



Pierre Fabre
Dermo-Cosmétique
Recherche et Développement



30^{ème} Réunion du Club de CCM 5-6 Octobre 2016 à Toulouse

Pierre Bernard-Savary, +33 676 29 32 81

4^{ème} Atelier Lipides



www.clubdecmm.com :

Le 1^{er} atelier lipides a eu lieu le mercredi 9 Juin 2010 à Montpellier

Le 2^{ème} atelier a eu lieu le mercredi 4 Juillet 2012 à Tours.

Le 3^{ème} atelier a eu lieu mercredi 17 Septembre à Montpellier.

4^{ème} Atelier Lipides



Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies®, 31:
1857–1870, 2008

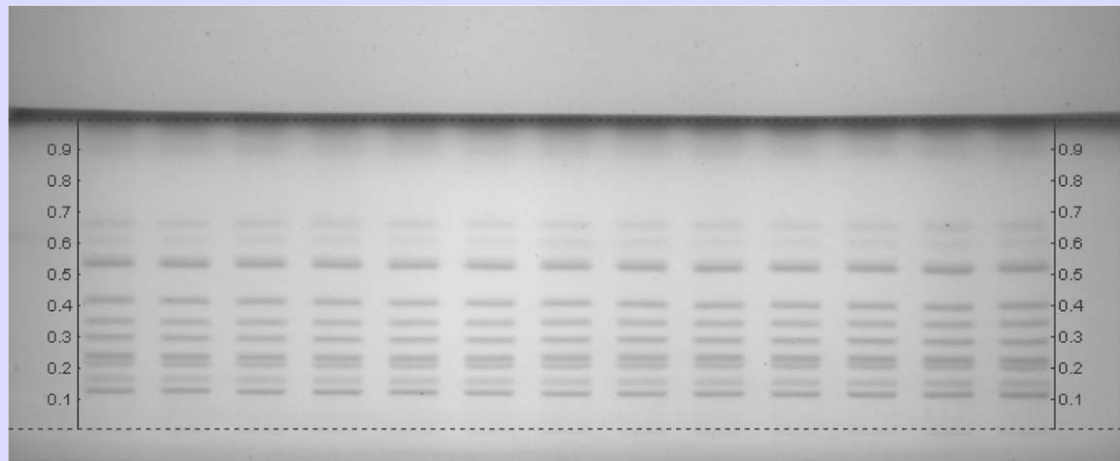
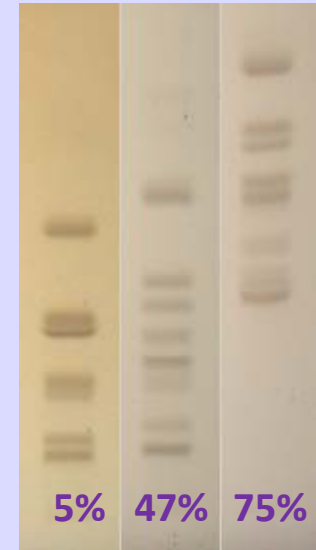
Separation of Phospholipids by HPTLC – An Investigation of
Important Parameters

D. Handloser, V. Widmer, and E. Reich
CAMAG Laboratory, Muttenz, Switzerland

Working ranges for quantitative determination of phospholipids

Working range LOD LOQ (ng) RSD (%) of calibration

LPC	170–216	25	104	7.1
LPA	260–558	25	78	1.71
PI	168–504	32	84	1.58
PE	340–1020	43	190	2.10
LPI	80–200	24	99	1.52
PC	206–490	89	373	2.69
LPE	170–408	82	353	2.73
PA	200–480	32	93	1.29

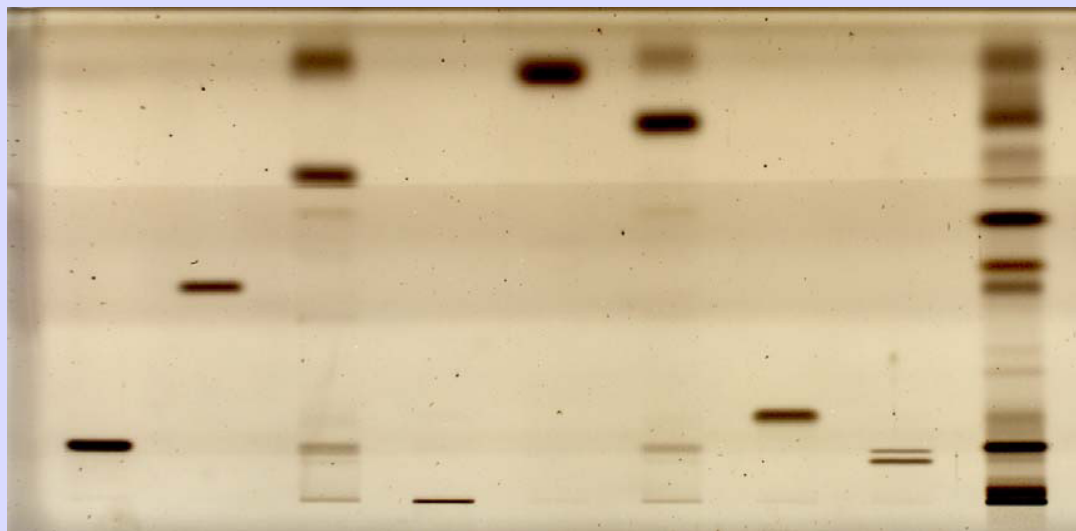


4^{ème} Atelier Lipides



Application A-89 ... Apolar lipids from human skin
CAMAG Laboratory, Muttenz, Switzerland

