

50. Giovan Battista MARINI-BETTOLO. — Impiego dei vapori di iodio come rivelatore generale nella cromatografia su carta (*).

Riassunto. — Viene dimostrato con numerosi esempi come l'impiego dei vapori di iodio nella rivelazione dei cromatogrammi su carta costituisca un metodo generale di notevole sensibilità e di grande efficacia soprattutto nel caso che siano da studiare reazioni biologiche o reazioni chimiche che portino a composti non prevedibili.

Résumé. — On démontre avec de nombreux exemples que l'emploi des vapeurs d'iode comme révélateur des chromatogrammes sur papier est une méthode générale d'une sensibilité remarquable et de grande efficacité surtout quand on doit étudier des réactions biologiques ou des réactions chimiques produisant des composés que l'on ne pouvait prévoir.

Summary. — A number of examples are given to illustrate the use of iodine vapour as an indicator in paper chromatography, this constituting a general method of great sensitivity and effectiveness, particularly in the study of biological or chemical reactions.

Zusammenfassung. — Anhand zahlreicher Beispiele wird gezeigt, dass die Verwendung von Joddämpfen bei der Entwicklung von Papier Chromatogrammen ein sehr empfindliches und sehr wirksames Verfahren darstellt, insbesondere wenn es sich um die Untersuchung biologischer oder chemischer Reaktion handelt, bei denen sich nicht voraussehbare Verbindungen bilden.

Quando si desidera effettuare la rivelazione di un cromatogramma su carta si possono presentare due generi di problemi e precisamente la scelta di un reattivo specifico per mettere in evidenza una sostanza determinata oppure quello di rivelare la presenza, specie in una miscela, di una o più sostanze non previste e probabilmente non note.

Dato che quest'ultimo caso si presenta frequentemente nella cromatografia di sostanze naturali e nello studio di reazioni biologiche o enzi-

(*) Comunicazione presentata al II Congrès International de Chimie Biologique - Parigi, luglio 1952.

matiche, un rivelatore generale può essere di grande interesse per svelare la presenza di sostanze senza ricorrere a una serie di rivelatori di gruppo o specifici.

Sotto questo aspetto i vapori di iodio si rivelano un reattivo generale molto indicato.

Il loro impiego era stato proposto fin dal 1950 da MARINI-BETTÒLO e GUARINO ⁽¹⁾, mentre precedentemente BRANTE ⁽²⁾ aveva impiegato lo iodio sia sotto forma di soluzione alcoolica che sotto forma di vapori per rivelare sostanze azotate ed in particolare le ammine.

Va tuttavia notato che mentre BRANTE avanzava l'ipotesi che le macchie fossero dovute a composti che si formano per azione dello iodio sulle ammine, MARINI-BETTÒLO e GUARINO hanno dimostrato che le macchie sono dovute alla differente capacità di fissarsi dei vapori di iodio sulla carta, essendo tale capacità legata alla struttura fisica della carta stessa e indipendente dalla natura dei prodotti chimici. Lo iodio infatti, come è noto, è un rivelatore prezioso di tutte le alterazioni chimiche e fisiche che si possono produrre su un foglio di cellulosa. Le prove effettuate con vapori di iodio (*) hanno dimostrato che è possibile con questo sistema rivelare la presenza non solo di sostanze azotate ma anche di composti che non contengono affatto azoto come gli acidi organici (acido ascorbico, acidi grassi, ossiacidi etc.) i fenoli e gli zuccheri.

In tal caso, a seconda delle quantità impiegate, lo sviluppo con vapori di iodio appare sia come una macchia chiara su fondo bruno sia come una macchia scura su fondo bruno (Fig. 1).

Uno dei vantaggi presentati da questo metodo consiste nella possibilità di ottenere nuovamente il cromatogramma originale per semplice esposizione all'aria e di potere quindi sottoporlo all'azione dei reattivi specifici.

Dato che lo iodio permette di rivelare qualsiasi tipo di sostanza è

⁽¹⁾ *Experientia* 6, 309 (1950).

⁽²⁾ *Nature* 163, 651 (1949).

(*) In pratica per rivelare un cromatogramma con vapori di iodio lo si espone in un ambiente chiuso ai vapori di iodio. A questo scopo si impiega una scatola di vetro — va bene per questo una vasca da accumulatori 20 × 30 × 45 cm — sul cui fondo si dispone, in un recipiente aperto, dello iodio metallico. A una temperatura di 20-25° si sviluppano vapori sufficienti a rivelare il cromatogramma.

Il tempo necessario per questa operazione va da un minimo di 5 minuti a diverse ore, a seconda della temperatura, della natura e della quantità di sostanza da rivelare, dei solventi impiegati nello sviluppo del cromatogramma, dalla grandezza stessa di questo. In media si può però calcolare siano sufficienti 10-15 minuti.

Le macchie sono nettamente visibili e fotografabili e non vengono nemmeno facilmente confuse con macchie accidentali provocate da impressioni digitali ecc. Siccome però tendono rapidamente a scomparire, conviene segnare subito le macchie con una matita, o fotografare subito il cromatogramma. Questo d'altra parte può venire esposto nuovamente ai vapori di iodio.

possibile applicare questo metodo con successo all'analisi di prodotti di reazioni biologiche durante le quali si formano spesso sostanze nuove.

