

Zeitschrift: Archives des sciences [1948-1980]
Herausgeber: Société de Physique et d'Histoire Naturelle de Genève
Band: 18 (1965)
Heft: 2

Artikel: Nouveau aspects de micro-méthodes pour la détermination des structures en chimie organique
Autor: Baudet, Pierre / Otten, Claude / Eder, Kurt
DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-739193>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. [Mehr erfahren](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. [En savoir plus](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. [Find out more](#)

Download PDF: 30.06.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

NOUVEAUX ASPECTS DE MICRO-MÉTHODES POUR LA DÉTERMINATION DES STRUCTURES EN CHIMIE ORGANIQUE

PAR

Pierre BAUDET, Claude OTTEN et Kurt EDER

Les produits naturels à l'état pur, dont on se propose d'établir la constitution, ne sont souvent disponibles qu'en faible quantité. Pour obtenir les informations désirées, des méthodes d'analyse de structure doivent être proposées qui consomment peu de substance. Plusieurs méthodes spectrophotométriques répondent à ce critère: l'absorptiométrie ultra-violette ne réclame souvent que des quantités de l'ordre de 0,05 à 0,1 μ mole. Le spectrographe de masse n'a besoin que de 0,1 à 10 μ moles d'échantillon. Récemment nous avons développé plusieurs méthodes de microspectrophotométrie infra-rouge [1] qui à partir de 0,01 à 0,1 μ mole permettent d'obtenir des spectres d'excellente qualité. Parmi ces méthodes physiques, seule la spectrographie de résonance magnétique nucléaire exige encore des quantités de produits supérieures à 10 μ moles.

L'utilisation de la spectrophotométrie permet une analyse souvent très poussée de la constitution d'un composé dont on ne dispose que très peu, mais fréquemment la structure définitive ne pourra être établie sûrement qu'après dégradation chimique du produit et analyse des fragments obtenus. A ce sujet, deux aspects doivent retenir notre attention: 1) les fragments doivent être purifiés; 2) une fois purs, ils doivent être étudiés, d'une part par la voie spectrophotométrique et d'autre part par l'analyse élémentaire qui fournit des données indispensables.

Pour la purification des produits de dégradation chimique, les différentes techniques de chromatographie en couche mince et l'électrophorèse sont utilisées plutôt que les extractions successives ou les cristallisations fractionnées dont l'utilisation à cette micro-échelle est peu aisée. L'isolement des fragments des supports de fractionnement est réalisé soit par extraction soit par sublimation. L'extraction exige que le matériel servant de support et le solvant de chromatographie ou le tampon d'électrophorèse ne contaminent pas le produit extrait. La sublimation ne peut être réalisée pour beaucoup de corps que dans un vide approprié.

En dehors de ces exigences, souvent difficiles à satisfaire, l'expérimentateur doit surmonter les difficultés inhérentes à la perception et à la manipulation de très petites quantités de produits, cristallisés ou non, qu'il trouve dans les micro-réceptacles de verre après les extractions.

a) *Micro-méthode d'extraction en chromatographie et en électrophorèse.*

Nous réalisons l'extraction des fragments ou des produits natifs des supports de chromatographie en couche mince à l'aide de l'appareil décrit à la fig. 1.