Developing solvent
1st: toluene.
2nd: n-hexane, tert-butyl
methyl ether, glacial
acetic acid
(80:20:1)

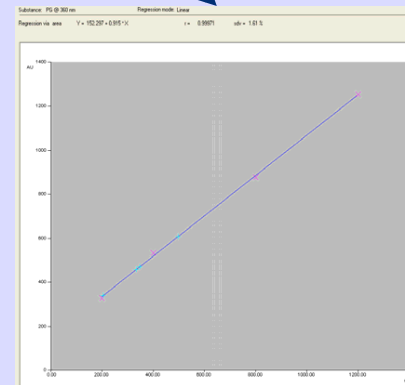
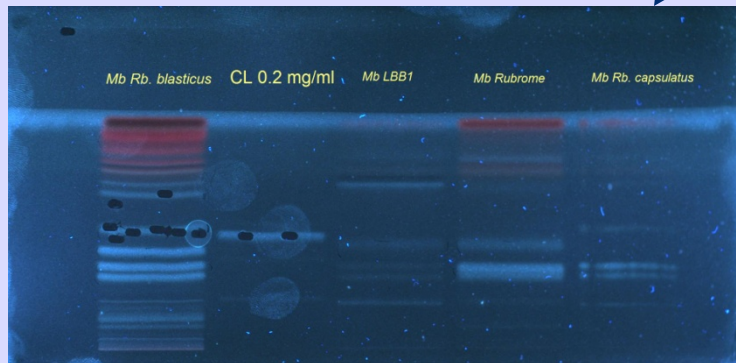
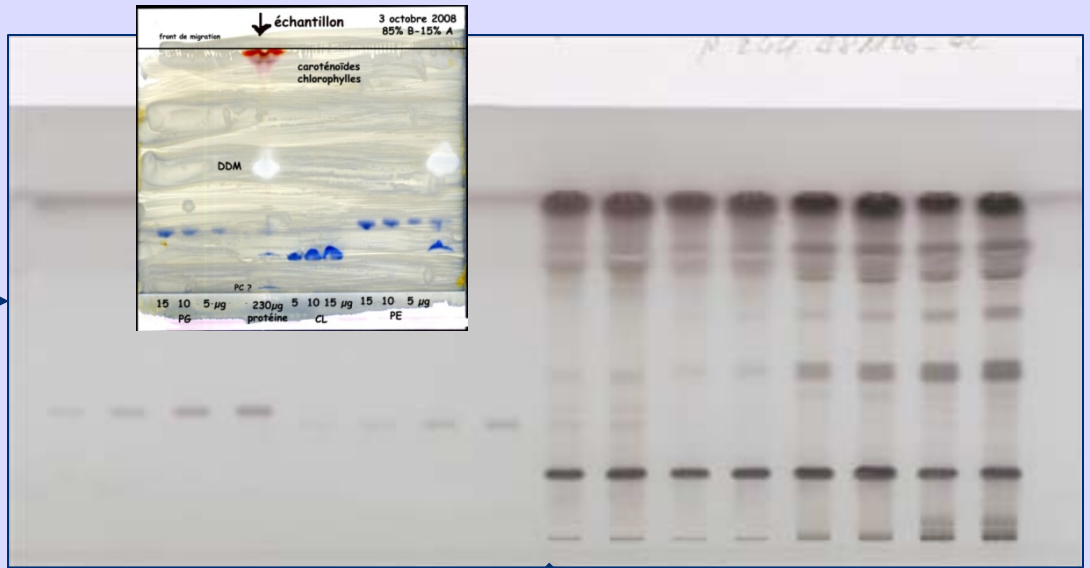
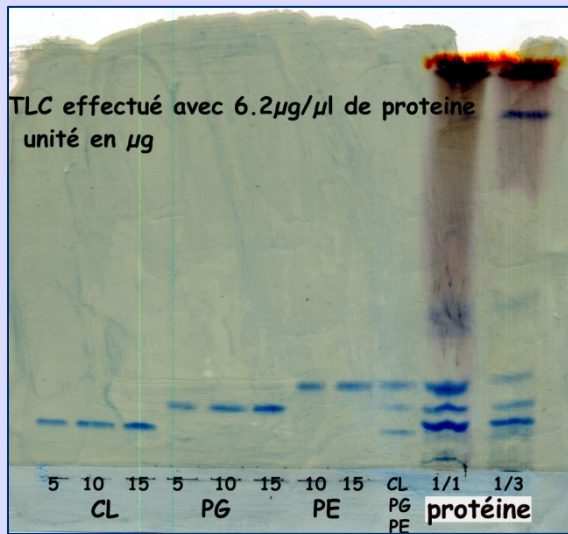


