
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

FULVIO CACACE, GIORGIO PEREZ

Analisi radio gas cromatografica ad eluizione interrotta di molecole organiche marcate

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 44 (1968), n.3, p. 420–426.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1968_8_44_3_420_0>

L'utilizzo e la stampa di questo documento digitale è consentito liberamente per motivi di ricerca e studio. Non è consentito l'utilizzo dello stesso per motivi commerciali. Tutte le copie di questo documento devono riportare questo avvertimento.

*Articolo digitalizzato nel quadro del programma
bdim (Biblioteca Digitale Italiana di Matematica)
SIMAI & UMI*

<http://www.bdim.eu/>

Radiochimica. — *Analisi radio gas cromatografica ad eluizione interrotta di molecole organiche marcate* (*). Nota di FULVIO CACACE e GIORGIO PEREZ, presentata (**) dal Corrisp. G. GIACOMELLO.

SUMMARY. — A new technique for the gas chromatographic analysis of labeled organic compounds has been developed. The method is based on the interruption of the elution, in a suitably designed gas chromatograph, which allows each radioactive peak to be individually trapped within a large volume detector, to be counted for a time which is much longer than in the conventional, continuous-flow analysis. The advantages of the new method and its application to the analyses requiring the combustion of the radioactive effluents are discussed.

INTRODUZIONE.

L'analisi gas cromatografica di composti marcati con isotopi radioattivi è divenuta in questi ultimi anni un mezzo di indagine di estrema utilità e di uso crescente in svariati campi di ricerca, tra i quali lo studio della chimica delle radiazioni, degli effetti chimici delle trasformazioni nucleari (hot atom chemistry), della cinetica e meccanismo di reazioni organiche, della biochimica, ecc. [1-9]. La ragione principale che favorisce l'applicazione di questa tecnica è la sua elevatissima sensibilità: è infatti possibile rilevare, in ogni singolo componente di una miscela complessa, solo 4-5000 molecole marcate con un isotopo a vita breve come il ^{14}C (semiperiodo 20 minuti). Anche con un isotopo di vita relativamente lunga, come il tritio, è agevole svelare in un singolo picco quantità di composto marcato corrispondenti a 6×10^{-12} g, se si assume un peso molecolare di circa 200. La tecnica più generalmente adottata per questo tipo di analisi, come risulta da recenti rassegne sull'argomento [4, 9] consiste nel far passare con continuità gli effluenti dalla colonna gas cromatografica in un rivelatore di massa ed in un rivelatore di radioattività disposti in serie, in modo da misurare simultaneamente la concentrazione e la radioattività di ogni componente della miscela esaminata. La misura continua risulta particolarmente conveniente per l'elevato potere risolutivo, per la rapidità dell'analisi e per la possibilità, essenziale in molti tipi di ricerca, di svelare e determinare composti radioattivi presenti in tracce imponderabili (composti « carrier-free »). Tutte le apparecchiature sperimentali di questo tipo, che differiscono essenzialmente per il tipo di rivelatore impiegato (camera di ionizzazione, contatore Geiger, proporzionale, a scintillazione ecc.), risentono però severamente della neces-

(*) Lavoro eseguito presso il Centro Nazionale di Chimica delle Radiazioni e Radioelementi del C.N.R., Istituto di Chimica Farmaceutica dell'Università di Roma.

(**) Nella seduta del 9 marzo 1968.

saria brevità del tempo di transito del picco radioattivo attraverso il volume sensibile del rivelatore. La brevità del tempo di misura, che è imposta dalla necessità di assicurare all'analisi un sufficiente potere risolutivo, ne limita però in modo determinante la sensibilità e la accuratezza.

Inoltre, poiché il tempo di misura dipende dalla velocità della corrente gassosa proveniente dal gas cromatografo, le irregolarità del flusso stesso, che spesso si verificano proprio durante l'eluizione di un picco, influiscono direttamente sull'efficienza del rivelatore, provocando errori notevoli [10].

Queste considerazioni ci hanno indotto alla ricerca di un nuovo metodo che, conservando le caratteristiche di risoluzione e di convenienza dell'analisi a flusso, permettesse però di elevarne l'accuratezza al livello delle migliori analisi statistiche di radioattività.

La soluzione al problema è stata trovata nell'applicazione alla radio gas cromatografia del principio dell'eluizione interrotta, che si era già dimostrato utile per l'analisi dello spettro di massa ed infrarosso di effluenti cromatografici [11, 12].

PARTE SPERIMENTALE.

