

SUMMARY.

ζ -Hexachlorocyclohexane is proved to be a 1,1,2,4,4,5-hexachlorocyclohexane by synthesis from 1,1,4,4-tetrachlorocyclohexane. The latter has been prepared from cyclohexane-dione-1,4, 1,1,4,4-tetracetoxycyclohexane and 1,4-dichloro-1,4-diacetoxy-cyclohexane.

Lausanne, Laboratoire de Chimie organique de l'Université.

154. Dosage de l'isomère γ de l'hexachlorocyclohexane par chromatographie sur charbon actif

par A. Germano, R. Fazan et I. Lossius.

(4 V 54)

Parmi tous les procédés de dosage du γ -hexachlorocyclohexane, l'industrie utilise principalement l'analyse infra-rouge¹⁻³), polarographique⁴⁻⁷) et chromatographique⁸⁻¹²); les autres méthodes ne donnant pas une précision suffisante ou ne présentant, pour l'instant, qu'un intérêt théorique.

La méthode chromatographique présente l'avantage de n'exiger aucun appareillage coûteux. Basée sur l'isolement de l'isomère γ , elle n'est pratiquement pas influencée par les impuretés contenues dans les mélanges industriels et échappe, de ce fait, à des erreurs d'interprétation. Elle a été préconisée comme méthode de référence officielle par C. V. Bowen¹³). Cependant, les méthodes chromatographiques décrites dans la littérature présentent l'inconvénient d'utiliser le gel de silice dont la préparation est laborieuse et les propriétés adsorbantes variables suivant la teneur en eau.

La méthode que nous décrivons¹⁴) substitue au gel de silice un adsorbant à base de charbon actif, de préparation aisée et dont les propriétés sont constantes et reproductibles.

¹) K. C. Kauer, R. B. Duvall & F. N. Alquist, Ind. Eng. Chem. **39**, 1335 (1947).

²) L. W. Daasch, Anal. Chem. **19**, 779 (1947).

³) D. H. Whiffen & H. W. Thompson, Soc. **1948**, 1420.

⁴) H. Keller, M. Hochweber & H. v. Halban, Helv. **29**, 761 (1946).

⁵) G. Dragt, Anal. Chem. **20**, 737 (1948).

⁶) D. Monnier, L. Roesgen & R. Monnier, Anal. chim. acta **4**, 309 (1950).

⁷) S. Wolf, C. Munster & E. Sarfert, Z. anal. Ch. **140**, 25 (1953).

⁸) L. L. Ramsey & W. J. Patterson, J. ass. off. agr. Ch. **29**, 337 (1946); Chem. Abstr. **41**, 831 b (1947).

⁹) C. Granger & J. P. Zwilling, Bl. **1950**, 873.

¹⁰) O. T. Aepli, P. A. Munter & J. F. Gall, Anal. Chem. **20**, 610 (1948).

¹¹) L. Coutier, H. André & J. Prat, Chimie anal. **31**, 201 (1949).

¹²) J. Rosin & G. B. Radan, Anal. Chem. **25**, 817 (1953).

¹³) C. V. Bowen, Anal. Chem. **25**, 42 (1953).

¹⁴) Pour une étude plus détaillée, voir A. Germano, thèse, Lausanne 1954.

La détermination quantitative de l'isomère γ sur charbon est toutefois rendue difficile par suite d'une rétention irréversible due à la présence, dans l'adsorbant, de centres particulièrement actifs. Nous n'avons pu remédier à cet inconvénient ni par l'emploi de la chromatographie de déplacement ni par l'utilisation d'éluants plus énergiques qui donnent lieu, en général, à des séparations incomplètes. Par contre, la saturation préalable de l'adsorbant par du saccharose dans une proportion de 20 à 26 % du poids de l'adsorbant¹⁾ permet d'obtenir des séparations quantitatives²⁾.

Le comportement chromatographique des isomères de l'hexachlorocyclohexane a été étudié avec les éluants suivants: *chloroforme*, *tétrachlorure de carbone*, *benzène*, *éther éthylique*, *éther de pétrole*, *méthanol* (ordre de pouvoir éluant décroissant). Dans le cas des deux premiers solvants, il s'agit plutôt d'une désorption que d'une élution proprement dite; le méthanol, qui se distingue par son très faible pouvoir éluant, a l'inconvénient de dissoudre passablement d'impuretés contenues dans le charbon.

Pour la détermination de l'isomère γ dans un mélange d'isomères $\alpha + \gamma$, le meilleur éluant est l'*éther éthylique*; il donne des séparations bien marquées et sans produits huileux intermédiaires.

