

Club de Chromatographie sur Couche Mince

15^{ème} année _ 26^{ème} réunion



2^{ème} Atelier HPTLC-SM :
retour d'expérience, intérêt,
performances, possibilités et limites

Atelier HPTLC-SM



Introduction

Practical experience , by Suzanne Minarik, Merck
Darmstadt

Contributions des utilisateurs

Etat des lieux sur les problématiques

Possibilités et souhaits d'évolution


Conclusions



Tous les couplages avec l'HPTLC...

Journal of Chromatography A, 1217 (2010) 6600–6609

Contents lists available at ScienceDirect

 **Journal of Chromatography A**

journal homepage: www.elsevier.com/locate/chroma

Review

Hyphenations in planar chromatography

Gertrud Morlock*, Wolfgang Schwack

University of Hohenheim, Institute of Food Chemistry, Garbenstrasse 28, 70599 Stuttgart, Germany

ARTICLE INFO

Article history:
Available online 20 May 2010

Keywords:
Mass spectrometry
High-performance thin-layer chromatography
Effect-directed analysis
Bioassays

ABSTRACT

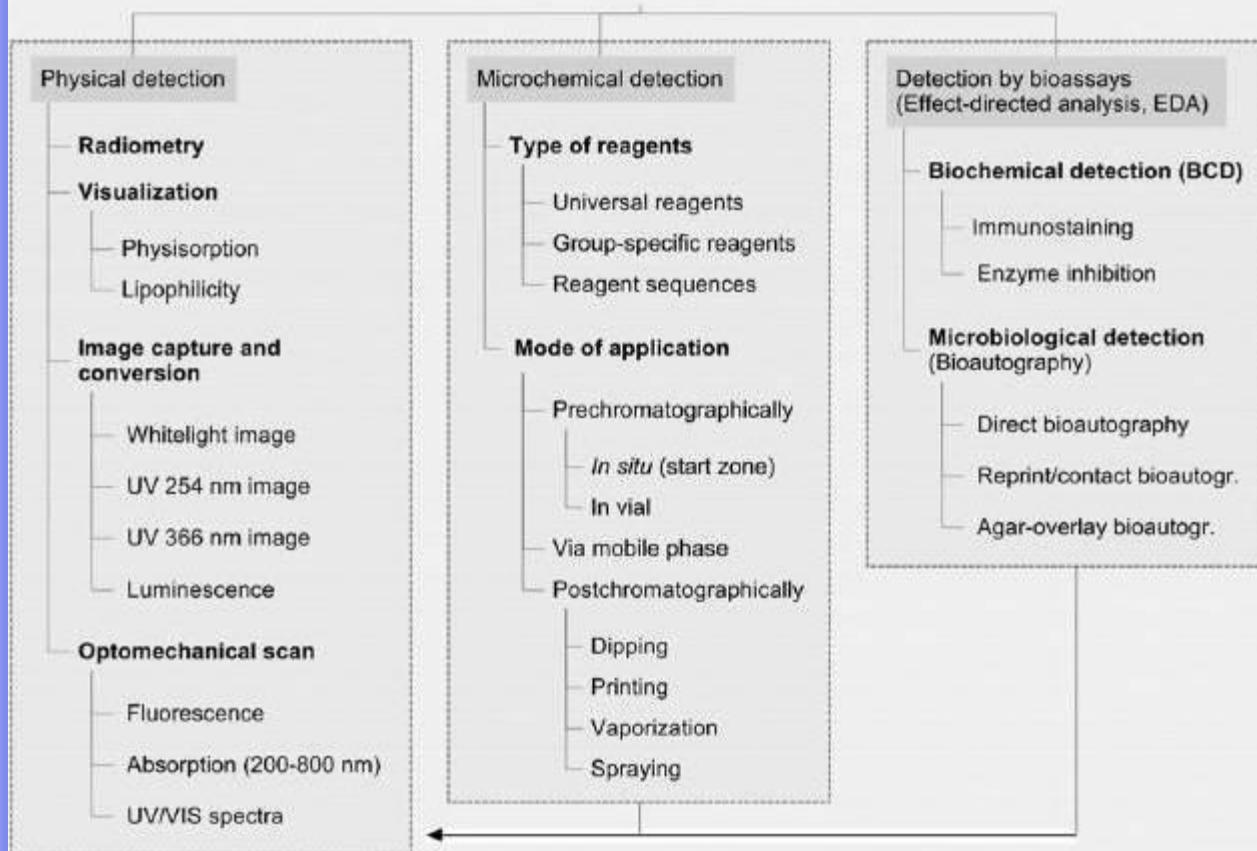
This review is focused on planar chromatography and especially on its most important subcategory high-performance thin-layer chromatography (HPTLC). The image-giving format of the open, planar stationary phase and the post-chromatographic evaporation of the mobile phase ease the performance of various kinds of hyphenations and even super-hyphenations. Examples in the field of natural product search, food and lipid analysis are demonstrated, which point out the hyphenation with effect-directed analysis (EDA) and mass spectrometry and illustrate the efficiency gain. Depending on the task at hand, hyphenations can readily be selected as required to reach the relevant information about the sample, and at the same time, information is obtained for many samples in parallel. The flexibility and the unrivalled features through the planar format valuably assist separation scientists.