L'apparecchiatura adoperata per l'analisi di composti tritiati a basso p.e. consiste in un gas cromatografo (Modello B della C. Erba, Milano) opportunamente modificato mediante l'inserzione di due rubinetti costruiti in acciaio inossidabile e Teflon, a monte e a valle della colonna cromatografica, in modo da poterla isolare durante l'interruzione della eluizione. Dopo l'iniezione della miscela da analizzare, ed allorché la cella a termococonduttività dell'apparecchio (o, nel caso di composti carrier-free, una camera di ionizzazione ausiliaria da 10 ml) indica la completa eluizione di un picco dalla colonna, quest'ultima viene isolata e l'eluizione degli altri picchi risulta così sospesa. Il picco eluito è trasportato mediante una corrente di gas di conteggio nell'interno di un rivelatore di radioattività di grande volume, nel nostro caso una camera di ionizzazione di 2,5 litri, munita di rubinetti e collegata ad un elettrometro Keithly Mod. 510 B. Allorché tutto il gas radioattivo è penetrato nel volume sensibile della camera, come indicato dal livello costante raggiunto dalla corrente di ionizzazione, i rubinetti sono chiusi e la misura di radioattività ha inizio. Controlli effettuati applicando una camera di ionizzazione ausiliaria all'uscita del rivelatore da 2,5 litri, hanno mostrato che è possibile intrappolare in modo quantitativo anche picchi piuttosto larghi senza che si verifichino perdite di radioattività all'uscita del rivelatore.

Una volta effettuata la misura, la camera è lavata con una vivace corrente del gas di conteggio finché l'attività che essa misura è tornata al livello iniziale (fondo), poi l'eluizione del cromatogramma è ripresa aprendo i rubinetti che isolavano la colonna.

Una modifica dell'apparecchiatura, utile per l'analisi di composti tritiati altobollenti, consiste nella inserzione di un tubo di reazione tra l'uscita del rivelatore a termococonduttività e la camera di ionizzazione.

