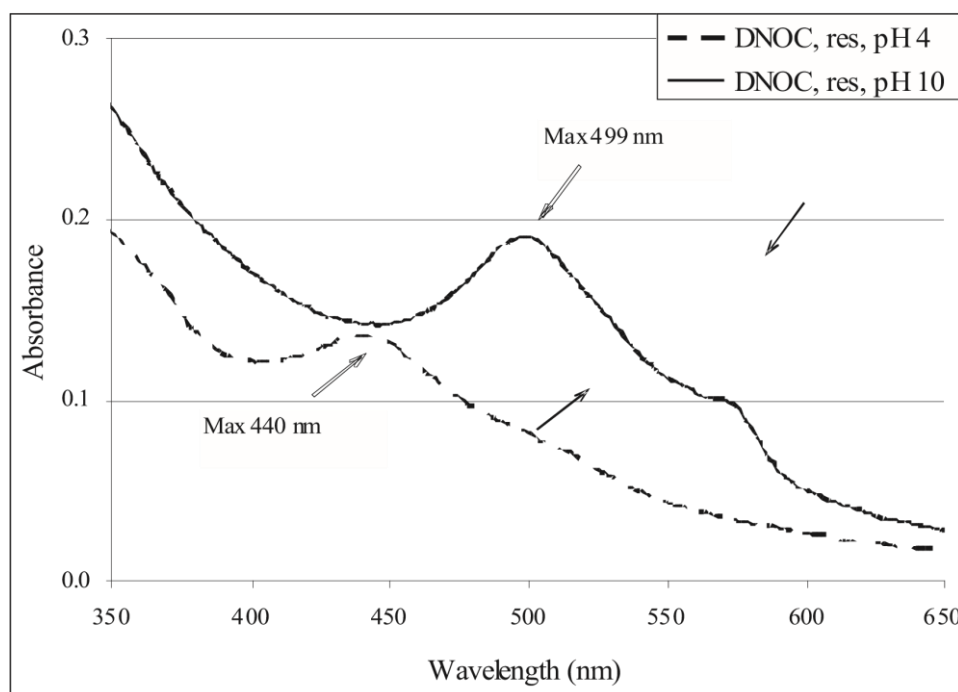


Figure 6 : Effet du pH sur l'absorbance du composé obtenu dans la réaction du résorcinol (res) avec le DNOC

3-6. Effet du temps de chauffage

Un chauffage à 170°C pendant 5 min suffit pour obtenir le maximum d'absorbance de la solution colorée. De plus un chauffage continu n'a plus d'effet sur la coloration de la réaction. En outre, les composés colorés se sont révélés stables même au-delà de 210°C données non présentées ici.

3-7. Comparaison avec la méthode conventionnelle de détermination du Dinitrophénol

Nous avons comparé l'absorbance de la solution de réaction (de couleur rouge) à la longueur d'onde de 499 nm avec l'absorbance UV du Dinitrophénol correspondant à 370 nm. Nous avons trouvé une absorbance beaucoup plus élevée dans le spectre visible par rapport à l'UV. Par conséquent, la réaction du résorcinol avec les composés à base de Dinitrophénols confirme qu'elle a un double avantage : une absorption molaire élevée et une détermination dans l'UV et le visible. Les dérivés de Dinitrophénol ne disposant d'aucun antidote en cas d'empoisonnement et que leur mécanisme de toxicité est moins bien encore compris [24], différentes méthodes de détection et de détermination ont été proposées [25]. Certaines d'entre elles sont basées sur l'extraction à l'acétone, et purifiées par adsorption dans une colonne remplie de gel de silice suivie de réactions chromogéniques, d'UV et de mesures chromatographiques dans le visible et à haute pression en couche mince [2, 26]. Les méthodes ci-proposées ont de grands avantages en raison de leur simplicité, leur sensibilité et la faisabilité des mesures *in situ*. En plus, un équipement sophistiqué et coûteux n'est pas nécessaire.

4. Conclusion

Cette étude a permis de mettre en évidence les composés à base de Dinitrophénol dans l'environnement par la méthode spectrophotométrique. En effet, les composés à base de Dinitrophénols pourraient être identifiés et déterminés par simple chauffage à 170°C avec du résorcinol et de l'acide sulfurique pendant 5 min. Les conditions optimales d'analyse ont été établies ; ainsi, la réaction montre des réponses linéaires à une longueur d'onde de 499 nm dans les gammes de mesure de $5,0 \cdot 10^{-6}$ à 10^{-5} mol L⁻¹ de DNOC, et avec une limite de détection de $1,0 \cdot 10^{-6}$ mol L⁻¹. La méthode pourrait être appliquée dans la détermination directe des pesticides à base de Dinitrophénols dans des échantillons d'eau polluée ou dans les échantillons solides tels que les espèces aquatiques en particulier les organes de poissons après digestion dans de mélanges d'hexanes et d'acides sulfurique concentrés. Cette méthode de détermination spectrophotométrique de DNOC concorde avec ceux obtenus par UV autour de 370 nm.

Remerciements

Nous remercions vivement MEEdCT-ANCS Bucarest, projet CNMP 2746/2007 (31-017/2007). Z. C. LAGOBO remercie le Programme "Eugen Ionescu" de l'Etat de Roumanie et l'AUF, Bucarest.