1. Cholesterol, 2. Triolein, 3. Stearyl palmitate, 4. Ceramid VI, 5. Squalene, 6. Cholesteryl palmitate, 7. Palmitic acid, 8. 1,2 Dipalmitoyl-sn-glycerol, 9. Skin lipids extracted with ethanol



4^{ème} Atelier Lipides

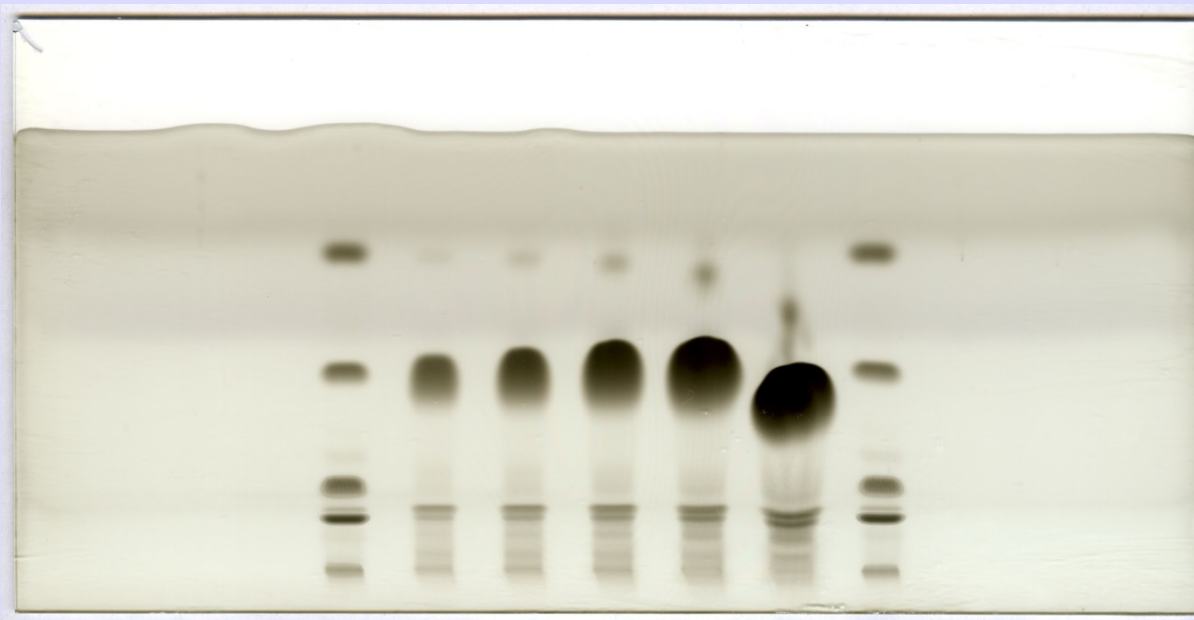
Importance de la méthode et de l'équipement...



4^{ème} Atelier Lipides



Et de ne pas trop déposer ...



Standards (PL, S, FA, TAG, SE) : 9 et 4,5µg/lipide

Echantillons : 250µg, 500µg 1mg, 2mg et 5mg équivalents graines Ath.

