

CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE DES 3,5-DINITROBENZOATES SÉPARATION DES ALCOOLS ALIPHATIQUES DE C₁ À C₁₄ PAR CHROMATOGRAPHIE BIDIMENSIONNELLE

M. SEVERIN

Chimie générale et organique, Faculté des Sciences agronomiques de l'État, Gembloux (Belgique)

(Reçu le 18 mai 1966)

INTRODUCTION

Les 3,5-dinitrobenzoates (DNB) sont souvent utilisés pour la séparation et l'identification des alcools. La séparation de ces dérivés par chromatographie sur papier a fait l'objet d'un certain nombre de travaux; par contre nous n'avons trouvé, jusqu'à présent, que peu d'études utilisant la chromatographie sur couche mince.

Il nous a, de ce fait, paru intéressant d'étudier les possibilités d'application de cette technique à la séparation des DNB en vue notamment de leur identification dans les extraits de plantes.

En 1951, RICE, KELLER ET KIRCHNER¹ appliquent la chromatographie sur papier à la séparation des DNB de onze alcools différents. Cependant le pouvoir de résolution des systèmes de solvants utilisés ne permet pas de séparer un mélange d'alcool éthylique, propylique et butylique. MEIGH² utilise le Whatman No. 1 et le mélange de solvants méthanol-heptane pour séparer les DNB d'alcools volatils jusqu'à l'hexanol. La résolution des mélanges d'alcools inférieurs est meilleure que dans le travail précédent. SUNDT ET WINTER³ séparent les DNB d'alcools jusqu'en C₁₂ par chromatographie sur papier imprégné de diméthylformamide. Le solvant de développement est la décalkine saturée de diméthylformamide. Les parois de la cuve de développement sont garnies de papiers imprégnés de diméthylformamide saturée de décalkine.

Dans un travail important, GASPARIČ ET BORECKÍ⁴ appliquent la chromatographie sur papier à la séparation des dérivés de l'acide 3,5-dinitrobenzoïque d'alcools, glycols, polyéthylèneglycols et leurs monoéthers, de chlorhydrines, phénols, mercaptans et d'amines aliphatiques et aromatiques. Ils étudient le comportement chromatographique de cent cinquante composés environ, dans vingt systèmes de solvants différents; les chromatogrammes sont obtenus sur papier imprégné de formamide diméthylformamide, d'huile de paraffine ou de 1-bromonaphtalène. Lorsque la formamide est la phase stationnaire, les solvants de développement sont l'hexane, le cyclohexane, le benzène, le chloroforme et l'acétate d'éthyle seuls ou en mélanges. L'hexane et le cyclohexane sont les phases mobiles pour la diméthylformamide. Avec l'huile de paraffine, les auteurs utilisent des mélanges en proportions variables de diméthylformamide-méthanol-eau et avec le 1-bromonaphtalène, de l'acide acétique à 70 ou 90 %.

Les résultats du travail précédent⁴ sur papier imprégné de formamide sont appliqués par GAUTHIER ET MANGENEY⁵ à l'étude des produits techniques obtenus par polyoxyéthylénation du glycol (polyéthylène glycol). Ils essayent de résoudre les difficultés rencontrées dans la séparation des diesters 3,5-dinitrobenzoïques des polyéthylèneglycols en étudiant l'influence des facteurs suivants: la quantité de substance à déposer au point de départ, la qualité et la concentration de formamide à utiliser pour l'imprégnation des feuilles, le degré d'humidité, la saturation des cuves de développement. La séparation de ces diesters a été améliorée en utilisant l'éther diéthylique saturé de formamide comme phase mobile. Lors de l'essai d'autres supports de phases stationnaires, GAUTHIER ET MANGENEY obtiennent la même séparation sur couche mince de kieselguhr imprégnée de formamide. Le liant utilisé pour ces plaques est la gomme de sénégale et non le plâtre que les auteurs trouvent trop fragile.

