

Phosphorescence à température ordinaire: un moyen sélectif et non destructif pour la détection de certains composés aromatiques en chromatographie sur papier et sur couche de cellulose

A très basse température, de nombreuses substances sont phosphorescentes; BORODINE *et al.*¹ ont utilisé cette propriété pour révéler des chromatogrammes sur papier qu'ils trempent dans l'air liquide et examinent ensuite sous le rayonnement d'une lampe de quartz. SAWICKI ET PFAFF² ont décrit l'analyse spectrophosphométrique de composés aromatiques sur des fragments de chromatogrammes sur papier ou sur couche mince.

Nous avons observé qu'à température ordinaire, après irradiation appropriée, certaines substances aromatiques émettent une phosphorescence visible lorsqu'elles sont adsorbées sur un support tel que la cellulose. On peut ainsi les mettre en évidence de manière très simple, ce qui se révèle utile pour l'examen de chromatogrammes sur papier ou sur couche de cellulose.

Mode opératoire

Le chromatogramme, séché, est examiné en chambre noire. On le place sous une lampe à basse pression de vapeur de mercure ayant son maximum d'émission à 254 nm (lampe germicide, par exemple). L'opérateur ferme les yeux afin qu'ils demeurent accommodés à l'obscurité et allume la lampe pendant 3 à 10 secondes. Au moment où il l'éteint, il retire le chromatogramme de dessous la lampe, ouvre les yeux et localise rapidement avec un crayon les taches phosphorescentes, dont la luminosité s'éteint en quelques secondes.

Résultats et discussion

La nature du support est importante. La phosphorescence s'observe avec des chromatogrammes ou électrophérogrammes sur papier (par exemple Whatman No. 1 ou Schleicher & Schuell No. 2043 A ou B), ainsi que sur couche mince de cellulose (Cellulose D, Camag S.A., Muttenz, Suisse). La phosphorescence est plus faible sur support de silice mêlée à de l'amidon (Gel de Silice S, Macherey & Nagel, Düren, Allemagne).

On n'obtient aucune phosphorescence avec des chromatogrammes sur couche mince dont le support est en Gel de Silice G (Merck, Darmstadt, Allemagne) ou de l'oxyde d'alumine (Serva, Heidelberg, Allemagne). De même, aucune phosphorescence n'est visible lorsque les substances sont examinées à l'état solide, sans support, ou lorsque le mode opératoire décrit plus haut est appliqué aux substances dissoutes dans l'eau ou le chloroforme. On peut donc admettre que l'adsorption sur un polysaccharide solide tel que la cellulose est nécessaire à la production d'une phosphorescence.

Les meilleurs résultats sont obtenus sur support en papier. Le papier présente lui-même une très faible phosphorescence, qui ne gêne pas l'examen des chromatogrammes. De tous les papiers pour chromatographie que nous avons examinés, aucun n'était entièrement dépourvu de phosphorescence.

Le Tableau I donne une liste de composés aromatiques ayant donné une phosphorescence, ainsi que la limite de sensibilité sur papier Schleicher et Schuell 2043 B et sur couche mince de Cellulose D.

TABLEAU I

PHOSPHORESCENCE DE COMPOSÉS AROMATIQUES

Substances	Limite de détection (μg)	
	Papier Schleicher & Schuell 3043 B	Couche mince de Cellulose D
Acide <i>p</i> -aminobenzoïque	0.1	0.1
2-Aminofluorène	0.5	0.5
L-Alanyl β -naphtylamide	0.1	0.3
L-Arginyl β -naphtylamide	0.5	1
L- α -Aspartyl β -naphtylamide	0.1	0.1
Benzidine	0.2	0.5
N, α -Benzoyl-L-arginyl β -naphtylamide	0.2	0.2
L-Cystinyl di- β -naphtylamide	50	20
2,7-Dihydroxynaphtalène	0.2	0.1
α -L-Glutamyl β -naphtylamide	0.1	0.1
L-Leucyl β -naphtylamide	0.2	0.2
L-Lysyl β -naphtylamide	0.1	0.1
α -Naphтол	0.5	1
β -Naphтол	0.2	0.5
β -Naphtylamine	0.5	5
<i>o</i> -Phénanthroline	1	5
L-Prolyl β -naphtylamide	0.5	1
L-Séryl β -naphtylamide	0.1	0.2

A l'exception de l'acide *p*-aminobenzoïque, dont la phosphorescence est bleue, toutes les substances phosphorescentes mentionnées dans ce tableau, de même que les papiers, ont une phosphorescence jaune-vert.