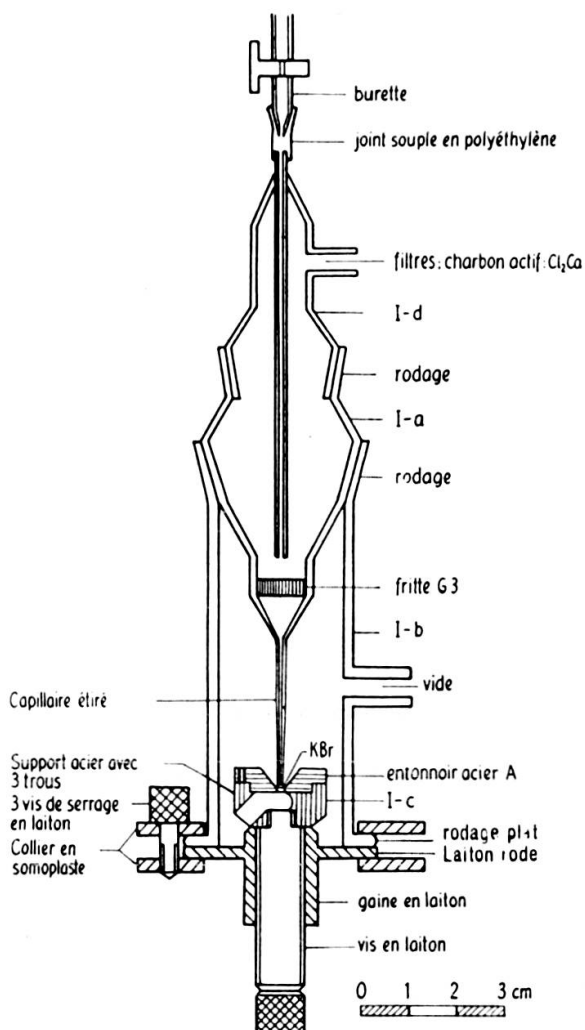


Fig. 1.

Dispositif pour la micro-extraction de produits des supports de chromatographie en couche mince.
L'entonnoir en acier A est remplacé par une micro-cuvette en verre.

La portion du chromatogramme contenant la substance purifiée est introduite dans une tubulure de verre de 0,5 mm de diamètre et de 50 mm de haut, rétrécie à une extrémité, laquelle dans l'extracteur, repose directement sur la fritte G3. Les gouttes du solvant d'extraction issues du réservoir, tombent goutte à goutte sur la matière

divisée contenue dans ce tube. La solution de l'extrait s'écoule à travers la fritte G3 et le capillaire dans un petit récipient de verre où elle s'évapore — l'enceinte Ib étant tenue sous un vide de 12-15 Torr. — au fur et à mesure qu'elle y parvient. Soulignons une fois encore, que le choix du solvant ne dépend pas seulement de la substance à extraire mais aussi de la solubilité des supports de chromatographie, par exemple l'extraction à l'eau est incompatible avec les supports de silice ou d'alumine.

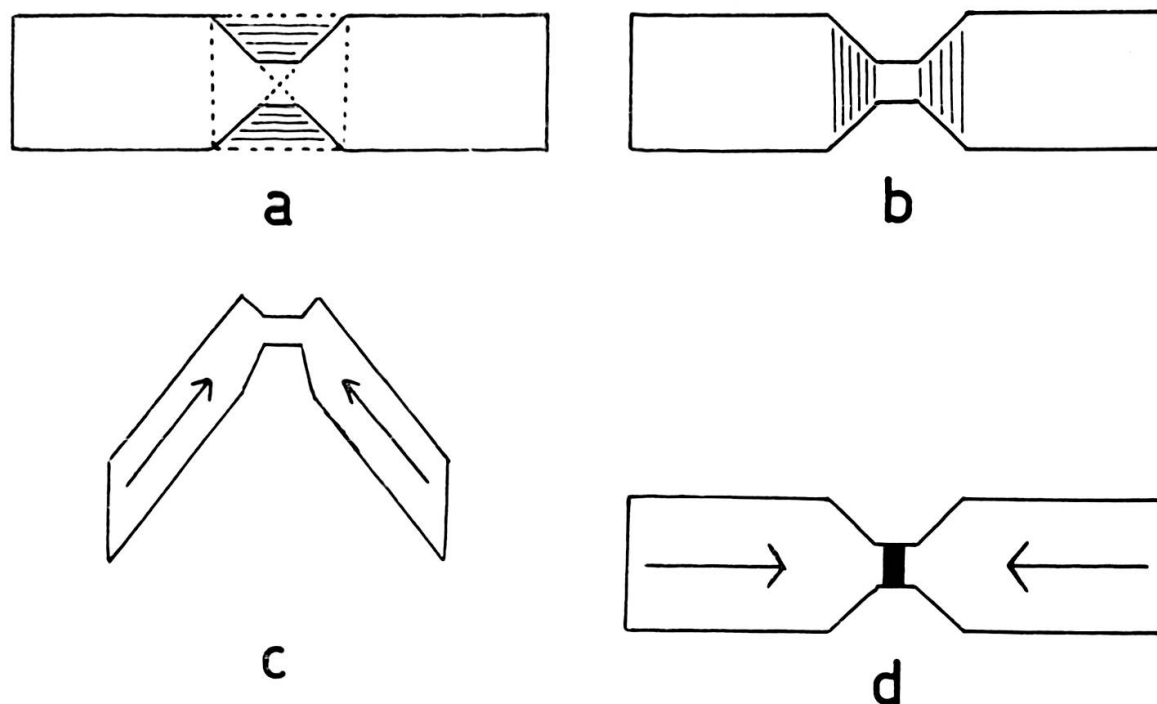


Fig. 2.

