

*Mise en place d'une méthodologie de
transposition TLC à HPTLC au Laboratoire
d'analyse*

ORIL Industrie – Développement Analytique

Myriam MEHSEN-NDOMBI

❖ *Sommaire*

- Pourquoi mettre en place une méthodologie au sein du Laboratoire?
- Comparaison TLC/HPTLC
- Les paramètres à prendre en compte pour la transposition
- Exemple d'application : vérification de nettoyage
- Conclusion

❖ *Pourquoi mettre en place une méthodologie au sein du Laboratoire ?*

- Promouvoir un retour à l'utilisation de la technique de chromatographie sur couches minces,
- Utiliser l'ensemble des équipements associés, disponibles au Développement Analytique,
- Avoir à disposition une technique :
 - Rapide,
 - Sensible,
 - Complémentaire à l'HPLC!!

❖ *Comparaison TLC/HPTLC*

	<i>TLC</i>	<i>HPTLC</i>
<i>Dimensions plaque (mm)</i>	20x20 ou 10x20	10x10 ou 20x10
<i>Distance migration (mm)</i>	120	50
<i>Répartition granulométrique</i>	Large (12 μ m)	Etroite (5 μ m)
<i>Quantité déposée (μg)</i>	100	20

❖ *Paramètres*

- **Choix de la plaque**
- Préparation de la plaque
- Le dépôt
- La migration
- La lecture

❖ *Choix de la plaque*

<i>Polarité</i>	<i>Normale</i>	<i>Intermédiaire</i>	<i>Inverse</i>
<i>Phase</i>	Si	Diol NH2 CN	RP2 RP8 RP18W RP18

❖ *Paramètres*

- Choix de la plaque
- Préparation de la plaque
- Le dépôt
- La migration
- La lecture

❖ *Préparation préalable de la plaque*

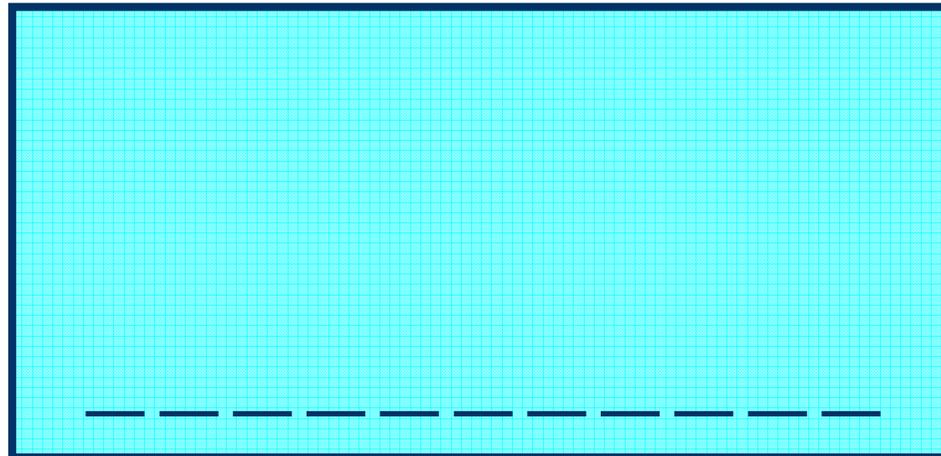
- Migration « à blanc » avec du Méthanol ou Isopropanol,
- Séchage : 20min à 120°C
- Refroidissement dans un dessiccateur avant emploi.

❖ *Paramètres*

- Choix de la plaque
- Préparation de la plaque
- **Le dépôt**
- La migration
- La lecture