Merci à Michel Canonge, INRA Centre de Versailles-Grignon

Institut Jean-Pierre Bourgin, UMR 1318 INRA-AgroParisTech

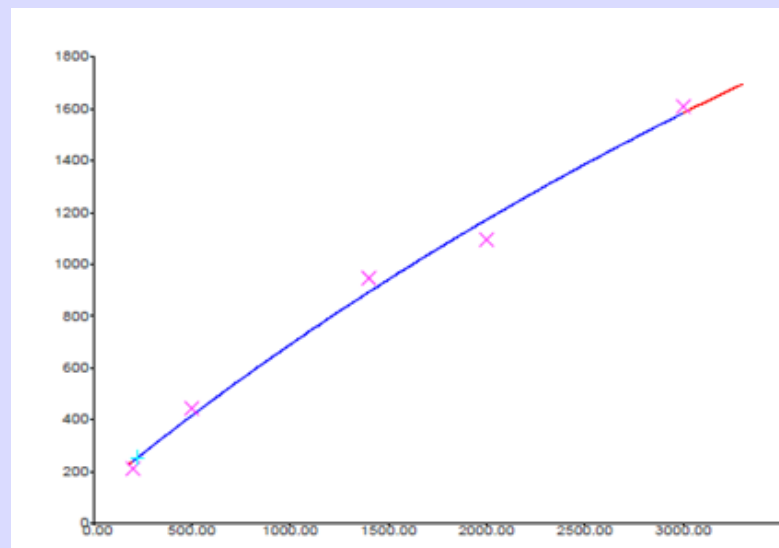
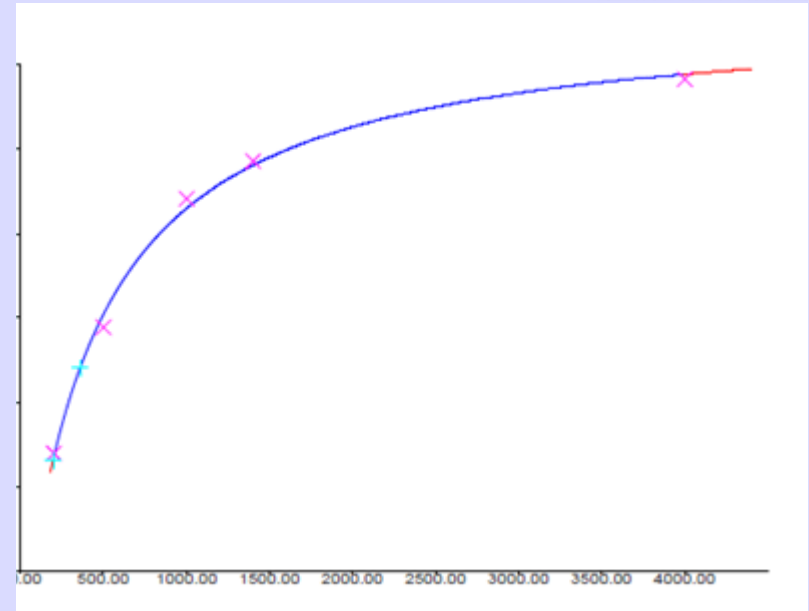
4^{ème} Atelier Lipides



Attention aussi à la gamme !

Type LOD LOQ (ng) RSD (%)

LPC	170–216	25	104	7.1
LPA	260–558	25	78	1.71
PI	168–504	32	84	1.58
PE	340–1020	43	190	2.10
LPI	80–200	24	99	1.52
PC	206–490	89	373	2.69
LPE	170–408	82	353	2.73
PA	200–480	32	93	1.29

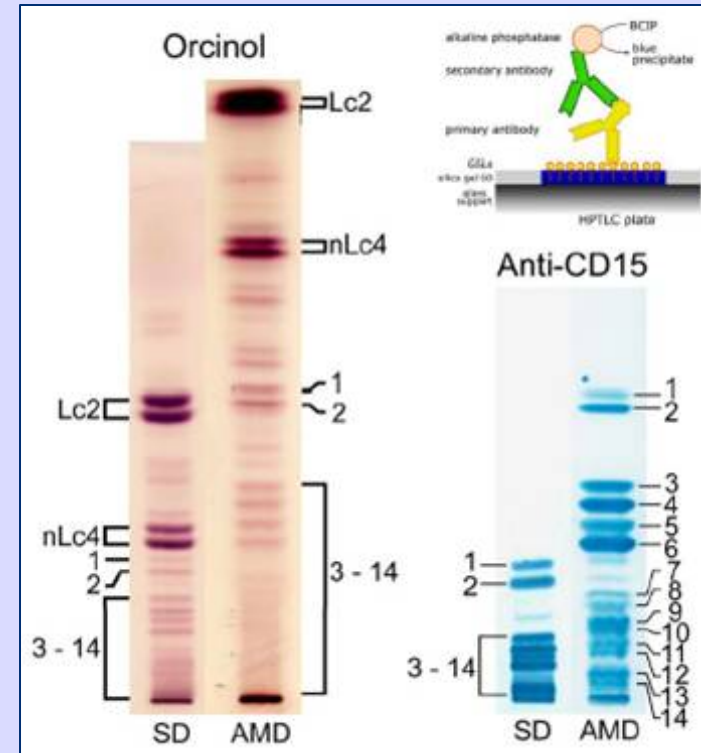
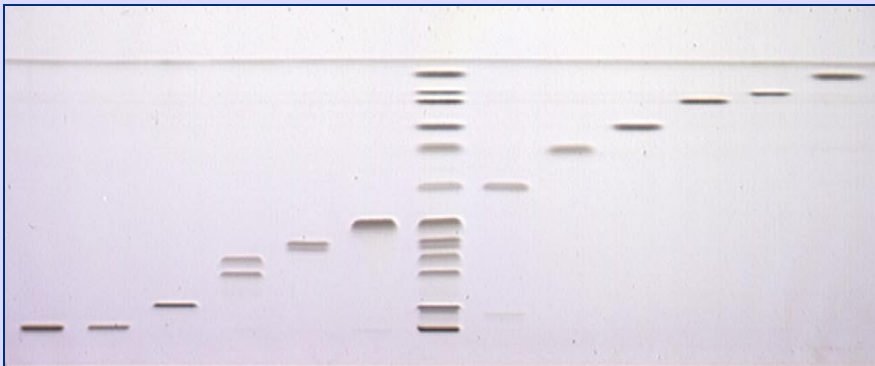