Dans le cas d'un mélange d'isomères $\alpha + \gamma + \delta$ ou d'un échantillon technique, l'*éther éthylique* ne convient pas, car il élue presque simultanément les isomères γ et δ . On recourt alors à l'*éther de pétrole* ou, mieux, à l'*éther de pétrole saturé de nitrométhane*, l'adsorbant étant lui-même imprégné de ce produit (technique de *L. L. Ramsay & W. L. Patterson*, loc. cit.)³⁾. Dans ces conditions, l'isomère δ n'est pas élué. Le nitrométhane diminue légèrement le pouvoir éluant de l'*éther de pétrole*, mais la sélectivité pour les isomères α et γ est améliorée⁴⁾.

La température a une certaine influence sur les vitesses relatives d'élution (R_f) ainsi que sur la précision de la séparation. Il est indiqué de travailler à env. 14–16° et d'entourer, au besoin, la colonne d'un manchon à circulation d'eau.

Les chromatogrammes que nous obtenons se rapprochent d'assez près de ceux de la méthode au gel de silice. Il semble toutefois que nos séparations soient meilleures et qu'il y ait moins de produits huileux intermédiaires.

¹⁾ Suivant la nature de l'éluant et le nombre des constituants du mélange.

²⁾ L'adsorption préalable d'isomères γ ou δ , de même que l'emploi de colonnes usagées donnent également des résultats acceptables. Ces procédés ne sont cependant pas indiqués dans le cas d'analyses industrielles (présence d'impuretés, déplacement possible).

³⁾ Ce procédé ne doit pas être considéré comme une chromatographie de partage, car les propriétés adsorbantes du charbon conservent leur rôle prédominant.

⁴⁾ Le rapport optimum saccharose:charbon n'est pas modifié par le nitrométhane; cependant, de fortes proportions de ce produit donnent lieu à un étirement dans l'élution de l'isomère γ .

Partie expérimentale.

A. *Généralités*. 1^o *Nature du charbon*. Nos essais ont été principalement effectués avec le «Carbo adsorbens PhH V. Siegfried». A défaut de ce produit, on recourra à une qualité de pouvoir adsorbant comparable¹⁾; il est alors indiqué de procéder à un essai d'orientation dont on pourra déduire, une fois pour toutes, l'allure générale de la chromatographie. Afin d'augmenter la vitesse d'éluion, nous avons ajouté au charbon environ 60% de Celite 545 (*Johns Manville*, New York).

La teneur en eau du charbon a pratiquement peu d'importance; cependant, il est indiqué de sécher celui-ci à l'étuve (env. 12 h. à 110–120°), car de fortes proportions d'humidité donnent lieu, avec l'éluant, à la formation d'une masse caillibottée, se décollant des bords de la colonne.

2^o *Technique opératoire*. La technique que nous utilisons est celle du «chromatogramme liquide» (Durchlaufchromatographie). L'éluion s'effectue sous pression et les fractions sont recueillies à l'aide d'un collecteur automatique²⁾.

Les colonnes sont constituées par des tubes de verre (Pyrex) à parois épaisses et munies de robinets capillaires. Les diamètres intérieurs des tubes varient de 2 à 3 cm et leurs longueurs de 80 à 100 cm. Au besoin, on peut leur adapter un manchon réfrigérant à circulation d'eau.

L'adsorbant est introduit dans la colonne sous forme de bouillie claire, puis décanté sous pression, en prenant garde à ce que l'adsorbant ne vienne jamais à sec.

La prise à analyser, dissoute dans la quantité minimum d'éluant, est alors versée avec précaution sur l'adsorbant. On rince les parois de la colonne avec un peu d'éluant et met sous pression. Après écoulement, le rinçage est répété avec 5–10 cm³ de solvant. On place alors un tampon d'ouate sur l'adsorbant, remplit la colonne d'éluant et commence sans tarder l'éluion. Une attente donne lieu à des phénomènes de diffusion qui faussent l'allure de la chromatographie.

3^o *Evaporation et séchage des fractions*. Comme récipients collecteurs, nous avons utilisé essentiellement des erlenmeyers de 100 cm³, préalablement tarés à 0,2 mg près.

L'éluant est chassé dans un évaporateur multiple dont la température est maintenue, par un thermostat, à 10–15° au-dessus du point d'ébullition du solvant. Lorsque les récipients arrivent à sec, on les porte à l'étuve pendant env. 10 min. à 60°, puis complète le séchage par succions répétées à la trompe. On parvient à évaporer et sécher le contenu d'une vingtaine de récipients en moins d'une demi-heure. Ceux-ci sont pesés après 15 min. de repos à la température ambiante. Cette opération se trouve grandement facilitée par l'emploi d'une balance automatique «Mettler».