- a) bande de papier isolée d'un phérogramme et quadrillé en vue de la découpe b);
 b) bande découpée en vue de la concentration;
 c) concentration de la fraction;
 d) position de la bande de papier pour l'extraction.

En ce qui concerne l'extraction d'un produit provenant d'une séparation électrophorétique sur papier, nous avons développé un extracteur qui utilise le principe de l'effet capillaire. Les bandes de papier rectangulaires contenant la fraction (découpées dans le phérogramme) sont séchées sous vide et découpées selon le dessin de la fig. 2a, puis pliées en leur centre. Chacune des extrémités d'une bande ainsi préparée est mise au contact avec une épaisseur de papier imbibé d'eau contenue dans un réservoir situé à l'intérieur de l'appareil d'élution (voir fig. 3); si bien que la fraction est entraînée simultanément par le solvant à partir des deux extrémités de la bande de papier jusqu'au carré central (voir fig. 2a à 2b) où elle se concentre linéairement. Cette concentration est achevée en quelques minutes. Le papier, encore dans sa position initiale, est aplati sur la surface de l'élueur (construit en polyvinyle) de telle sorte que le capillaire destiné à aspirer la solution concentrée de la fraction, entre en contact

immédiat avec la zone de papier où elle se trouve. L'extrait s'écoule alors goutte à goutte à l'extrémité inférieure du capillaire dans un micro-récipient où la fraction sera recueillie après sublimation de l'eau dans un vide approprié. Le découpage de la