4^{ème} Atelier Lipides



Après une bonne séparation

CBS white pages :
89, 93, 95, 97 (ci-contre),
et 105 (ci-dessous)



www.hptlc.com > previous site > symposia series > program

4^{ème} Atelier Lipides

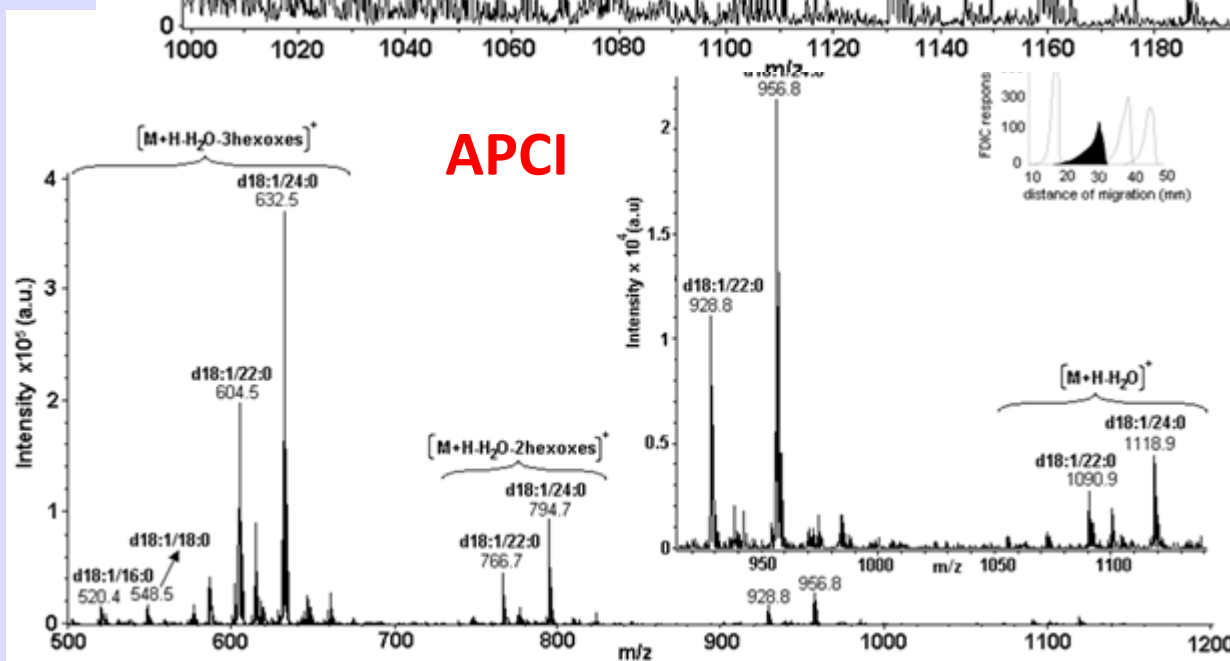
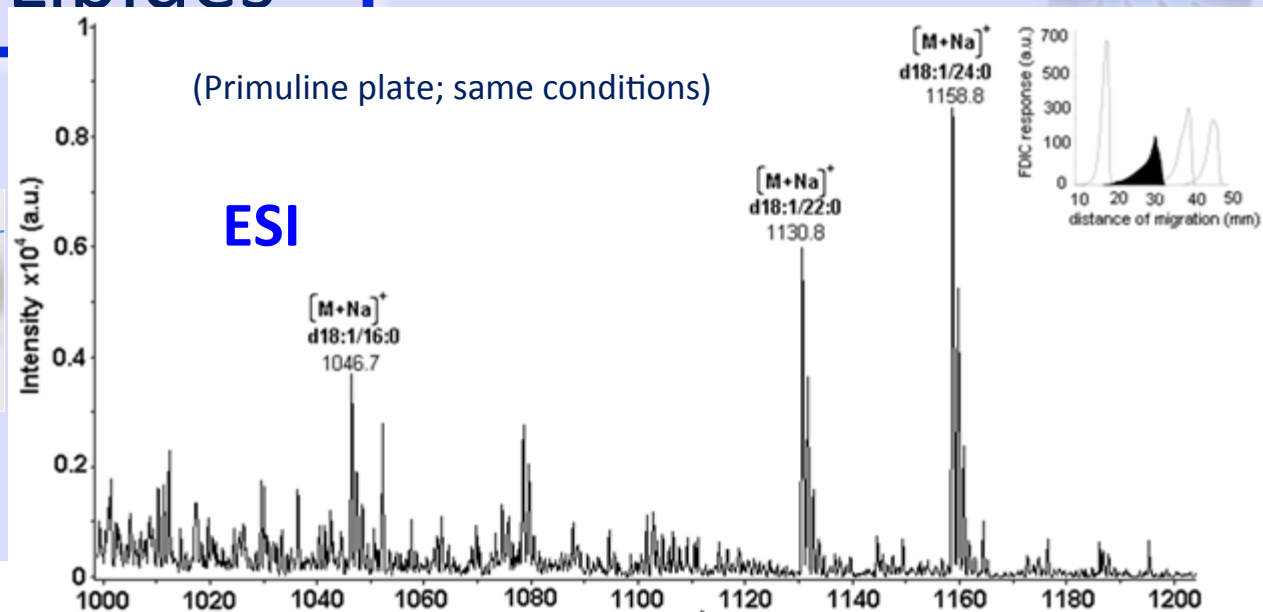


Couplage
masse..