- HPTLC-UV/Vis/FLD-MS [13,14],
- HPTLC-UV/Vis/FLD-bioactivity-HRMS [15],
- HPTLC-UV-FTIR [16,17],
- HPTLC-UV/Vis/FLD-FTIR ATR [18],
- TLC-Vis-SERS [12].

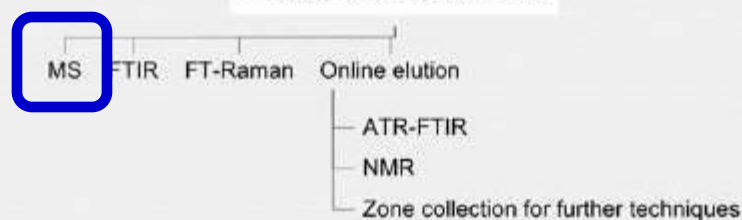
“the main difference is : with HPLC, after separation, samples go to the waste; with HPTLC, after separation, samples remain on the dried plate” (G.Morlock, HPTLC’11)



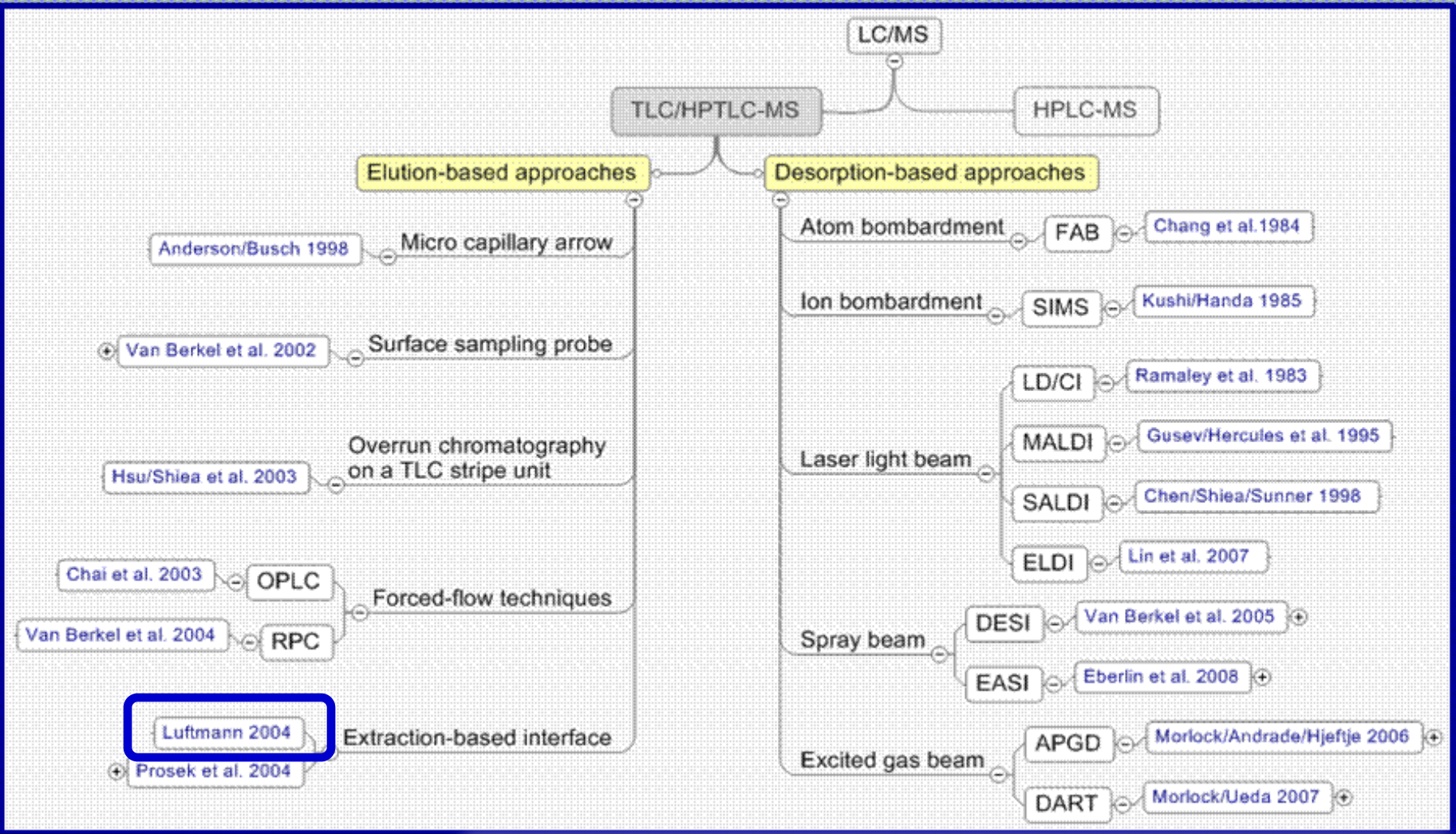
1. Multiple detection *in situ*



2. Identification *in situ*

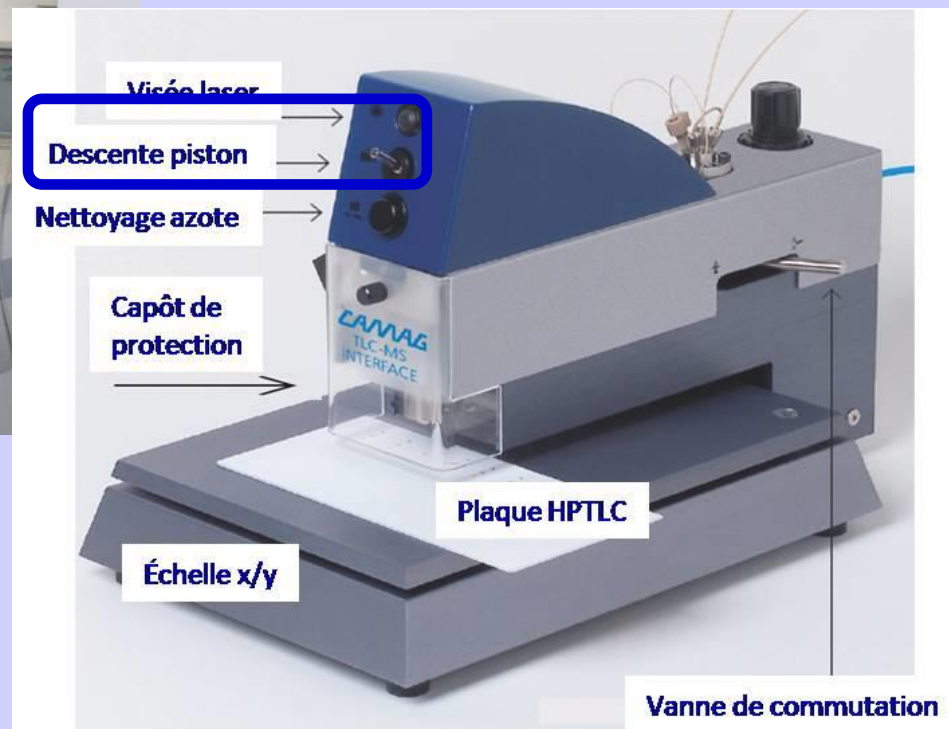


G.Morlock, JCA 1217
(2010) 6600-6609



G.Morlock, Analytica 2008 "Separations in a 3/8 time (3/8 min) with 300 μ L as dancing partner or 1000 runs per day"