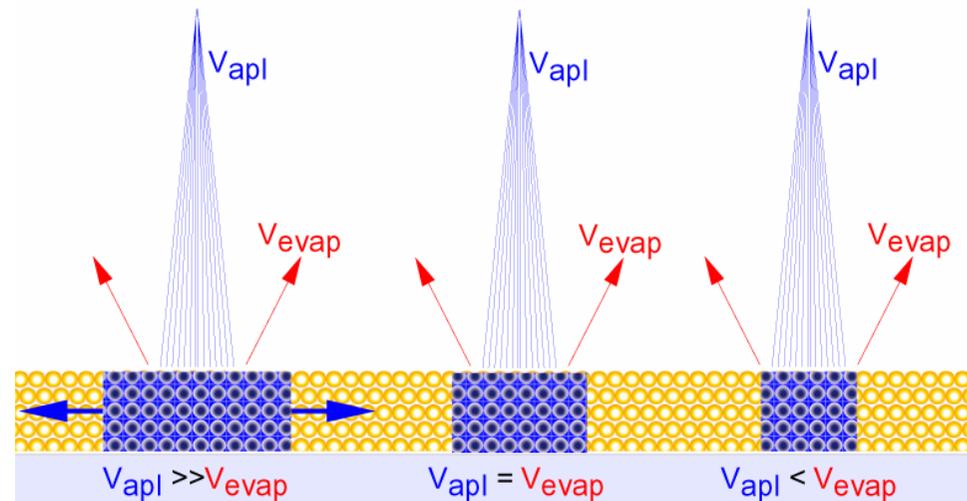
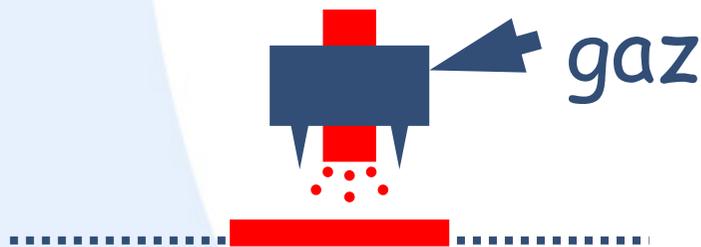
❖ *Le dépôt*

- Position du dépôt
 - 2 ou 3 mm au-dessus du niveau du solvant
 - 1 à 2 cm des bords de la plaque



❖ *Le dépôt*

- Type de dépôt
 - Bandes de 6 ± 2 mm
 - Spray avec $V_{\text{dépôt}} < V_{\text{évaporation solvant}}$
- Séchage des dépôts



❖ *Paramètres*

- Choix de la plaque
- Préparation de la plaque
- Le dépôt
- **La migration**
- La lecture

❖ *Migration*

- Type de cuve
 - Double bacs (20 x 10cm)
 - Rappels :
 - saturation de la cuve (10 à 20min) avec papier filtre
 - Bac 1 : la plaque / Bac 2 : papier filtre



- Sans saturation de la cuve



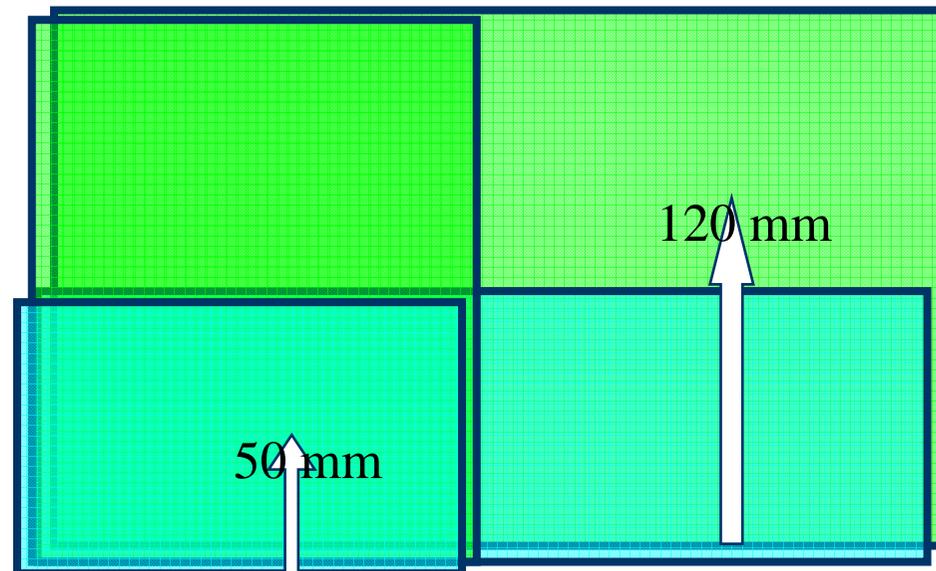
- Avec saturation de la cuve et pré conditionnement de la plaque