WHITTAKER⁽³⁾ seguendo con la cromatografia su carta l'idrolisi della succinilcolina, dà dei dati molto interessanti per l'applicazione di questo metodo ad una reazione biologica. Egli ha potuto infatti mettere in evidenza la presenza dei diversi prodotti di degradazione della succinilcolina impiegando contemporaneamente il reattivo di FEIGL⁽⁴⁾ degli esteri e i vapori di iodio. Dato che con il reattivo di FEIGL, non è possibile

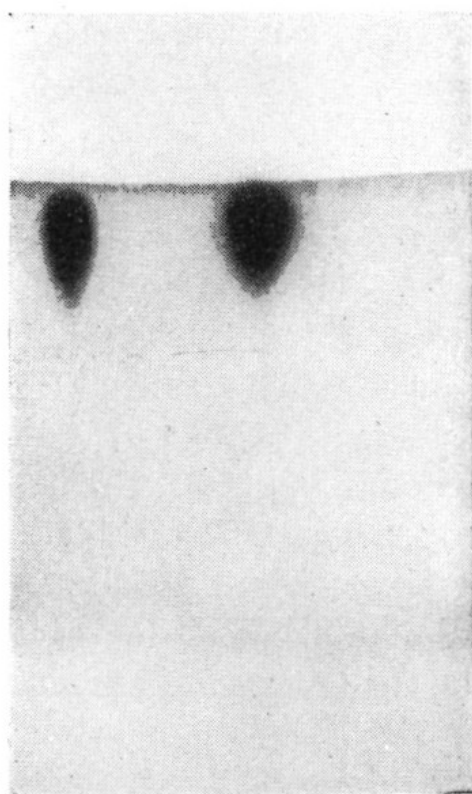


Fig. 1. - Rivelazione con vapore di iodio di una cromatografia su carta. Cromatografia ascendente: solvente Butanolo, acido acetico, acqua (4:1:3).

mettere in evidenza la colina, essa viene invece rivelata con vapori di iodio; in tal modo è possibile distinguerla dalla succinilmonocolina, che nelle condizioni dell'esperienza possiede un R_F molto vicino. Secondo WHITTAKER le macchie ottenute con i vapori di iodio risultano leggermente spostate rispetto a quelle che si ottengono con il reattivo di FEIGL, il che va probabilmente attribuito al fatto che nel secondo caso si manifestano processi di diffusione da parte del liquido nebulizzato sulla carta.

Con l'impiego della tecnica dei vapori di iodio è possibile studiare

⁽³⁾ *Experientia* 7, 217 (1951).

⁽⁴⁾ *Spot Test*: 3^a Ed., Elsevier 1947 - Amsterdam.

il comportamento cromatografico di alcune sostanze. Ad es. avendo effettuato la cromatografia discendente su carta di un campione di D-tartrato di d-l-N,N-dietil-N'-(2-tetralil) glicinammide, impiegando come solvente una miscela butanolo-acido acetico-acqua (45-5-50), nell'intento di studiare la possibilità di una separazione dei due antipodi ottici, la rivelazione con iodio ha mostrato due macchie.

La prima, che appare chiara su fondo scuro, R_F 0,26, è stata identificata con acido tartarico, sia in base al valore dell' R_F che a un confronto diretto con un campione di acido tartarico puro e la seconda R_F 0,91, scura su fondo chiaro, che va attribuita alla base.

In questo modo è stato possibile studiare anche il comportamento cromatografico di altri sali di basi ed acidi organici che con solventi acidi danno generalmente due macchie dovute rispettivamente all'anione e al catione.

I fosfati inorganici sfuggono all'impiego dei vapori di iodio in quanto in corrispondenza dei fosfati si hanno delle macchie bianche sulle quali non si fissano i vapori di iodio, il che impedisce di potere mettere in evidenza in alcune miscele biologiche altre sostanze eventualmente presenti.

La sensibilità del metodo, applicata agli acidi e ai fenoli ed agli zuccheri cioè a sostanze non azotate è di circa 20 μ g.

In seguito è stato osservato che si possono anche mettere in evidenza quantità minori di sostanze aumentando il tempo di esposizione ai vapori di iodio. Si riescono in tal modo a rivelare quantità di sostanze che vanno dal 1 a 2 μ g come nel caso dell'ammino-tetralina e dei suoi derivati.

I vapori di iodio consentono di rivelare oltre alle sostanze organiche anche numerosi ioni inorganici. Se si effettuano alcune separazioni di cationi sia secondo il metodo di POLLARD ⁽⁵⁾ che di MICHAEL LEDERER ⁽⁶⁾ e si sviluppa con iodio si hanno macchie molto nette, dalle quali si possono ricavare R_F del tutto rispondenti a quelli riportati da questi Autori con reattivi specifici.

Quanto è stato esposto ci porta ad ammettere che l'impiego dei vapori di iodio nella rivelazione dei cromatogrammi su carta, e particolarmente per ciò che riguarda le reazioni biologiche ed enzimatiche, costituisce un metodo efficace per la rapida identificazione di molte sostanze e che esso potrà essere molto utile in numerose applicazioni della cromatografia su carta.

Roma — Istituto Superiore di Sanità - Laboratorio di chimica terapeutica.

⁽⁵⁾ POLLARD et alii: J. Chem. Soc. 466 e 771 (1951).

⁽⁶⁾ Chromatographie - Hermann - Paris 1952.