On-line MS
spectra of Gb3
standard

APCI provides
complementary
structural
information to
ESI
(V.Cebolla
O3 HPTLC'14)



4^{ème} Atelier Lipides

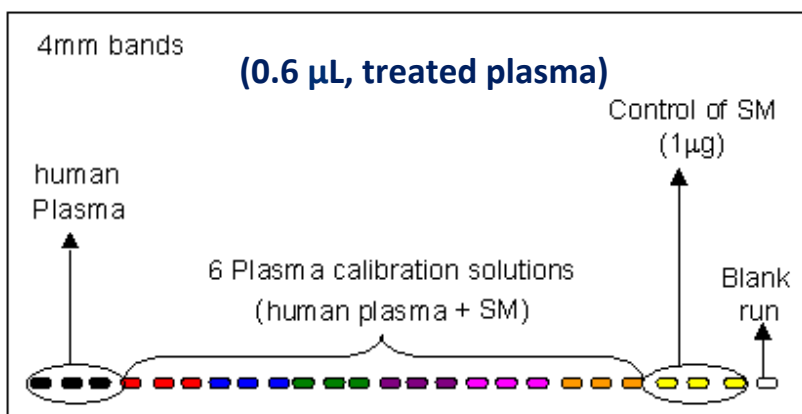
(V.Cebolla
O3 HPTLC'14)



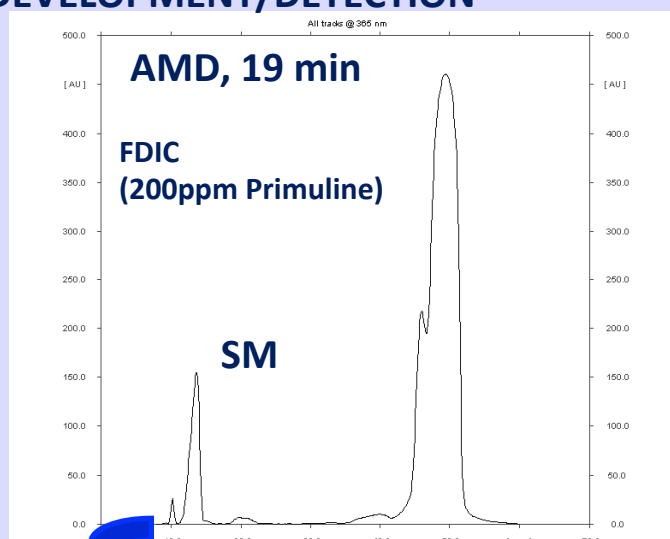
Quantification of SM in plasma

Three plasma aliquots, subjected to sample treatment
Each one on three plates, analyses in triplicate

1. SAMPLE APPLICATION



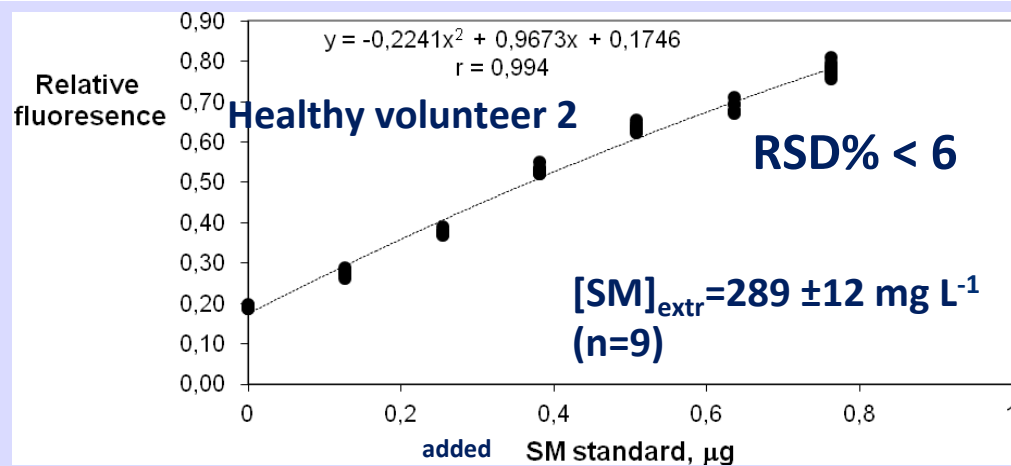
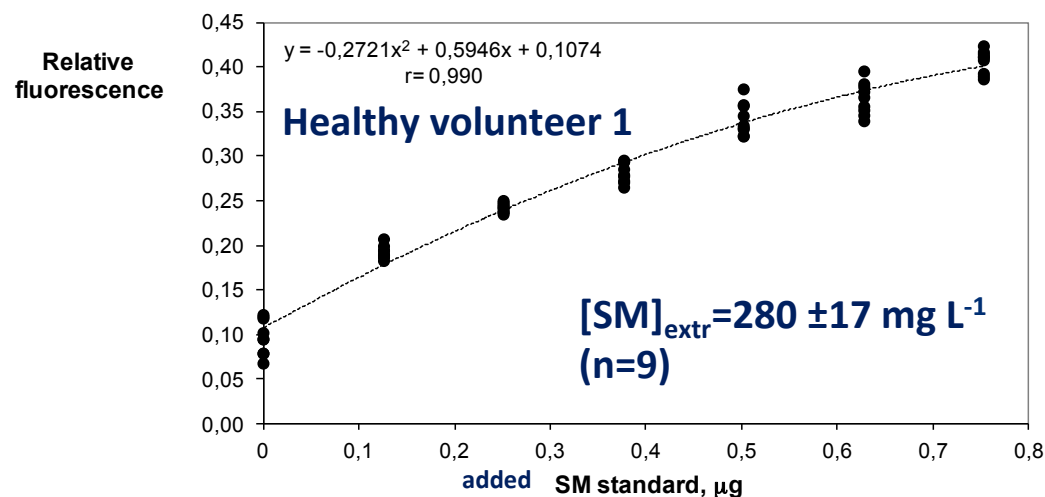
2. DEVELOPMENT/DETECTION