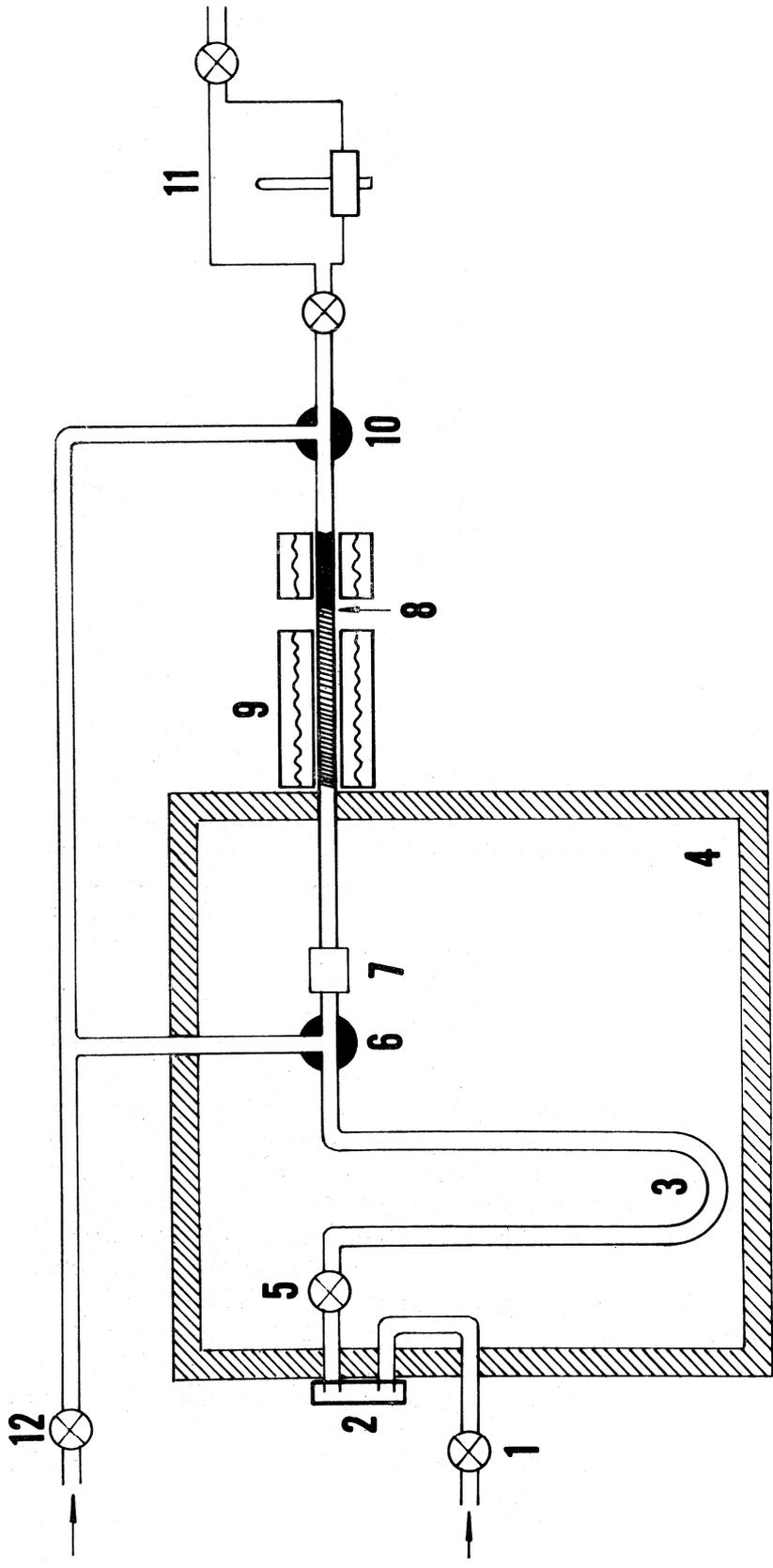


Fig. 1.

In questa disposizione, illustrata dettagliatamente in fig. 1, i composti eluiti dalla colonna sono intrappolati per un periodo conveniente di tempo, mentre l'eluizione degli altri picchi è interrotta, nel tubo di reazione dove sono sottoposti ad una ossidazione su CuO a 720°C, che trasforma in acqua l'idrogeno in essi contenuto. L'acqua è a sua volta fatta passare nella seconda sezione del reattore, contenente zinco supportato da Celite C 22, a 420°C [13-16] e ridotta ad idrogeno. Completata la combustione, il gas radioattivo (HT) è trasportato nella camera di ionizzazione da una corrente di gas di lavaggio (azoto, argon, ecc.) contenente una piccola percentuale di idrogeno. Quest'ultimo, attraversando il tubo di reazione, trascina ogni traccia di tritio adsorbito sui reattivi e nelle pareti del tubo stesso, ed elimina così totalmente gli « effetti memoria » sempre riscontrati nelle combustioni di composti tritati [14].

La misura della radioattività del picco è effettuata in condizioni statiche per un adeguato periodo di tempo, come descritto in precedenza per i composti a basso p.e.

RISULTATI E DISCUSSIONE.

La tecnica della radio gas cromatografia ad eluizione interrotta è stata applicata all'analisi di composti tritati a basso p.e., analizzando miscele gassose a composizione nota, contenenti HT insieme a vari idrocarburi tritati. I risultati, paragonati nella Tabella I e nella fig. 2 a quelli di una normale analisi radio gas cromatografica a flusso, mostrano il notevole incremento di sensibilità (circa 10 volte) e di precisione (circa 3 volte) ottenibile con la nuova tecnica.

TABELLA I.

Analisi di miscele di gas radioattivi mediante radio gas cromatografia a flusso continuo e ad eluizione interrotta.

Miscela N.	Metodo di analisi	Determinazioni N.	Attività percentuale			
			HT	C ₂ H ₅ T	C ₃ H ₇ T	i-C ₄ H ₉ T
1	eluizione continua	16	1,65±0,16	0,96±0,11	21,8±2,00	76,1±1,40
1	eluizione interrotta	24	1,80±0,07	0,96±0,04	21,4±0,60	75,8±0,70
2	eluizione interrotta	17	7,26±0,35	3,96±0,17	88,8±0,60	—
3	eluizione interrotta	5	2,39±0,07	1,26±0,03	—	96,4±0,10
4	eluizione interrotta	11	64,60±0,90	35,40±0,80	—	—

Vantaggi ancora più notevoli si ottengono nell'analisi di composti tritati ad alto punto di ebollizione, per i quali è necessario provvedere alla conversione in HT del composto marcato eluito dalla colonna. Grazie all'interruzione