4^o *Critères de distinction des isomères*. Dans le cas d'un mélange d'isomères α et γ , on peut appliquer les critères du «résidu minimum» et des «formes cristallines»³⁾⁴⁾. Ces tests deviennent insuffisants dans le cas d'un mélange industriel. On prendra alors les F. des fractions intermédiaires dont on pourra déterminer, en outre, la teneur en isomère γ en se basant, par exemple, sur le diagramme de fusion $\alpha - \gamma$ ⁵⁾ ou sur la relation cryoscopique:

$$\% \text{ imp. } \gamma = 1,77 \times \text{abaissement du F. de } \gamma^4).$$

La concordance entre les valeurs données par les deux méthodes est satisfaisante pour des teneurs supérieures à 90% en isomère γ . En dessous, les valeurs données par la re-

¹⁾ Le pouvoir adsorbant du charbon se détermine, par exemple, par l'essai au bleu de méthylène (nombre de cm³ d'une solution aqueuse de bleu de méthylène à 0,15% qu'il faut agiter avec 100 mg de charbon sec, jusqu'à persistance d'une légère coloration⁶⁾). Indice mesuré pour le Carbo adsorbens = 15–16; pour le Carbo activatus siccus *Merck* = 10–11.

²⁾ G. Brunisholz & A. Germano, *Helv.* **37**, 242 (1954).

³⁾ O. T. Aeppli, P. A. Munter & J. F. Gall, *Anal. Chem.* **20**, 610 (1948).

⁴⁾ C. J. Arceneaux, *Anal. Chem.* **23**, 906 (1951).

⁵⁾ G. Speroni, L. Jovine & M. Perini, *Chim. e ind. (Milan)* **34**, 4 (1952).

⁶⁾ K. Seiler & P. Bollier, *Pharm. acta Helv.* **1943**, 526.

lation cryoscopique deviennent trop élevées. L'importance de cette correction (voir tab. 3) varie suivant la teneur en impuretés de l'échantillon technique.

La détermination des F. peut s'effectuer aisément, avec un microscope à platine chauffante, en une seule opération.

B. *Dosage de l'isomère γ dans un mélange $\alpha + \gamma$ purs.* Le rapport optimum saccharose : charbon est ici de 0,26. On agite vigoureusement 25 g de Carbo adsorbens PhH V avec 15 g de Celite 545 dans un erlenmeyer. Le mélange est versé dans une capsule et humecté avec un peu d'eau de façon à former un magma consistant. On verse ensuite sur celui-ci une solution de 6,5 g de saccharose dans 10 cm³ d'eau et remue soigneusement. Le mélange est séché une nuit à l'étuve à 110–120°. On le pulvérise encore chaud dans la capsule même, puis l'introduit dans un erlenmeyer de 250 cm³ que l'on bouche aussitôt. Après refroidissement, on ajoute de l'éther éthylique séché sur du sodium jusqu'à l'obtention d'une bouillie claire, agite vigoureusement et procède au remplissage de la colonne (voir aussi Notes, p. 1333). La prise, contenant 100 à 200 mg d'isomère γ , est dissoute dans 1–5 cm³ d'éther éthylique. On procède à l'adsorption et à l'éluion comme décrit précédemment.

Tableau 1.

Dosage de l'isomère γ dans un mélange $\alpha + \gamma$.

Prise mg	% γ réel	% γ trouvé	Erreur rel. %
228	43,9	44,7	1,8
193	51,3	50,3	1,9
204	51,5	51,5	0
201	49,3	50,2	1,8
206	51,0	51,4	0,8