Interface d'élution HPTLC-MS

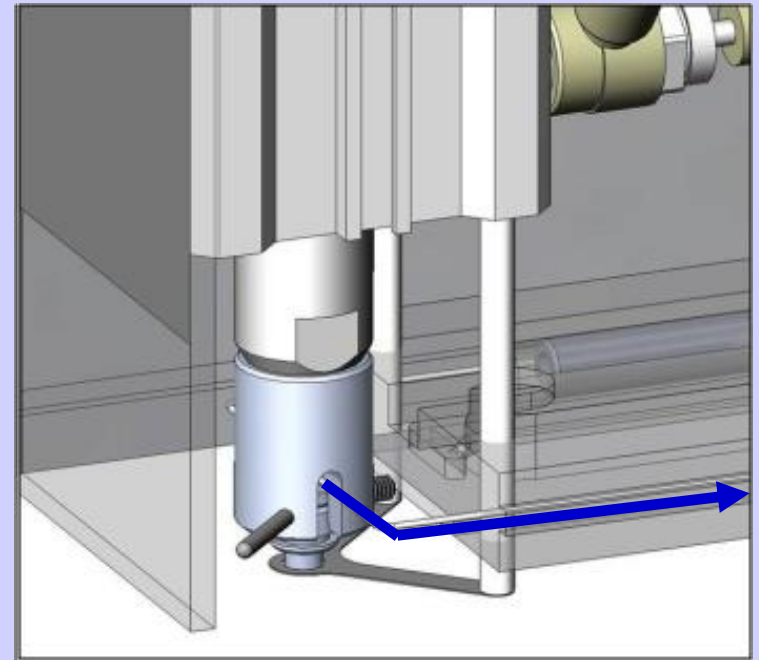


L'interface se connecte entre l'HPLC et le spectromètre de masse (n'importe quel fabricant), à la place, ou avant la colonne.

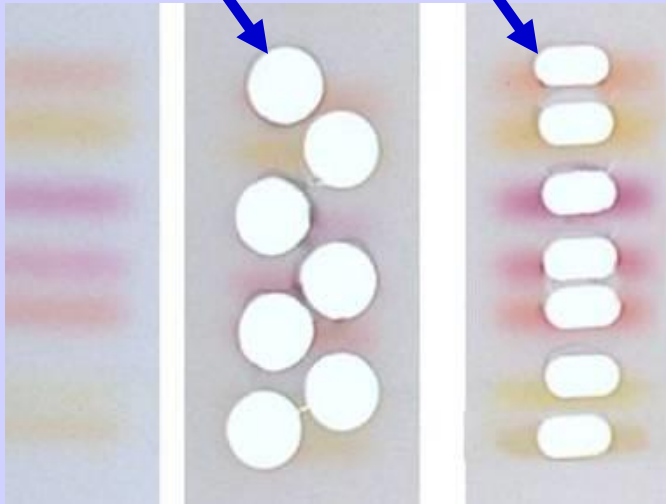
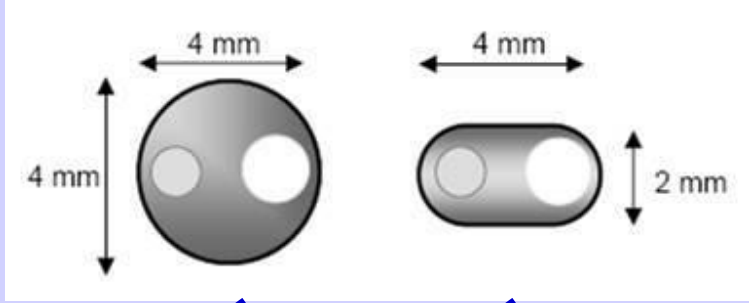
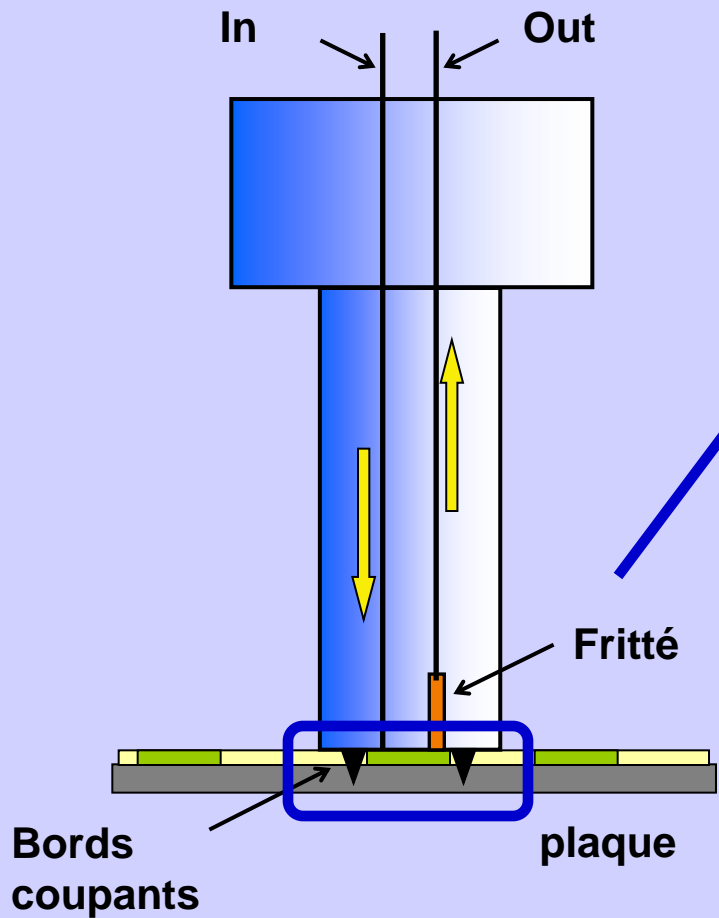
Etapes de l'élution