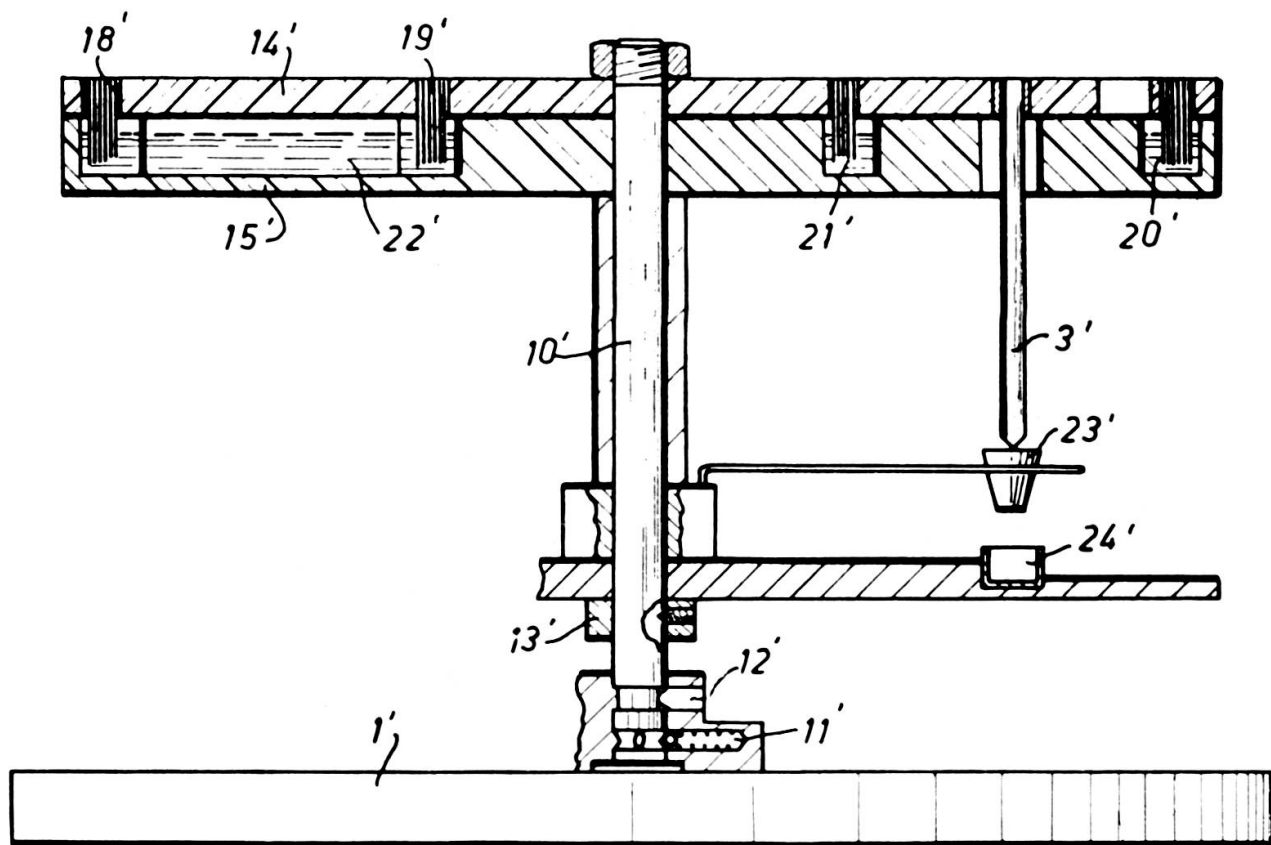


Fig. 3.

Vue en coupe de l'élueur, pour l'extraction des produits après électrophorèse sur papier.

- 1' support de base,
- 3' capillaire de 100 mm de longueur et 0,5 mm de diamètre,
- 10' axe de rotation,
- 11' verrouillage du mouvement de rotation sur l'axe 10',
- 12' et 13' butée,
- 14' plateau supérieur,
- 15' plateau inférieur.
- 18' et 19' épaisseur de papier à chromatographie imbibé de solvant,
- 20 et 21' conduit d'amenée du solvant d'extraction,
- 22' réservoir central pour le solvant d'extraction.

bande de papier (fig. 2a, b) est nécessaire, du fait que la zone dans laquelle le capillaire peut aspirer le liquide ne dépasse pas un diamètre de 10 mm, au-delà duquel les mouvements de la solution sont ralentis; souvent la largeur des bandes découpées dans les phérogrammes dépasse ce diamètre critique. Les extractions se font en série; l'élueur est circulaire et tournant sur un axe central (voir fig. 3).

Ces extraits sont toujours accompagnés d'une fraction hydro-soluble provenant du papier support de l'électrophorèse, fraction présente même si celui-ci a été soigneusement lavé. L'examen ultérieur du produit ainsi obtenu ne pourra être poursuivi en micro-analyses spectrophotométriques et élémentaires que si ces contaminants — insolubles dans la plupart des solvants organiques — peuvent être éliminés. On peut y parvenir en fixant sur la molécule du produit un reste qui élève sa solubilité dans ces solvants, par ex. un groupe 2, 4 dinitrophényl- sur une fonction aminée primaire ou secondaire.

b) *Application de la micro-spectrophotométrie infra-rouge à la chromatographie en couche mince.*

L'utilisation de la micro-spectrophotométrie infra-rouge à la chromatographie en couche mince relève d'un appareil extracteur tout à fait semblable à celui que nous décrivons dans la fig. 1, toutefois le réceptacle destiné à recevoir l'extrait est remplacé ici par un entonnoir en acier inoxydable porteur d'un cylindre de 4 mg de KBr dans lequel l'extrait issu du support de chromatographie, se concentre continuellement. Les techniques de préparation du cylindre de bromure de potassium, du transfert du produit dans ce cylindre et de transformation de cette préparation en une pastille aux qualités optiques désirées ont déjà été exposées [1]. Nous illustrons (voir fig. 4) les performances de cet appareillage par les spectrogrammes IR obtenus sur 0,1 μ mole des dinitro-2,4-phényl L-alanine et L-valine. Ces produits ont été séparés en chromatographie en couche mince sur gel de silice G à l'aide du solvant n-butanol-NH₃ (phase légère du mélange de volumes égaux de n-butanol et d'une solution aqueuse d'ammoniaque à 0,3 %). Après la chromatographie, le chromatogramme est maintenu 60 min. à 40°, soumis aux vapeurs chlorhydriques et finalement porté successivement dans un vide de 15 Torr. et de 0,07 Torr. Ces traitements terminés, le support de silice contenant ces deux DNP acides aminés est extrait dans le micro-extracteur (voir fig. 1 et réf. [1]). Des blancs sont constitués qui qualifient la pureté, d'une part du gel de silice employé, des solvants de chromatographie et d'autre part de la qualité du solvant d'extraction. Il va sans dire que ces blancs ne doivent pas présenter de bande d'absorption en dehors de celle de l'anhydride carbonique, de l'eau atmosphérique et éventuellement des petites quantités d'humidité contenues dans le support ou le solvant d'extraction. Il sera quelquefois nécessaire de purifier le gel de silice G par le solvant utilisé pour l'élution, dans un extracteur de Soxhlet. Les spectres ont été obtenus dans le spectrophotomètre 221 Perkin Elmer, muni du Beam Condensing Unit sur l'un des faisceaux.