3. PEAK IDENTIFICATION BY MS

4. QUANTIFICATION

Non-linear calibration by standard addition



4^{ème} Atelier Lipides



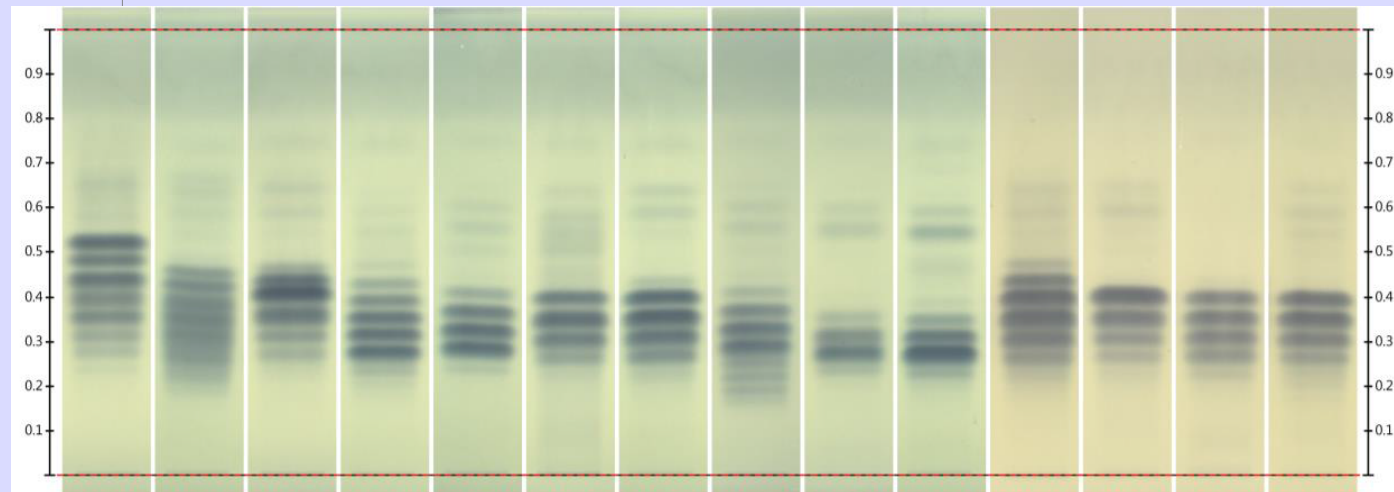
Notes d'application F37 et F39 : identification PhEur et USP (<202> modifié) :

HPTLC plates RP-18 (Merck), 20x10 cm;

Pre-develop the plate with dichloromethane to the upper edge. Dry the plate at 120°C for 10 minutes.

Mobile Phase: Dichloromethane, glacial acetic acid, acetone (20:40:50), 33% rel Hum.

Révélation: réactif phosphomolybdique 3' à 120°C



1: USP Flax seed oil RS /2: USP Borage seed oil RS /3: USP Evening primrose oil RS /4: USP Canola oil RS /5: USP Almond oil RS /6: USP Cottonseed oil RS /7: USP Corn oil RS /8: USP Peanut oil RS /9: USP Palm oil RS /10: USP Olive oil RS /11: USP Soybean oil RS /12: USP Safflower oil RS /13: USP Sesame oil RS /14: USP Sunflower oil RS

4^{ème} Atelier Lipides



contributions : ... ?

4^{ème} Atelier Lipides



Question : que pouvons nous apporter à ce domaine ?