- positionnement de la plaque
- descente du piston
- basculement de la vanne 6 voies (by-pass -> élution)
- retour de la vanne en by-pass
- remontée du piston
- nettoyage par aspiration
- nettoyage par back-flush



Principe du piston (brevet)



- 3 types de pistons:
analytique rond ou ovale et
préparatif (plaques 500µm)

Avantages



- universel (toutes marques de couplages LC-MS)
- sensible (l'ensemble du spot 2x4 mm ou 4mm dia.)
- rapide (une minute environ)
- simple et fiable (seulement N2)
- couplage on-line MS et off-line collection de fraction

Inconvénients



- précision de la localisation du spot (il existe une table mobile)
- élution ou pas en fonction du Rf (Rf0 ?)
- doit être fait avant la révélation (duplication)
- déclenchement manuel/interfaçage avec logiciel de SM

Maintenance et précautions



- retrait de l'excès de silice par aspiration (N2); prévoir le nettoyage + graissage du tiroir si il se bloque.
- protection de la source par fritté IDEX en ligne (Upchurch)
- rinçage par back-flush manuel par déconnexion reconnexion ou semi-automatisé par seconde vanne 4 voies en série (éventuellement automatisée)

Pourquoi cela ne fonctionne pas ?



Le produit n'est soit pas élué soit pas détecté

1 pas élué : deux cas possibles

- si le R_f est trop bas il se peut que le solvant ne soit pas assez éluant. Ceci est assez rare compte tenu des solvants utilisés habituellement (MeOH ou ACN + eau + acide) très éluant.

- le système de prélèvement est (partiellement) bouché et on voit une auréole de solvant sous le piston

2 pas détecté : voir le risque de difficulté d'ionisation, ou la limite de détection, ...

L'avis des utilisateurs en France



28 (+) interfaces installées, 21 sont déjà utilisées

1 à 50 utilisateurs et 1 à 200 analyses/mois/interface
Satisfaction entre 2 et 5/5 ... selon si les utilisateurs
rincent en back-flush ou pas le système régulièrement.