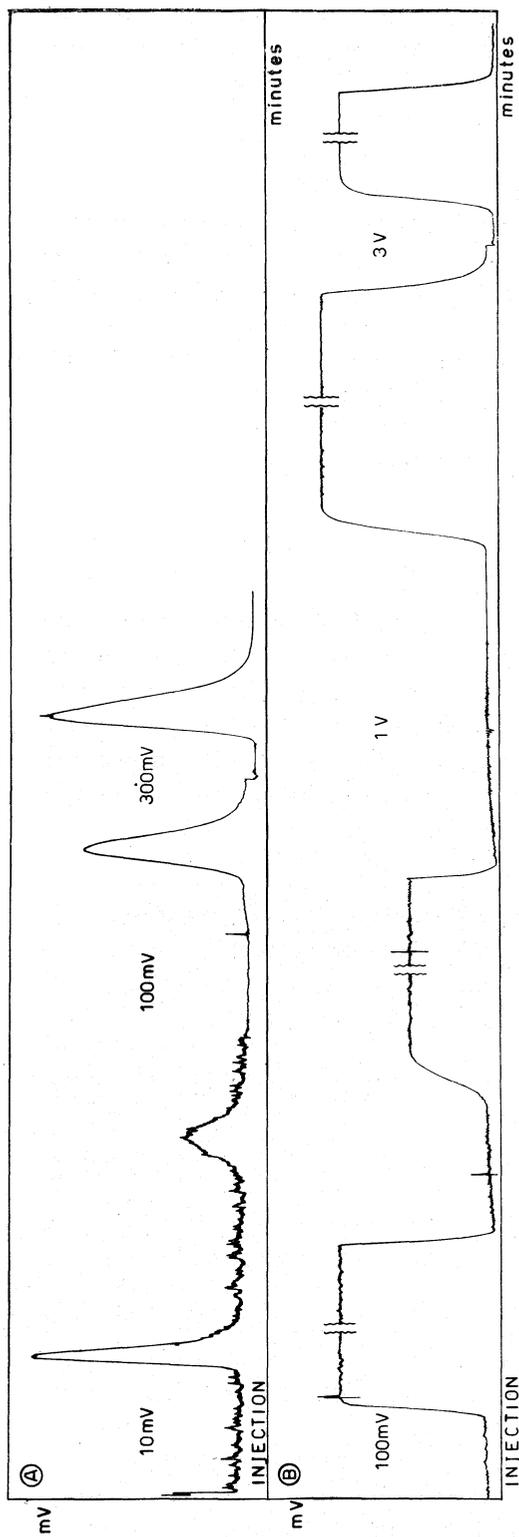


Fig. 2.

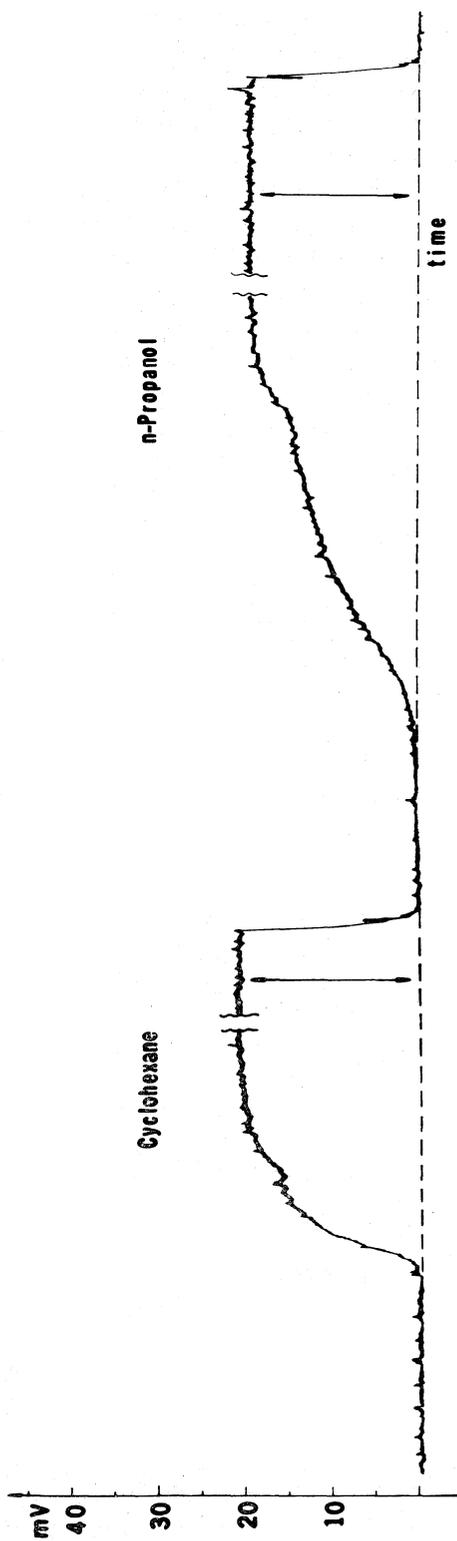


Fig. 3.