La préparation, la séparation et l'identification rapide des DNB préparés à partir d'alcools et de phénols présents dans des produits alimentaires et entraînés à la vapeur retiennent l'attention de DHONT ET DE ROOY⁶ qui étudient les possibilités de séparations de ces esters par chromatographie sur couche mince de silicagel G (Merck). Les systèmes de solvants testés sont des mélanges hexane-acétate d'éthyle (75:25) ou (85:15); toluène-acétate d'éthyle (90:10) et le mélange benzène-éther de pétrole (50:50). La méthode ne permet pas de séparer les membres des séries homologues d'alcools et de phénols.

La séparation des DNB du méthanol, éthanol, propanol et 1-butanol est réalisée par WALDI⁷ sur plaque de silicagel G. La phase mobile est un mélange de cyclohexane-tétrachlorure de carbone-acétate d'éthyle (10:75:15). Les DNB sont révélés par la rhodamine B.

STAHL⁸ signale la possibilité de détecter et d'estimer l'alcool dans le sang après son extraction à l'éther, transformation en DNB et chromatographie sur plaque de silicagel avec le mélange solvant tétrachlorure de carbone-cyclohexane-acétate d'éthyle (75:10:15). La révélation du chromatogramme se fait également avec la rhodamine B. Travaillant sur plaque de silicagel G avec deux systèmes de solvants, éther isopropylique-éther de pétrole (12:88) et (6:94), MEHLITZ, GIERCHNER ET MINAS⁹ donnent les résultats obtenus avec les DNB de 23 alcools différents. Ils utilisent un procédé de révélation qui permet de distinguer les alcools saturés et non saturés. Après développement, les plaques à révéler sont vaporisées avec une solution à 0.05 % de fluorescéine dans NaOH N/10 ensuite soumises à des vapeurs de Br₂. Les alcools saturés donnent des taches roses tandis que les taches des alcools non saturés virent au jaune en quelques secondes.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Nous avons étudié la séparation par chromatographie sur couche mince des esters 3,5-dinitrobenzoïques des alcools repris dans le Tableau I. Ces DNB sont préparés suivant CHERONIS ET ENTRIKIN¹⁰ et les points de fusion obtenus sur l'appareil "TOTTOLI" sont comparés avec ceux de la littérature^{10,11}.

Cette étude comprend les essais suivants:

A. Séparation des DNB sur couche mince de kieselgel G (Merck 7731).

1. Influence de la nature du solvant de développement;
2. Influence de l'activation des plaques.

TABLEAU I

POINT DE FUSION DES DNB PRÉPARÉS

<i>Alcools correspondants</i>	<i>P.F.littérature</i>	<i>P.F.observé</i>
Méthanol	108	108
Éthanol	93	94
Isopropanol (2-propanol)	123	124
1-Propanol	74	74
Isobutanol (2-méthyl-1-propanol)	87	86
1-Butanol	64 (62,5)	64
2-Pentanol (amylique secondaire)	62	62
3-Méthyl-1-butanol (isoamylique)	61	55
1-Pentanol (amylique)	46,4	47
2-Méthyl-1-pentanol	50,5	50,5
2,4-Diméthyl-1-pentanol	—	37*
1-Hexanol	58,4	58
3-Heptanol	—	57*
2-Heptanol	49,4	50
1-Heptanol	46 (47)	46
1-Octanol	61 (62)	62
1-Décanol	57,7	56
1-Dodécanol	60	52
1-Tétradécanol	67	65

* Ne figure pas dans la littérature consultée^{10,11}.

B. Séparation des DNB par chromatographie en phase inversée sur couche mince de kieselgel G imprégnée d'un liquide lipophile.

1. Influence de la nature et de la concentration de l'agent d'imprégnation;
2. Influence de la nature du solvant de développement.

C. Essais de sensibilité de la méthode.

D. Séparation des DNB des alcools de C₁ à C₁₄ par chromatographie bidimensionnelle sur couche mince.

En combinant la chromatographie sur couche mince en phase normale et en phase inversée dans un développement bidimensionnel, nous séparons la série homologue des alcools de C₁ à C₁₄ sous forme de DNB.