La sublimation a été proposée par Baehler [2] pour faire sortir les produits redevables de cette action, du support de chromatographie en couche mince. La combinaison de cette méthode et de la micro-spectrophotométrie infra-rouge paraît particulièrement profitable puisque, alors, on pourra examiner le sublimat par l'une des différentes micro-méthodes proposées [1] et parce qu'ainsi, on se trouve à l'abri des

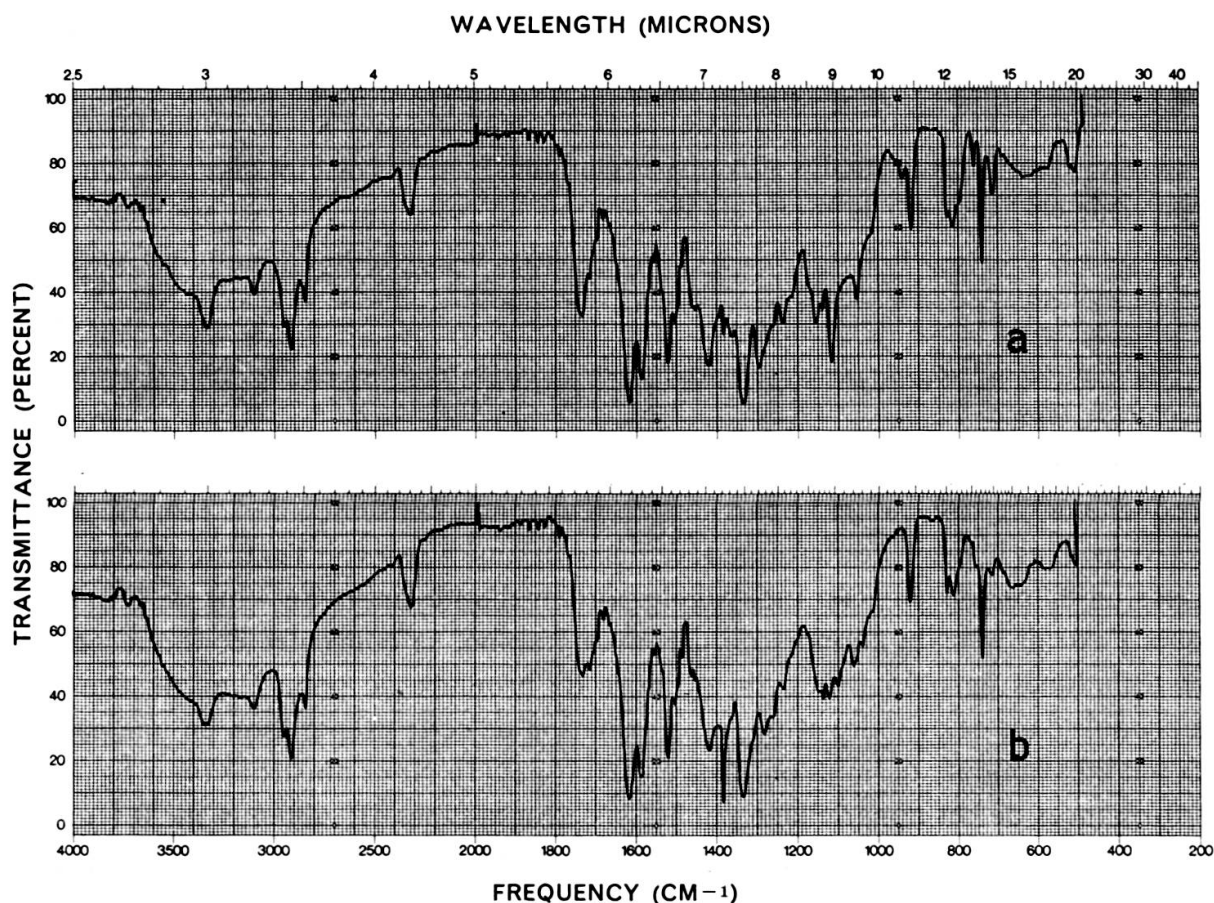


Fig. 4.