C. *Dosage de l'isomère γ dans le mélange $\alpha + \gamma + \delta$ et l'hexachlorocyclohexane technique.* Le rapport optimum saccharose : charbon est ici de 0,20. On traite 17 g de Carbo adsorbens PhH V et 10 g de Celite 545 comme précédemment (B) par une solution de 3,4 g de saccharose dans 10 cm³ d'eau; le mélange est séché une nuit à 110–120°. On broie la masse au sortir de l'étuve et ajoute 3–5 cm³ de nitrométhane purifié par distillation (cf. *J. Rosin & G. B. Radan*, loc. cit.). Le broyage est poursuivi jusqu'à l'obtention d'un produit bien homogène. On ajoute alors de l'éther de pétrole (Eb. 40–60°) saturé de nitrométhane, agite vigoureusement et procède au remplissage de la colonne. La prise, contenant 100 à 300 mg d'isomère γ , est chauffée à reflux à quatre ou cinq reprises avec 5 cm³ d'éther de pétrole. On décante chaque fois et verse avec précaution la solution dans la colonne. On rince avec 2–5 cm³ d'éluant, procède à l'adsorption, puis, sans tarder, à l'éluion par de l'éther de pétrole saturé de nitrométhane¹⁾. La température est maintenue si possible entre 14 et 16°; on entourera, au besoin, la colonne d'un manchon à circulation d'eau. Comme on connaît, en général, l'allure du chromatogramme, on prendra des fractions de 25 cm³ jusqu'à l'apparition de l'isomère γ , et de 10 cm³ pendant la séparation $\alpha - \gamma$. On fractionnera ensuite à 50 ou 75 cm³; certaines fractions peuvent même être réunies avant l'évaporation, ce qui diminue les erreurs dues à la pesée. On évapore, sèche et pèse comme décrit sous 3°. L'aspect cristallin des résidus donne une première indication sur la séparation; on prendra ensuite les F. de quelques fractions et corrigera, au besoin, leur teneur en isomère γ comme décrit sous 4°.

¹⁾ On peut également substituer à cette méthode un procédé basé sur les indications de *J. Rosin & G. B. Radan* (loc. cit.): le poids de la prise est dix fois plus élevé et l'extraction s'effectue avec 100 cm³ d'éther de pétrole pendant 5 min. à reflux. On répète deux fois cette opération avec, chaque fois, 50 cm³ d'éther de pétrole pendant 5 min. Les extraits sont filtrés après décantation et recueillis dans un ballon jaugé de 250 cm³. On complète au trait et pipette 25 cm³ que l'on introduit dans la colonne.

Avec un collecteur automatique de fractions, l'élu-tion peut se faire pendant la nuit; suivant l'opérateur, une analyse complète demande 2 à 3 heures de travail effectif.

Notes. Si l'on veut augmenter le poids de la prise et de l'adsorbant, tout en conservant l'allure du chromatogramme, il faut diminuer la quantité relative d'adsorbant. — On peut préparer d'avance une certaine quantité d'adsorbant que l'on conservera dans un flacon bien bouché.

Tableau 2.

Dosage de l'isomère γ dans un mélange $\alpha + \gamma + \delta$.

Prise mg	% γ réel	% γ trouvé	Erreur rel. %
201	26,4	26,9	1,9
202	25,8	25,3	1,9
223	35,5	36,3	2,2
216	32,4	32,4	0
450	44,4	44,0	0,9
468	55,6	56,6	1,8
505	51,0	50,3	1,4

Tableau 3.

Dosage de l'isomère γ dans un mélange industriel.

N ^o	Prise mg	% γ non corr.	% γ corr.	% écart de la moyenne
A	1551	13,4	13,0	0,8
	1305	13,1	12,7	1,6
	1700	13,4	12,9	0
B	1472	15,5	15,0	0,7
	1545	15,7	15,2	0,7
C	1426	15,8	15,4	—

Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à Monsieur le Professeur *H. Goldstein* et à Monsieur le Dr *R. Jaumin* pour l'intérêt bienveillant qu'ils ont porté à ce travail.

RÉSUMÉ.

Nous décrivons une méthode de dosage du γ -hexachlorocyclohexane par chromatographie sur charbon actif. Ce procédé est plus avantageux que la méthode au gel de silice, spécialement en ce qui concerne la commodité et la reproductibilité.

Lausanne, Laboratoire de Chimie organique de l'Université.

155. Modifikation der C-Methylbestimmungsmethode bei Verwendung kleinster Substanzmengen

von C. F. Garbers, H. Schmid und P. Karrer.

(6. V. 54.)

Die C-Methylbestimmungen nach *Kuhn-Roth* erfordern bei Anwendung der Mikrotechnik¹⁾ etwa 3 bis 20 mg Substanz. Da wir vor das Problem gestellt waren, mit wesentlich geringeren Substanzmengen solche Bestimmungen ausführen zu müssen, haben wir versucht, die Methode solchen Bedürfnissen anzupassen und zu modifizieren.

Die Abänderung beruht darauf, dass man die bei der Oxydation entstandene Essigsäure nach dem Abdestillieren nicht titriert, son-

¹⁾ Vgl. *Pregl*, Quant. Org. Analyse (1935), Seite 235.