Préparation des plaques

(a) *Plaques normales*. Nous utilisons des plaques de 10 × 20 cm et l'appareil égaliseur "DESAGA" réglé pour une couche d'adsorbant de 0,3 mm d'épaisseur. Dix plaques de 10 × 20 cm peuvent être préparées en même temps. 40 g de kieselgel G (Merck 7731) sont introduits dans un erlenmeyer sec de 500 ml et agités 30 sec avec 80 ml d'eau distillée. La pâte obtenue est versée immédiatement dans l'appareil égaliseur et étalée d'un seul trait sur les plaques. Sauf indication contraire, les plaques séchées une nuit à l'air sont activées juste avant l'emploi par passage à l'étuve 15 min à 120°.

(b) *Plaques paraffinées*. Les plaques préparées la veille comme en (a) et séchées à l'air sont trempées dans une solution de paraffine liquide à 10 % dans l'éther de pétrole 30-50°. Après différents essais préliminaires, nous utilisons la paraffine liquide B.D.H. "HEAVY" densité 0,865-0,890.

Placement des gouttes sur la plaque

A l'aide d'une pointe dure, nous traçons un trait dans l'adsorbant à 16.5 cm d'une extrémité de la plaque. Les gouttes sont déposées à l'aide d'une micropipette à 1.5 cm du bord de la plaque. Chaque goutte est distante de sa voisine de 1.5 cm. Les DNB sont mis en solution dans le chloroforme.

Développement des chromatogrammes

La plaque est placée dans une cuve en verre de 21 × 11 × 26 cm contenant le solvant. La cuve recouverte d'une plaque de verre est inclinée de façon à ce que le solvant n'atteigne pas le bas de la plaque à développer. On laisse l'atmosphère de la cuve se saturer en vapeurs de solvant. Après 30 min, la cuve est redressée et le solvant entre en contact avec le bas de la plaque. On arrête le développement au moment où le front du solvant atteint la ligne tracée à 16.5 cm du bord inférieur (15 cm de développement).

Révélation des DNB

Les plaques développées sont révélées avec une solution éthanolique de rhodamine B à 0.1 % et laissées à l'air pendant 15 min. Les DNB donnent des spots violets sur fond rose saumon. Les spots se conservent bien pendant plusieurs jours.

A. SÉPARATION DES DNB SUR COUCHE MINCE DE KIESELGEL G

1. Influence de la nature du solvant de développement

Dans une première série d'essais, nous avons essayé d'améliorer les séparations des DNB en modifiant les systèmes de solvants. Nous avons testé environ cinquante systèmes différents de solvants parmi lesquels, le benzène, le toluène, des mélanges en proportions variables de benzène avec l'acétate de méthyle, l'acétate d'éthyle, la diméthylformamide, le dichlorométhane, le cyclohexane, le cyclohexène, la pyridine; des mélanges en proportions variables de cyclohexane avec l'acétate de méthyle, l'acétate d'éthyle et le tétrachlorure de carbone. Les plaques sont développées et révélées suivant les conditions décrites précédemment. Outre les différents mélanges de DNB, nous déposons sur chaque plaque un mélange de colorants fourni par DESAGA (jaune de beurre, soudan rouge G et indophenol). Avec le jaune de beurre comme standard les résultats sont exprimés en $R_B \times 100$ où

$$R_B = \frac{\text{distance parcourue par la substance}}{\text{distance parcourue par le jaune de beurre}}$$

Les valeurs de R_B sont plus reproductibles que les valeurs de R_F d'un essai à l'autre.

Le Tableau II donne les $R_B \times 100$ obtenus avec quatre systèmes de solvants choisis parmi les plus intéressants:

cyclohexane-acétate d'éthyle (90:10)

cyclohexane-acétate de méthyle (90:10)

tétrachlorure de carbone-cyclohexane-acétate d'éthyle (80:15:5)

benzène-cyclohexène (90:10).

Aucun des quatre solvants repris dans le Tableau II ne présentent d'avantages marqués. Pratiquement, avec les solvants utilisés, lorsqu'on soumet au développe-

TABLEAU II

 $R_F^* \times 100$ DES DNB SÉPARÉS SUR COUCHES MINCES DE KIESELGEL G

A = Cyclohexane-acétate d'éthyle (90:10). B = Cyclohexane-acétate de méthyle (90:10). C = Tétrachlorure de carbone-cyclohexane-acétate d'éthyle (80:15:5). D = Benzène-cyclohexène (90:10).