Matériels variés (marques et types)

Utilisation variée (chimie, plantes, et autres)

Structures variables (industrie ou académique,
laboratoire ou plate-forme)

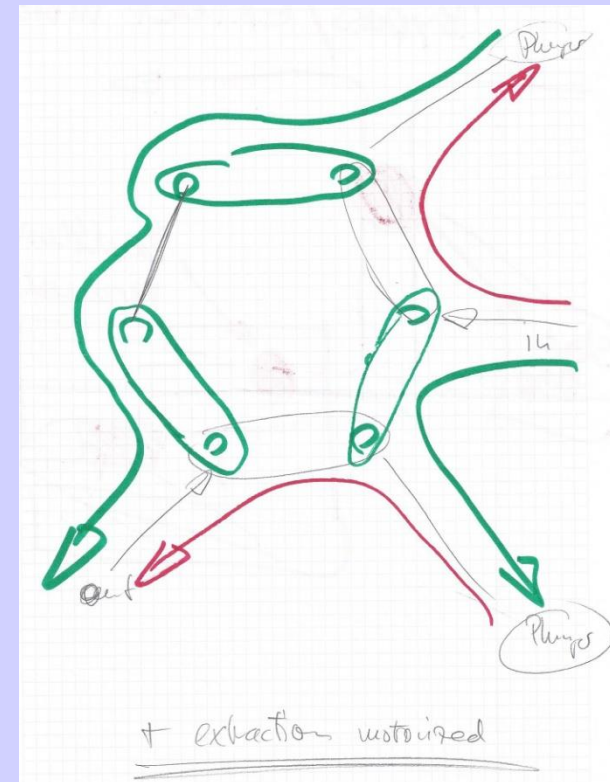
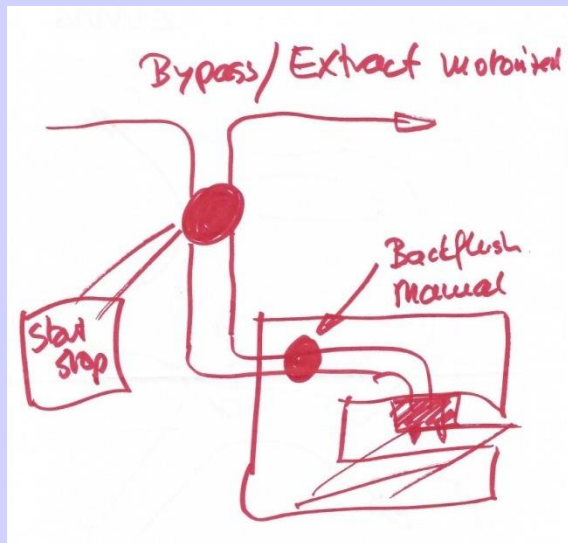
Les laboratoires qui ne souhaitent pas s'équiper
regrettent l'absence d'automatisme, et représentent
environ 10% des utilisateurs potentiels

Solutions pour rinçage



Intervertir manuellement les connexions

Utiliser une deuxième vanne montée en série avec la première



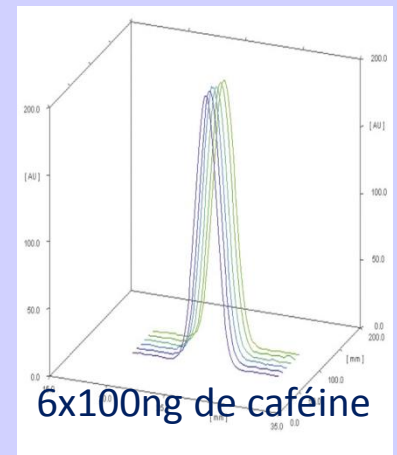
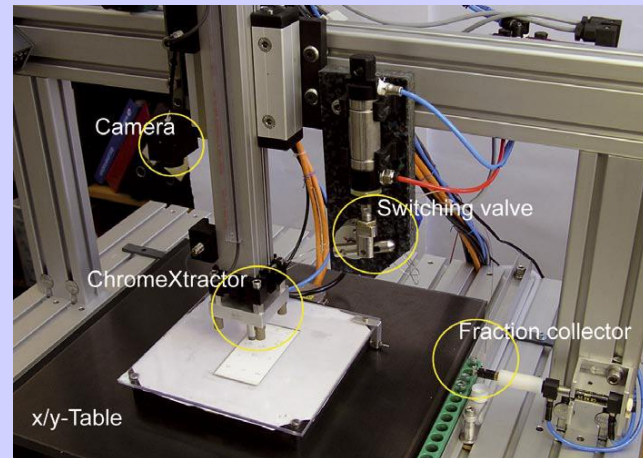
Solutions pour l'automatisme