Références

- [1] - J. C. PANISSET, E. DEWAILLY et H. DOUCET-LEDUC, *EDISEM*, (2003) 369 - 395 p.
- [2] - E. TODIRASCU-CIORNEA, G. DROCHIOIU, R. STEFANESCU, E. V. AXINTE et G. DUMITRU, *J. BRAZ. ARCH. BIOL AND TECHN*, Vol. 59, (2016) 11 p.
- [3] - S. SHUKLA, D. KENNETH et B. CHIKKAVEERIAH, *J. of Hazardous Mater*, 164 (2009) 310 - 314
- [4] - L. LIU, S. BINGQING, R. DING and Y. MAO, *J. Phys. Chem. Anal*, 126, 2 (2022) 230 - 238 p.
- [5] - A. UZER, E. ERCA et R. APAK, *Anal. Chim. Acta*, 505 (2004) 83 - 93
- [6] - M. ZAHARIA, A. BORHAN, D. GHERCA, A. PUI, R. GRADINARU, G. ZBANCIOC and G. DROCHIOIU, *Eur. J. Mass Spectrom*, 20 (2014) 193 - 197
- [7] - M. ALBER, H. B. BOHM, J. BRODESSER, J. FELTES, K. LEVSEN et H. F. SCHOLER, *Fres. J. Anal. Chem.*, 334 (1989) 540 - 545
- [8] - M. KLADI, M. DASSENAKIS, M. SCOULLOS et N. PSAROUDAKIS, *Fres. Environ. Bull.*, 15 (2006) 1003 - 1008
- [9] - G. SIRVENT, J. M. SANCHEZ, M. HIDALGO et V. SALVADO, *matter. Int. J. Environ. Anal. Chem.*, 89 (2009) 293 - 304
- [10] - NAZIR, A. IFTIKHAR, M. IQBAL, K. NAUMAN, F. MEHBOOB, A. KARAM and M. A. GHULAM, *Pak. J. Agri. Sci.*, Vol. 52, (1) (2015) 219 - 231
- [11] - W. LUO, L. ZHU, C. YU, H. TANG, H. YU, X. LI and X. ZHANG, *Anal. Chim. Acta*, 618 (2008) 147 - 156
- [12] - S. YAO, A. MEYER et G. HENZE, *Fres. J. Anal. Chem.*, 339 (1991) 207 - 211
- [13] - E. GOSSELIN, M. GOREZ, M. VOUE, O. DENIS, J. CONTI, N. POPOVIC, A. VAN CAUWENBERGE, E. NOEL et J. DE CONINCK, *Biosens. Bioelectron.*, 24 (2009) 2554 - 2558
- [14] - J. FISCHER, J. BAREK, B. YOSYPCHUK et T. NAVRÁTIL, *Electroanalysis*, 18 (2005) 127 - 130
- [15] - Y. NI, L. WANG et S. KOKOT, *Anal. Chim. Acta*, 431 (2001) 101 - 113
- [16] - J. WANNLUND et M. DELUCA, *Anal. Biochem.*, 122 (1982) 385 - 393
- [17] - X. WANG, H. ZENG, L. ZHAO et J. M. LIN, *Talanta*, 70 (2006) 160 - 168
- [18] - R. H. YANG, K. M. WANG, D. XIAO, K. LUO et X. H. YANG. *Analyst*, 125 (2000) 877 - 882
- [19] - VAISHALI SAINI, AMAN GUPTA, KRISHNAN RANGAN, BHARTIKHUNGAR, *Dyes and Pig., Elsev.*, Vol. 180, (2020) 6 p.
- [20] - A. NIAZI and A. YAZDANIPOUR, Elsevier, Short communication, (2007) 109 - 113 p.
- [21] - J. A. ARANCIBIA, G. M. DELFA, C. E. BOSCHETTI, G. M. ESCANDAR et A. C. OLIVIERI, *Anal. Chim. Acta*, 553 (2005) 141 - 147
- [22] - X. ZHOU, C. LAI, D. HUANG, G. ZENG, L. CHENC, L. QIN, P. XU, M. CHENG, C. HUANG, C. ZHANG et C. ZHOU, *J. Haz. Mat.*, Vol. 346, 15 (2018) 113 - 123 p.
- [23] - E. MACUTKIEWICZ, M. ROMPA et B. ZYGMUNT, *Crit. Rev. Anal. Chem.*, 33 (2003) 1 - 17 p.
- [24] - M. C. TRAUB et C. HOCK, *Ueber ein Lakmoid, Ber.*, 17 (1884) 2615 - 2617
- [25] - C. A. DUMITRAS-HUTANU, A. PUI, S. JURCOANE, E. RUSU et G. DROCHIOIU, ROUM, *Biotechnol. Lett.*, Vol. 14, N° 6 (2009) 4893 - 4899 p.
- [26] - M. R. VIANT, C. A. PINCETICH, D. E. HINTON et R. S. TJEERDEMA, *Aquat. Toxicol.*, 76 (2006) 329 - 342 p.
- [27] - V. K. SHORMANOV et I. A. FURSOVA, (2009) *Sud Med Ekspert*, 39 (3) 40 - 4. *Chem.*, 89 (1996) 293 - 304