Alcools	A	B	C	D
Méthanol	44	42	44	70
Éthanol	63	61	59	77
Isopropanol	84	78	76	88
1-Propanol	78	75	74	88
Isobutanol	96	86	81	98
1-Butanol	94	87	84	96
2-Pentanol	117	102	102	111
3-Méthyl-1-butanol	106	94	92	102
1-Pentanol	100	98	—	103
2-Méthyl-1-pentanol	113	101	101	110
2,4-Diméthyl-1-pentanol	113	104	101	110
1-Hexanol	111	95	99	108
3-Heptanol	126	118	114	117
2-Heptanol	117	112	108	113
1-Heptanol	113	102	102	109
1-Octanol	122	103	107	115
1-Décanol	127	110	109	119
1-Dodécanol	127	110	110	121
1-Tétradécanol	127	116	112	121

* Moyenne de 6 résultats.

ment chromatographique un mélange complet de DNB de la série homologue des alcools de C_1 à C_{14} , seuls les quatre premiers termes sont séparés.

2. Influence de l'activation des plaques

Nous avons étudié la séparation chromatographique sur couche mince de kieselgel G d'un mélange de DNB des alcools de C_1 à C_6 sous quatre conditions d'activation différentes:

30 min à 140° 30 min à 120° 15 min à 120°

sans activation.

Le solvant de développement est le mélange cyclohexane-acétate d'éthyle, 90:10.

Les chromatogrammes réalisés sur plaques activées 30 min à 140° présentent de grandes trainées et des déformations de spots. Même le méthanol et l'éthanol ne sont pas séparés et donnent une tache très allongée.

Sur les plaques activées 30 min à 120° les trainées apparaissent encore mais sont moins accentuées. Cependant les séparations sont encore imparfaites.

Par contre on obtient de bonnes séparations sur les chromatogrammes développés sur plaques activées 15 min à 120° . Les séparations sont également excellentes sur les plaques non activées mais les valeurs de R_F et de R_B semblent moins reproductibles d'un essai à l'autre. Pour cette raison, nous avons choisi les conditions d'activation de 15 min à 120° pour nos différents essais.

B. SÉPARATION DES DNB PAR CHROMATOGRAPHIE EN PHASE INVERSÉE

La chromatographie de partage en phase inversée est applicable à la chromatographie sur couche mince par imprégnation de la couche adsorbante par un liquide lipophile tel les huiles de silicone, les huiles de paraffine, des hydrocarbures comme le tétradécane ou l'undécane.

La couche mince d'adsorbant est plongée, après séchage, dans une solution à 5 ou 10 % de l'agent d'imprégnation. Cette technique est d'usage notamment dans le domaine des acides gras et des glycérides et nous avons pensé l'appliquer à la séparation des DNB d'alcools.

1. Influence de la nature et de la concentration de l'agent d'imprégnation

Nous avons traité les plaques de kieselgel G avec différentes solutions d'imprégnation parmi lesquelles des solutions d'hexadécane, de paraffine liquide B.D.H. "LIGHT" densité 0.830 - 0.870 et de paraffine liquide B.D.H. "HEAVY" densité 0.865 - 0.890.

Quelques essais préliminaires nous ont permis de choisir les systèmes de solvants suivants: acide acétique-eau (80:20), dioxane-eau (90:10), pyridine-eau (90:10) et acétonitrile-eau (80:20).

Pour tous ces mélanges de solvants nous obtenons les meilleurs résultats avec la paraffine liquide B.D.H. "HEAVY" densité 0.865-0.890. Les plaques de kieselgel G sont trempées pendant 30 sec dans une solution à 10 % de paraffine liquide dans l'éther de pétrole 30-50°. Cette concentration de 10 % semble optimum puisque des essais réalisés avec des solutions à 5 et 15 % donnent des résultats très médiocres. D'autre part, le fait de prolonger le temps de trempage des plaques au delà de 30 sec n'influence pas la qualité des chromatogrammes.