della eluizione, la permanenza del campione nel tubo di reazione può essere prolungata per un periodo sufficiente a garantirne la completa conversione. Inoltre, il lavaggio del tubo di reazione con una corrente di gas contenente idrogeno inattivo rimuove totalmente dalle pareti del tubo e dai reattivi (specie dallo zinco) le tracce di HT che generalmente restano su di essi adsorbite e che provocano, nelle consuete analisi a flusso, l'aumento del « fondo » radioattivo e l'insorgere di notevoli effetti « memoria ».

Grazie alla interruzione dell'eluizione, resta invece possibile introdurre nel rivelatore di radioattività la totalità dell'HT corrispondente ad ogni picco attivo, ed è inoltre agevole riprendere l'analisi dei restanti componenti solo quando la decontaminazione del tubo di reazione e del rivelatore è completa. I risultati ottenuti nell'analisi di miscele a composizione nota di cicloesano e *n*-propanolo tritiati illustrati nella Tabella II e nella fig. 3, dimostrano la notevole precisione ed accuratezza (dell'ordine del 2-3 %) raggiungibili con la nuova tecnica.

TABELLA II.

Analisi di miscele di cicloesano e n-propanolo tritiati mediante gas cromatografia ad eluizione interrotta con combustione degli effluenti.

Miscela N.	Numero di determinazioni	Rapporto misurato cicloesano/ <i>n</i> -propanolo	Rapporto effettivo cicloesano/ <i>n</i> -propanolo	Errore
1	22	0,928 ± 0,023	0,900	3,1%
2	21	1,020 ± 0,040	1,040	1,9%

Infine, prove appositamente istituite hanno dimostrato che durante la sospensione della eluizione, la risoluzione dei componenti rimasti chiusi nella colonna non viene seriamente compromessa. Così, ad esempio, si è trovato che nell'analisi di composti altobollenti su colonne impaccate lunghe un metro, la risoluzione è diminuita soltanto del 10 % circa, per un periodo di sospensione dell'eluizione di 20 minuti, notevolmente superiore a quelli utilizzati in pratica.

Dai risultati ottenuti, sembra di poter concludere che la tecnica descritta aumenta in modo significativo la già notevole sensibilità ed accuratezza della radio gas cromatografia.

BIBLIOGRAFIA.

- [1] F. CACACE, « *Nucleonics* », 19 (5), 45 (1961).
- [2] H. W. SCHARPENSEEL e K. H. MENKE, « *Z. Anal. Chem.* », 180, 81 (1961).
- [3] H. W. SCHARPENSEEL, « *Angew. Chem.* », 73, 615 (1961).
- [4] J. P. ADLOFF, « *Chromatog. Rev.* », 4, 24 (1962).
- [5] H. W. SCHARPENSEEL, *Tritium in the Physical and Biological Sciences*, vol. I, p. 281, (IAEA, Vienna 1962).

- [6] F. DRAWERT e O. BACHMANN, « *Angew. Chem.* », 75, 717 (1963).
- [7] A. T. JAMES, *New Biochemical Separations*, p. 1 (Van Nostrand, Londra 1964).
- [8] A. KARMEN, « *J. Assoc. Offic. Agr. Chemists* », 47 (1) 15 (1964).
- [9] J. ADLOFF, « *Chromatog. Rev.* », 7, 53 (1965).
- [10] G. STÖCKLIN, F. CACACE e P. A. WOLF, « *Z. Anal. Chem.* », 194, 406 (1963).
- [11] R. P. SCOTT, F. A. FOWLIS, D. WELTI e T. WILKNIS, « *Gas Chromatography 1966* », p. 318 (Institute of Petroleum, London 1967).
- [12] F. CACACE e G. PEREZ, « *Anal. Chem.* », 39, 1863 (1967).
- [13] F. CACACE, R. CIPOLLINI e G. PEREZ, « *Science* », 132, 1253 (1960).
- [14] F. CACACE, R. CIPOLLINI, G. PEREZ e E. POSSAGNO, « *Gazz. Chim. Ital.* », 91, 804 (1961).
- [15] F. CACACE, R. CIPOLLINI e G. PEREZ, « *Anal. Chem.* », 35, 1348 (1963).
- [16] A. KARMEN « *J. Gas Chromatog.* », 5, 502 (1967).