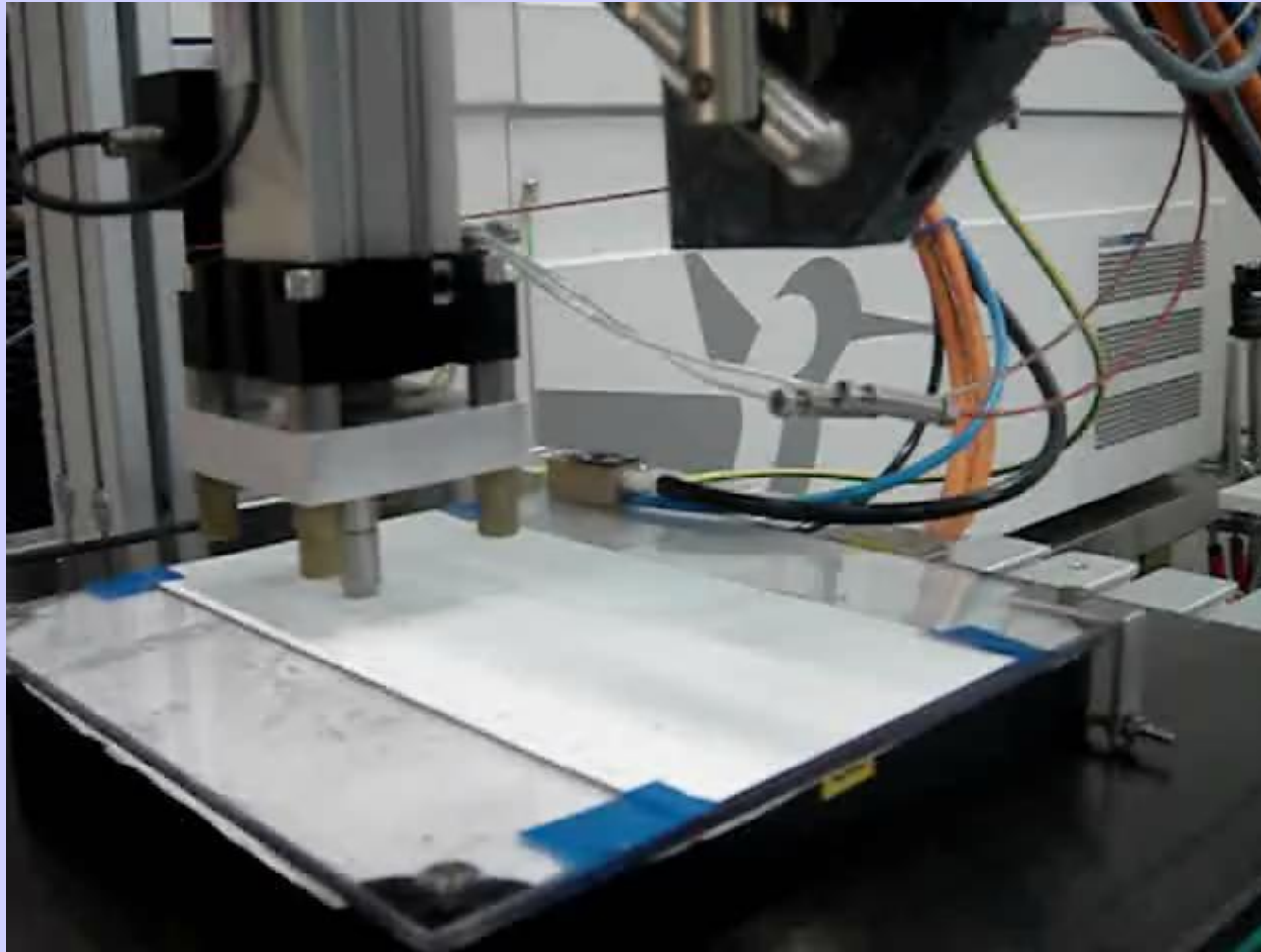
Utiliser une vanne
Rheodyne MXP7900-000



Une interface automatique développée par Camag
selon le projet présenté dans le CBS100 : le R3D3