2. Influence de la nature du solvant de développement

Comme pour les plaques normales, nous avons testé de nombreux systèmes de solvants parmi lesquels des mélanges en proportions variables acide acétique-eau, acétonitrile-eau et dioxane-eau. Parmi ceux-ci, les mélanges acide acétique-eau semblent les plus intéressants. Les résultats obtenus avec les mélanges acide acétique-eau (80:20) et (65:35) sont repris dans le Tableau III. La séparation du mélange de colorants se faisant mal sur les plaques paraffinées, nous avons choisi le temps de rétention relatif par rapport au DNB de l'alcool amylique. Ce temps de rétention relatif que nous appelons R_g est plus reproductible que le temps de rétention absolu.

L'intérêt des solutions aqueuses d'acide acétique comme solvant de développement et l'importance de leur teneur en eau sur les séparations des DNB apparaissent clairement lorsque on compare les valeurs de R_g figurant dans le Tableau III. Les solutions d'acide acétique à faible teneur en eau (20 %) réalisent une bonne séparation des DNB des alcools supérieurs du mélange mais ne séparent pas les alcools inférieurs. L'augmentation de la teneur en eau du solvant diminue la séparation des DNB des alcools supérieurs mais améliore la séparation des alcools inférieurs.

Ainsi le mélange acide acétique-eau (80:20) sépare bien les DNB des alcools de C_8 à C_{14} et mal les alcools de C_1 à C_7 . Avec le mélange 65:35 les alcools de C_8 à C_{14} sont mal séparés mais on sépare les alcools inférieurs. On pourra donc adapter la teneur en eau du solvant à la nature du mélange à séparer.

TABLEAU III

$R_f^* \times 100$ DES DNB SÉPARÉS SUR COUCHES MINCES DE KIESELGEL G IMPRÉGNÉES DE PARAFINE LIQUIDE

A = Acide acétique-eau (80:20). B = Acide acétique-eau (65:35).

<i>Alcools</i>	<i>A</i>	<i>B</i>
Méthanol	110	170
Éthanol	108	160
Isopropanol	106	141
Propanol	103	147
Isobutanol	99	126
1-Butanol	101	124
2-Pentanol	100	97
3-Méthyl-1-butanol	94	104
1-Pentanol	100	100
2-Méthyl-1-pentanol	86	76
2,4-Diméthyl-1-pentanol	83	60
1-Hexanol	88	62
3-Heptanol	88	56
2-Heptanol	86	52
1-Heptanol	83	50
1-Octanol	78	31
1-Décanol	49	10
1-Dodécanol	33	3
1-Tétradécanol	13	1

* Moyenne de 6 résultats.

C. ESSAIS DE SENSIBILITÉ DE LA MÉTHODE

Nous avons déterminé les quantités minima de DNB décelables en lumière du jour et en lumière U.V. (2537 Å) avec trois solutions de réactifs révélateurs :

une solution éthanolique à 0.1 % de rhodamine B

une solution éthanolique à 0.5 % de rhodamine B

une solution à 0.05 % de fluorescéine dans NaOH N/10.

Avec la rhodamine B les DNB apparaissent sous forme de taches violettes sur fond rose saumon en lumière du jour et de taches noires sur fond jaune en lumière U.V. Avec la fluorescéine, les taches sont roses sur fond jaunâtre en lumière du jour et noires sur fond vert en lumière U.V.

TABLEAU IV

SEUIL DE SENSIBILITÉ DE LA MÉTHODE (EN μg DE DNB)

<i>Reactifs</i>	<i>Lumière du jour</i>		<i>Lumière U.V.</i>	
	<i>Plaques normales</i>	<i>Plaques paraffinées</i>	<i>Plaques normales</i>	<i>Plaques paraffinées</i>
Rhodamine B 0.1 %	2	—	1	—
Rhodamine B 0.5 %	1	5	0.5-1	2
Fluorescéine 0.05 %	5	5-10	1	2-5

Les valeurs reprises dans le Tableau IV représentent les quantités minima de DNB décelables par les réactifs utilisés. On voit que la sensibilité diminue sur les chromatogrammes développés en phase inversée sur plaques paraffinées. Par contre l'examen des plaques en lumière U.V. améliore la sensibilité dans les deux cas.

