

L'emploi du réactif de Folin en chromatographie et électrophorèse sur papier

Au cours de nos recherches sur le mécanisme de la détoxification par le formol¹, nous avons été amenées à préparer une base "Mannich"², en faisant agir le formol sur un mélange de α -N-acétyl-lysine et de α -N-acétyl-tyrosine. Le produit principal et les produits des réactions accessoires ont été analysés par chromatographie et par électrophorèse sur papier, avant d'être séparés sur une colonne de Chromax*.

La révélation sur papier des composés phénoliques ne pouvait pas être effectuée par la ninhydrine, le groupement α -aminé de la tyrosine étant substitué.

Le réactif de GERNGROSS³ proposé par ACHER ET CROCKER⁴ en 1952 pour révéler la tyrosine et ses dérivés, donne une coloration avec tous les phénols *para*-alkylés, à condition que les positions en *ortho* ne soient pas substituées.

Or dans une base "Mannich" préparée par action du formol sur un couple constitué par un composé aminé et un composé phénolique il y a substitution soit sur une des positions en *ortho* du noyau phénolique, soit sur les deux à la fois.

Pour révéler tous les composés phénoliques sans distinction, nous avons donc eu recours au réactif de Folin, bien connu des biochimistes.

Ce réactif fut proposé pour la première fois en 1912 par FOLIN ET DENIS⁵. Il donne une coloration bleue, en milieu alcalin, avec tous les phénols et leurs dérivés ayant la fonction -OH libre (et avec divers autres composés organiques).

Pour la préparation du réactif de Folin nous utilisons la formule de FOLIN ET CIOCALTEU⁶.

Nous révélons les produits phénoliques de la manière suivante: On pulvérise sur le papier le réactif de Folin dilué 1:5. On sèche à $T^{\circ} \leq 70^{\circ}$, puis on pulvérise une solution de carbonate de soude à 15% (anhydre)⁷.

Les produits révélés apparaissent en bleu foncé sur fond bleu pâle. On peut ainsi déceler sur papier, après chromatographie, 0.25 μ g de tyrosine et 0.5 μ g de α -N-acétyl-tyrosine et après électrophorèse des quantités deux fois plus faibles.

Appliqué à un hydrolysats protéique, le révélateur proposé présente l'inconvénient de donner une coloration bleue avec le tryptophane, en dehors de la tyrosine.

Service de Chimie Bactérienne**, Institut Pasteur,
Annexe de Garches, S. & O. (France)

JUDITH BLASS
Avec l'aide technique de
M. B. VICAIGNE

¹ J. BLASS, M. RAYNAUD ET B. BIZZINI, Recherches sur le mécanisme de détoxification par le formol, (à paraître).

² F. F. Blicke, *The Mannich Reactions*, dans *Organic Reactions*, Vol. 1 (R. ADAMS *et al.*), Wiley, New-York, 1942, p. 304.

³ O. GERNGROSS, K. VOSS ET H. HERFELD, *Ber.*, 66 (1933) 435.

⁴ R. ACHER ET C. CROCKER, *Biochim. Biophys. Acta*, 9 (1952) 704.

⁵ O. FOLIN ET W. DENIS, *J. Biol. Chem.*, 13 (1912) 245.

⁶ O. FOLIN ET V. CIOCALTEU, *J. Biol. Chem.*, 73 (1927) 627.

⁷ H. FRAENKEL-CONRAT ET B. SINGER, *Arch. Biochem. Biophys.*, 65 (1956) 296.

Reçu le 29 octobre 1962

* Appareil fourni par les Etablissements LKB.

** Professeur M. RAYNAUD.