- Méthodologie (poster ?)
- Lien avec le Gerli et Eurofedlipids (grande variété de thématiques et manifestations)
- Formations spécifiques
- Instrumentation dédiée
- autres : ...?

4^{ème} Atelier Lipides



**et la question du jour:
l'analyse des lipides sur plaque est-elle
quantitative ? OUI mais...**

- détection / réactifs
- quantité / gamme
- origine / longueurs de chaînes

**et qui sait exactement donner la
composition exacte d'un échantillon en
lipides (identités, masses, %, incertitude ?)**

4^{ème} Atelier Lipides



Après ça ?...

- nécessité d'un autre atelier lipides dans 2 ans (fin 2016,...) ? = OK (presque)
- session lipides à Berlin 2017 ? = OK
- participation trop limitée des utilisateurs non membres du Club (?) ... mais bon

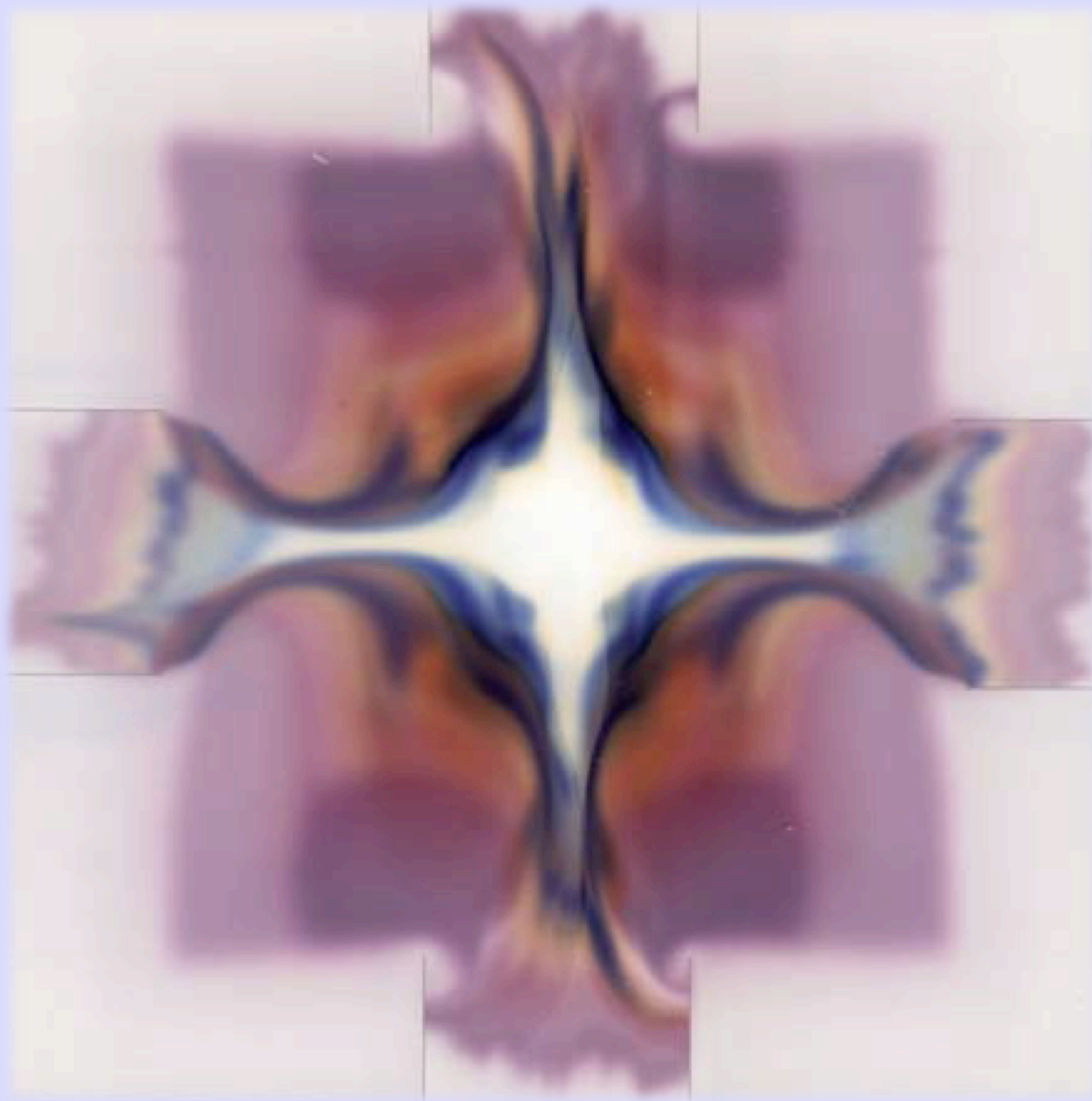


Ateliers “AUTRE”

prochains ateliers : transposition avec la préparative (Oril), validations, mises au point, plantes, sucres, ... nouveau thème ? :

peptides, réglementaire, spécial jeunes (ou vieux...)

vos avis sont les bienvenus



*"Chromart" by
Herbert Halpaap
in 1986-1987*