D. SÉPARATION DES DNB DES ALCOOLS DE C_1 À C_{14} PAR CHROMATOGRAPHIE BIDIMENSIONNELLE SUR COUCHE MINCE

Il ressort des résultats précédents qu'il est vraisemblablement possible d'améliorer la séparation des DNB en utilisant une chromatographie bidimensionnelle. On peut utiliser soit uniquement la chromatographie sur couche mince en phase inversée avec des solutions d'acide acétique à teneur variable en eau comme phase mobile, soit combiner la chromatographie sur plaque normale et sur plaque imprégnée de paraffine.

Des différentes possibilités offertes par les données des Tableaux II et III, c'est la combinaison bidimensionnelle suivante qui donne les meilleurs résultats: La solution chloroformique de DNB déposée dans le coin inférieur gauche d'une plaque de 20×20 cm de kieselgel G est développée avec le mélange cyclohexane-acétate d'éthyle (90:10). Après évaporation du premier solvant la plaque est imprégnée de paraffine liquide par trempage 30 sec dans une solution à 10 % dans l'éther de pétrole

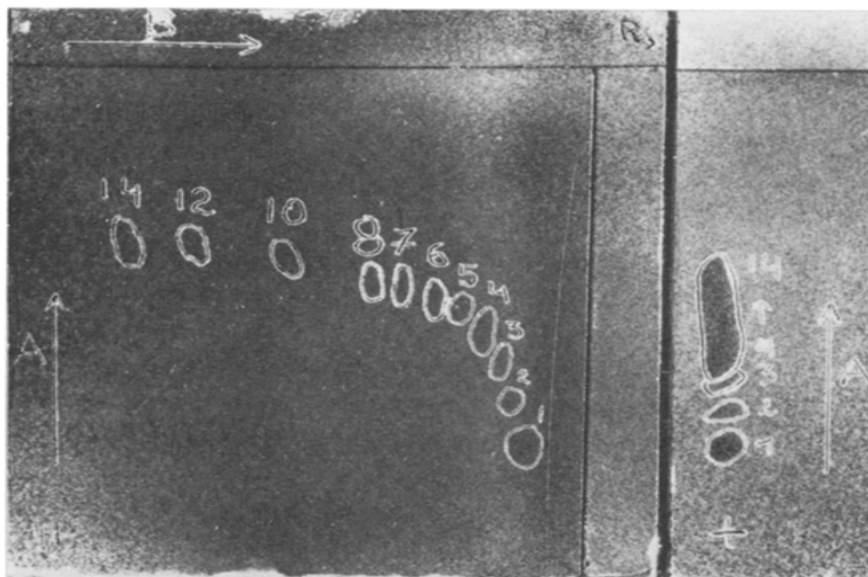


Fig. 1. Chromatographie bidimensionnelle des DNB. DNB: 1 = méthanol; 2 = éthanol; 3 = propanol; 4 = 1-butanol; 5 = 1-pentanol; 6 = 1-hexanol; 7 = 1-heptanol; 8 = 1-octanol; 10 = 1-décanol; 12 = 1-dodécanol; 14 = 1-tétradécanol. Solvants: A = cyclohexane-acétate d'éthyle (90:10); B = acide acétique-eau (80:20).

30-50°. La plaque est alors développée dans le sens perpendiculaire avec le solvant acide acétique-eau (80:20). Un chromatogramme obtenu par cette méthode est représenté sur la Fig. 1. On voit qu'il est pratiquement possible de séparer les DNB de la série homologue des alcools de C_1 à C_{14} . La partie droite de la figure montre le résultat obtenu après le premier développement.

CONCLUSIONS

Les résultats obtenus montrent que :

La chromatographie monodimensionnelle sur couche mince de kieselgel G permet de séparer les DNB des alcools aliphatiques de C_1 à C_4 .