Spectres IR, obtenus en micro-spectrographie dans le *KBr*

- a) de 0,1 μ mole de dinitro-2,4 phényl-L-alanine,
- b) de 0,1 μ mole de dinitro-2,4-phényl-L-valine.

éventuels contaminants envisagés plus haut. Toutefois, la plupart des corps ne subliment que dans des vides plus ou moins poussés et la sublimation n'est aisée que si le pouvoir d'absorption du support de chromatographie — qui croît toujours avec la température — est faible. Aussi nous avons développé [3] un appareillage qui permet de soumettre le chromatogramme à des vides très poussés, de porter la température de la plaque de verre supportant le chromatogramme au-delà de 200° et de refroidir la surface réceptrice des sublimats à des températures basses par circulation d'un mélange de liquide à -20°C. La cellulose 300 MN a été préférée à la silice pour la chromatographie de partition parce qu'elle ne retient que fort peu les produits sublimables. Le sublimat (0,01 à 0,1 μ mole) est transvasé dans un micro-disque de *KBr* (4 mg) [1] soit après dissolution dans quelques gouttes d'un solvant approprié soit directement à l'état solide en vue d'une prise de spectre IR, après suspension du solide dans le nujol [1], ou après compression du solide à la surface d'un micro-disque de *KBr* [1]. Nous illustrons cette application (fig. 5) par les spectres infra-rouges du

L-phényl-1-isobutyl-4-thio-2-hydrantoïne (PTH L-leucine) et du L-phényl-1-[méthyl-1-propyl]-4-thio-2-hydantoïne (PTH L-isoleucine). Ces produits (0,1 mole) ont été chromatographiés en couche mince sur cellulose MN 300 à l'aide du solvant heptane-n-butanol-ac-formique (40: 40: 20 ml). La chromatographie a été suivie de la sublimation des PTH sous un vide de 0,05 Torr. à 180°. Les sublimats cristallisés ont été