- Avec saturation de la cuve

❖ *Migration*

- Distance de migration
 - Plaque de 10cm :
 $d = 5\text{cm}$



❖ *Paramètres*

- Choix de la plaque
- Préparation de la plaque
- Le dépôt
- La migration
- **La lecture**

❖ *Lecture de la plaque*

- Visuelle
 - Choix de la longueur d'onde limité
 - Subjectif...
- Densitomètre :
 - Choix de la longueur d'onde la plus adaptée,
 - Objectivité de la lecture

❖ *Le matériel disponible au DA*

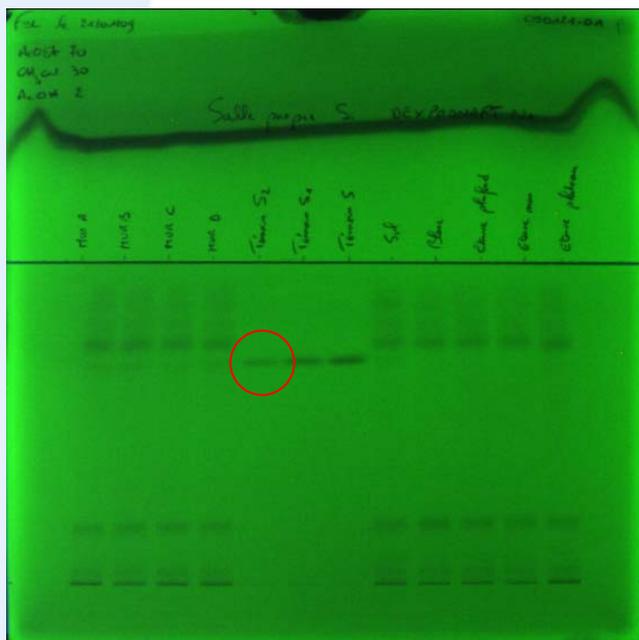
- Déposeur Camag ATS4
- Numériseur
- Densitomètre
- Système AMD



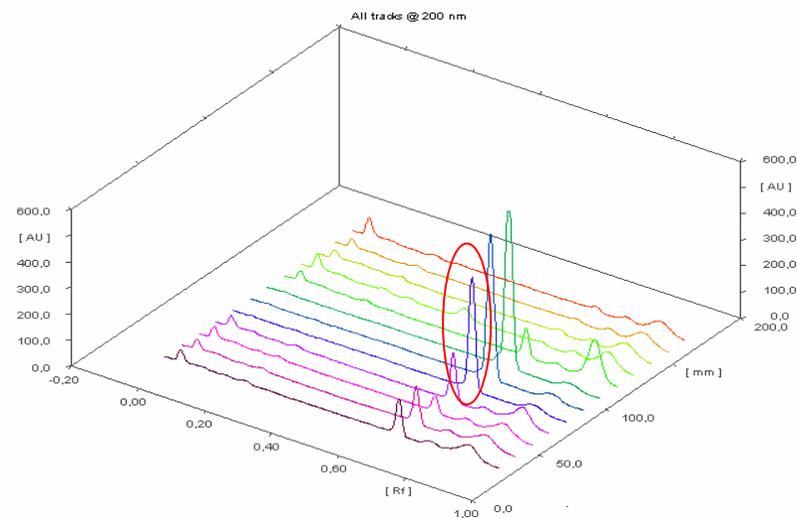
❖ *Exemple d'application : vérification de nettoyage*

- Vérification de « salle propre » : salle de conditionnement des principes actifs pharmaceutiques.
- Test aux limites => sélectivité, sensibilité
- Réponse rapide nécessaire

❖ Méthode TLC



❖ Méthode transposée (HPTLC)



❖ *Conclusion*

- Transposition relativement simple
- Gains notables pour les laboratoires analytiques
 - Séparation 4 x plus rapide
 - Améliorations de la sensibilité et résolution
 - Choix élargis du mode de lecture
 - Bon rapport coût / performance
- Complémentaire à l'HPLC!!



Méthodologie de transposition TLC => HPTLC

Direction de la Technologie

Merci pour votre attention