R3D3, le (petit) film



Et maintenant... la suite

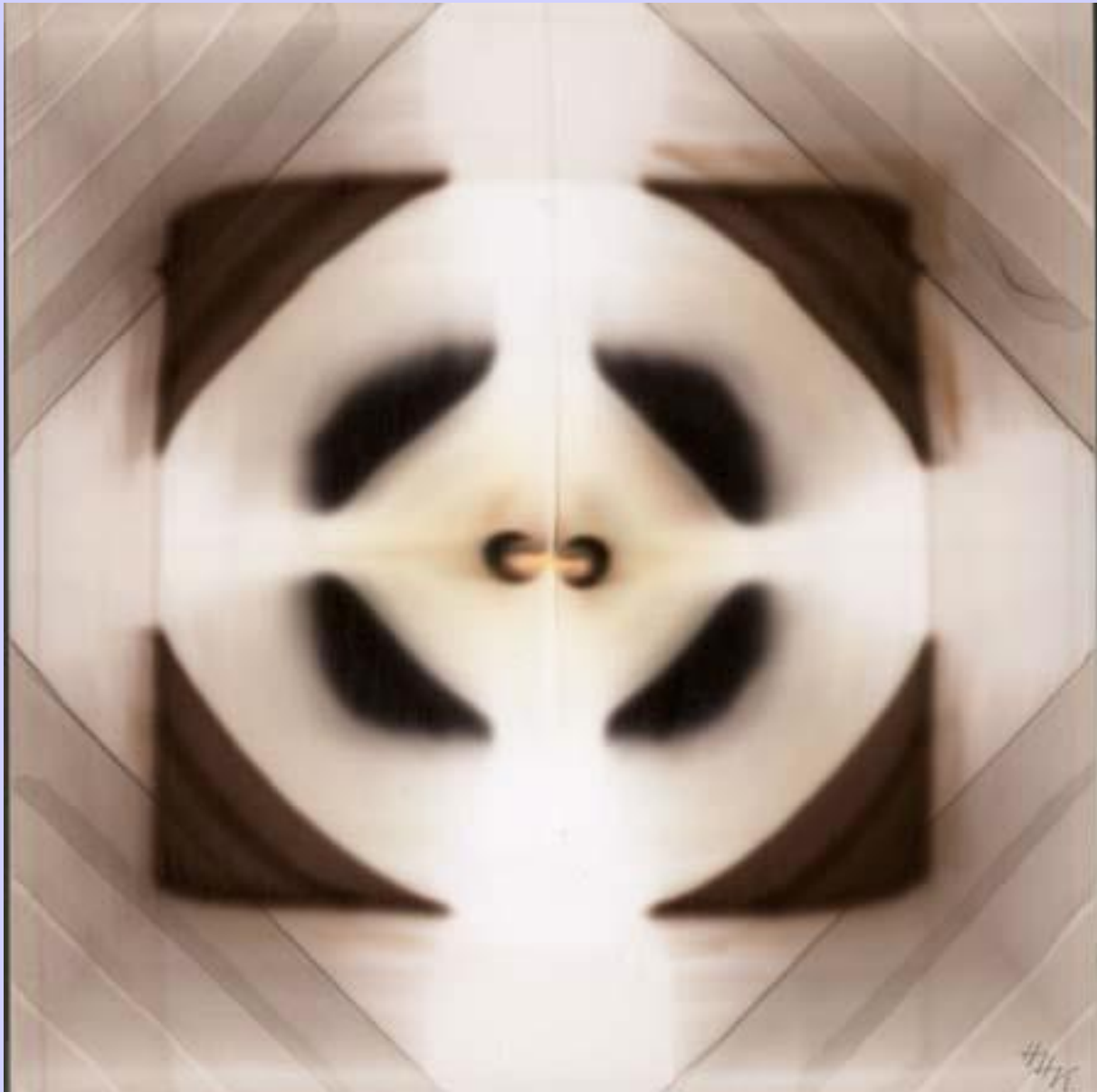


Contributions des utilisateurs : ...

**Practical experience , by Suzanne
Minarik, Merck Darmstadt**

Discussions sur les problématiques
rencontrées et les solutions possibles

Conclusions



“Chromart” by Herbert Halpaap in 1986-1987