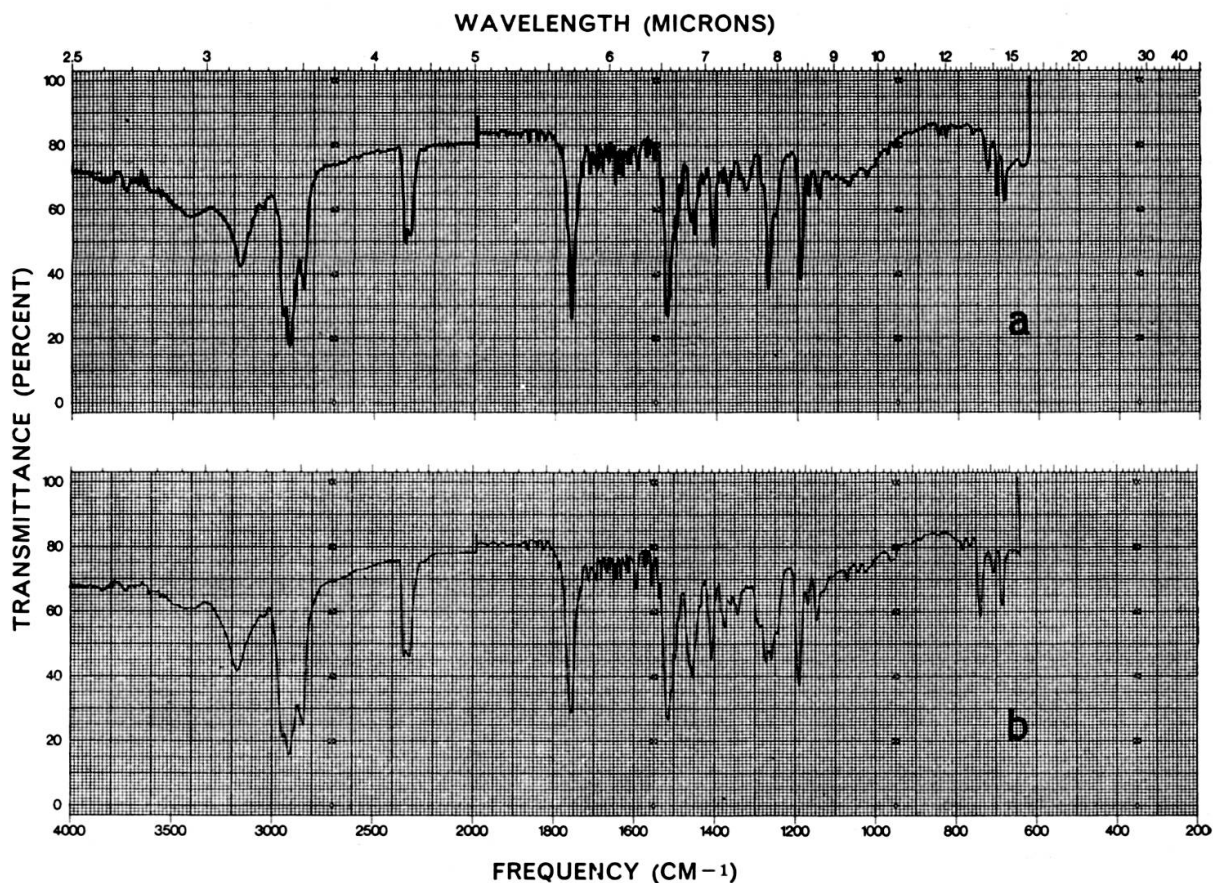


Fig. 5.

Spectres IR, obtenus en mino-spectrographie dans le nujol

- a) de 0,1 μ mole de L-phényl-1-isobutyl-4-thio-2-hydantoïne (PTH L-leucine),
- b) de 0,1 μ mole de L-phényl-1-[méthyl-1-propyl]-4-thio-2-hydantoïne (PTH L-isoleucine).

examinés en suspension dans le nujol [1] par la technique de la micro-spectrophotométrie infra-rouge dans le spectrophotomètre Perkin Elmer 221, muni du Beam Condensing Unit.

L'ultra-micro-analyse élémentaire est le complément indispensable de l'analyse spectrophotométrique.

c) Les méthodes classiques de Pregl, basées sur la gravimétrie ne sont pas applicables à cette échelle. De nouvelles méthodes d'analyse élémentaire ont été développées récemment qui pour un dosage C, H, N ne consomment que quelques dixièmes de milligramme de produit. On a proposé [4, 5] le dosage des éléments comme CO₂,

H_2O , N_2 et SO_2 par chromatographie en phase gazeuse. On parvient aux mêmes résultats par mesure de la conductibilité spécifique des produits de combustion mélangés au moment voulu à de l'hélium, gaz entraîneur [6, 7]. Nous aimerions nous étendre plus spécialement sur la méthode iodométrique proposée par Unterzaucher [8] et les méthodes manométriques. Dans le premier procédé, la substance (0,1-0,5 mg) est brûlée dans un courant d'air. Les gaz qui résultent de cette combustion sont entraînés à travers un mélange d'argent, de cuivre et d'oxyde cuivreux. Le mélange gazeux (CO_2 , H_2O et N_2) est ensuite fractionné: l'eau est fixée sur du chlorure en baryum anhydre ou du gel de silice anhydre ou bien congelée. L'anhydride carbonique et l'azote, les gaz restants, passent alors à travers une couche de carbone portée à 1100° où l'anhydrique carbonique est réduit en oxyde de carbone. Cet oxyde est transformé par oxydation à l'aide du pentoxyde de iode en anhydrique carbonique, avec libération concomittante d'une quantité équivalente d'iode. Par l'action du brome, l'iode est oxydé en iodate que l'on titre par iodométrie. Finalement, on trouve que 1 ml de thiosulfate de sodium 0,02 N correspond à $50 \mu\text{g}$ de carbone. Pour le dosage de l'hydrogène, l'eau fixée préalablement sur l'adsorbant est libérée par chauffage. La vapeur d'eau est conduite sur du carbone porté à 1100° , qui la décompose en $\text{CO} + \text{H}_2$. L'oxyde de carbone est alors oxydé par le pentoxyde iode et le processus se continue et se termine comme on l'a indiqué plus haut. A 1 ml d'une solution de thiosulfate de sodium 0,02 N correspond $16,8 \mu\text{g}$ d'hydrogène. Les méthodes manométriques [9, 10, 11, 12, 13 et 14] ne sont pas moins favorables au micro-dosage élémentaire. Leur principe repose sur la mesure de la différence de pression dans un système préalablement évacué puis rempli de gaz. La calibration de l'appareillage est faite par les volumes gazeux dégagés lors de la combustion de substances connues. Elles permettent de doser en même temps C, H et N. Le produit est brûlé dans un système préalablement évacué dont on a mesuré le vide (valeur 0), de telle façon que la phase gazeuse ne comporte que CO_2 , H_2O et N_2 . L'anhydride carbonique et l'eau sont congelés par l'air liquide et la pression du gaz restant, l'azote, est notée. Pour connaître la pression due à l'anhydride carbonique, le système est à nouveau évacué, et l'anhydride est gazéifié, sa pression est notée. Il en va de même pour connaître la pression donnée par l'eau qui, décongelée, est vaporisée dans le système préalablement débarrassé de CO_2 .