La chromatographie monodimensionnelle en phase inversée sur couche mince de kieselgel G imprégnée de paraffine liquide permet de séparer divers mélanges de DNB d'alcools compris entre C_1 et C_{14} en utilisant comme solvant de l'acide acétique contenant, suivant la nature du mélange à séparer, des quantités variables d'eau.

On peut séparer les DNB de la série homologue des alcools de C_1 à C_{14} par une chromatographie bidimensionnelle sur couche mince de kieselgel G. Après un premier développement avec le solvant cyclohexane-acétate d'éthyle (90:10), les plaques séchées sont paraffinées et développées dans le sens perpendiculaire, en phase inversée, avec le solvant acide acétique-eau (80:20).

La limite de sensibilité de la méthode se situe entre 1 et 5 μg de DNB suivant les cas.

RÉSUMÉ

On a étudié la séparation des 3,5-dinitrobenzoates des alcools aliphatiques de C_1 à C_{14} par chromatographie sur couche mince de kieselgel G et de kieselgel G imprégnée de paraffine liquide (chromatographie en phase inversée). La chromatographie monodimensionnelle classique permet la séparation des quatre premiers termes. Suivant la teneur en eau du solvant, la chromatographie monodimensionnelle en phase inversée sépare les homologues inférieurs ou supérieurs. La chromatographie bidimensionnelle sépare la série homologue des alcools de C_1 à C_{14} : après un premier développement avec le solvant cyclohexane-acétate d'éthyle (90:10), la couche de kieselgel est imprégnée de paraffine liquide et développée dans le sens perpendiculaire, en phase inversée, avec le solvant acide acétique-eau (80:20). La limite de sensibilité de la méthode est comprise entre 1 et 5 μg de 3,5-dinitrobenzoate.

SUMMARY

Studies have been carried out to separate 3,5-dinitrobenzoates of the aliphatic alcohols from C_1 to C_{14} by means of thin-layer chromatography on kieselgel G and kieselgel G impregnated with liquid paraffin (reversed phase chromatography).

Classical one-dimensional chromatography permits the separation of the first four members of the series. Depending on the water content of the solvent, reversed phase one-dimensional chromatography separates the higher or the lower homologues.

Two-dimensional chromatography separates the homologous series of alcohols from C_1 to C_{14} . After the first development with cyclohexane-ethyl acetate (90:10) as the solvent, the thin layer of kieselgel is impregnated with liquid paraffin and developed at right angles by reversed phase chromatography, employing acetic acid-water (80:20) as the solvent.

The limit of sensitivity of the method lies between 1 and 5 μg of the 3,5-dinitrobenzoates.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 R. G. RICE, G. J. KELLER ET J. G. KIRCHNER, *Anal. Chem.*, 23 (1951) 194.
- 2 D. F. MEIGH, *Nature*, 169 (1952) 706.
- 3 E. SUNDT ET M. WINTER, *Anal. Chem.*, 29 (1957) 851.
- 4 J. GASPARIČ ET J. BORECKÍ, *J. Chromatog.*, 5 (1961) 466.
- 5 H. GAUTHIER ET G. MANGENEY, *J. Chromatog.*, 14 (1964) 209.
- 6 J. H. DHONT ET C. DE ROOY, *Analyst*, 86 (1961) 527.
- 7 D. WALDI, dans E. STAHL (Rédacteur), *Thin-Layer Chromatography, A Laboratory Handbook*, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York et Academic Press, New York, 1965, p. 356.
- 8 E. STAHL, *Thin-Layer Chromatography, A Laboratory Handbook*, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York et Academic Press, New York, 1965, p. 341.
- 9 A. MEHLITZ, K. GIERCHNER ET T. H. MINAS, *Chemiker Ztg.*, 89 (1965) 175.
- 10 N. D. CHERONIS ET J. B. ENRIKIN, *Semimicro Qualitative Organic Analysis*, Interscience, New York, 1957.
- 11 C. D. HODGMAN, R. C. WEAST ET S. M. SELBY, *Tables for Identification of Organic Compounds*, Chemical Rubber Publ. Co., Cleveland, Ohio, 1960.

J. Chromatog., 26 (1967) 101-110