L'acide *p*-aminobenzoïque et le L-alanyl β -naphtylamide ont été soumis à une étude spectrophosphorimétrique (par séparation, dans le temps, de la phase d'excitation par la lampe au xénon d'avec la mesure d'intensité de phosphorescence). Nous avons utilisé un spectrofluorimètre Farrand.

L'échantillon, constitué par un morceau de papier imprégné d'une solution de la substance à examiner et séché, a été placé sur le support pour échantillons solides. Les longueurs d'ondes maximum d'excitation et de phosphorescence observées furent respectivement de 310 et 450 nm pour l'acide *p*-aminobenzoïque et de 290 et 530 nm pour l'alanyl β -naphtylamide.

Les substances suivantes, déposées sur papier, n'ont pas présenté de phosphorescence après irradiation par une lampe à vapeur de mercure à basse pression: carbobenzoxy-L-leucyl β -naphtylamide, *p*-tosyl-arginyl β -naphtylamide, fluorescéine, 8-hydroxyquinoléine, *o*-phénylènediamine, *p*-phénylènediamine, rhodamine B, 5-amino-acridine, chrysène, diphénylamine, acide folique.

Parmi les substances mentionnées dans le Tableau I, certaines, comme les acyl β -naphtylamides, ne sont pas fluorescentes. Leur détection sur les chromatogrammes par examen de leur phosphorescence constitue donc un moyen de mise en évidence intéressant, puisqu'il ne les altère pas et permet de les récupérer par élution en vue d'autres opérations analytiques. Le procédé est en outre assez sélectif. De nombreuses substances fluorescentes, notamment, ne présentent pas de phosphorescence dans les conditions décrites.

Le fait que la phosphorescence ne se produit que si la substance est adsorbée par un support est peut-être explicable par une augmentation de stabilité produite par une interaction physicochimique avec la cellulose.

Remerciements

Nous remercions Mlles S. JACCOUD et S. WIEDERHOLD de leur précieuse collaboration.

La présente étude a été faite dans le cadre d'investigations bénéficiant de l'aide du Fonds national suisse pour la Recherche scientifique.

*Laboratoire central, Hôpital cantonal,
1211 Genève 4 (Suisse)*

MARC ROTH

- 1 N. S. BORODINE, E. A. GALASHINE, N. A. SEMYAKINA ET V. N. SILAEVA, *Metody Lyuminescentn: Analiza, Sbornik (URSS)*, 1960, p. 81.
- 2 E. SAWICKI ET J. D. PFAFF, *Anal. Chim. Acta*, 32 (1965) 521.

Reçu le 14 mars 1967

J. Chromatog., 30 (1967) 276-278

Paper chromatographic separation of adenine metabolites: purine bases, nucleosides, and nucleotides

During work on the fate of 8-¹⁴C-adenine in the isolated rat diaphragm, it was necessary to obtain a paper chromatographic separation of a mixture of numerous substances of different chemical types (purine bases, nucleosides, and nucleotides), with cleanly separated spots so as to permit both their identification and the measurement of their radioactivity with a chromatoscanner.

It was not possible to obtain this by using one-dimensional chromatography with the solvents reported in the literature¹⁻⁶. In addition the R_F values of only some of the substances of interest in the aforementioned research were reported in the literature (and at times the values of different workers did not agree).

In the present work the R_F values have been determined with reference substances dissolved in water or in the saline solution in which the samples to be analyzed were chromatographed. Further, the authors preferred to couple solvent systems already described in the literature for one-dimensional chromatograms in order to obtain a two-dimensional chromatogram which gives greater resolution.

Experimental

Paper chromatography. Descending development on Whatman No. 1 paper in a tank kept in a thermostated room (temperature 18° + 2°) was used. The size of the one-dimensional chromatogram was 53 × 31 cm; the two-dimensional chromatogram was 46 × 41 cm. Samples were placed at 8.5 cm from the edge of the papers.

J. Chromatog., 30 (1967) 278-283