Les pressions suivantes ont été observées dans l'appareil que décrit Schöniger: à 7,5 mm, 44,4 mm, 7,7 mm, correspondent respectivement 0,1 mg de C, 0,1 mg de H et 0,1 mg de N. L'analyse de ces trois éléments se faisant à partir de la même prise et successivement dans le même appareillage, la détermination de la formule élémentaire devient indépendante de la quantité pesée.

En ce qui concerne d'autres méthodes de dosage de l'azote, Kirsten [15] a proposé un ultra-micro-dosage selon Dumas. Après minéralisation par de l'acide sulfurique, l'ammoniac peut être dosé par acidimétrie, par iodométrie ou par colorimétrie [17].

Pour la minéralisation des autres éléments, on utilise avec avantage des tubes scellés. Le dosage des ions formés s'effectue surtout par méthode volumétrique [15 et 18].

RÉSUMÉ

Nous présentons quelques nouveaux aspects de micro-méthodes de détermination des structures de produits organiques. Particulièrement nous décrivons des micro-extracteurs capables d'extraire les produits natifs ou leurs fragments de dégradation après purification en chromatographie en couche mince ou en électrophorèse sur papier. Nous donnons quelques exemples de l'utilisation de la micro-spectrophotométrie infra-rouge à la chromatographie en couche mince après extraction ou sublimation in situ des produits à examiner. Nous rendons compte des possibilités actuelles de la micro-analyse élémentaire.

*Laboratoire de chimie organique et pharmaceutique
et Laboratoire de chimie minérale et analytique
de l'Université de Genève.*

RÉFÉRENCES

1. BAUDET, P., Cl. OTTEN, E. CHERBULIEZ. *Helv.* 47, 2430 (1964).
 2. BAEHLER, Br. *Helv.* 45, 309 (1962). *Pharm. Acta Helv.* 39, 457 (1964).
 3. Non encore publié.
 4. SUNDBERG, O. E. et C. MARESH: *Analyt. Chemistry*, 32, 274 (1960).
 5. DUSWALT, A. A. et W. W. BRANDT: *Analyt. Chemistry*, 32, 272 (1960).
 6. WALISCH, W.: *Chem. Ber.* 94, 2314 (1961).
 7. VECERA, M.: *C* 1963, 3348.
 8. UNTERZAUCHER, J.: *Chemie-Ing. Techn.* 22, 39 (1950).
 9. SIMON, H. et G. MÜLLHOFFER: *Zeitsch. anal. Chem.* 181, 85 (1961).
 10. KIRSTEN, W. J.: *Zeitsch. anal. Chem.* 181, 11 (1961).
 11. BELCHER, R.: *Zeitsch. anal. Chem.* 181, 22 (1961).
 12. PFAB, W. et W. MERZ: *Zeitsch. anal. Chem.* 200, 385 (1964).
 13. FRAZER, J. H.: *Mikrochimica Acta* (Wien) 1962, 993.
 14. KOCH, C. W. et E. E. JONES: *Mikrochimica Acta* (Wien) 1963, 734.
 15. SCHÖNIGER, W.: *Helv.* 39, 650 (1956).
 16. KIRSTEN, W. J.: *Z. anal. Chem.* 181, 11 (1961).
 17. BAUDET, P. et E. CHERBULIEZ: *Helv.* 40, 1612 (1957).
 18. BELCHER, R.: *Z. anal. chem.* 181, 22 (1961).
-