

# LA CHROMATOGRAPHIE PLANAIRE

**Pr. Serigne Omar SARR**

Laboratoire de Chimie Analytique et Bromatologie,  
Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontologie

Bâtiment de pharmacie, 1<sup>ier</sup> étage

Tel: 338241381, Email: [chimiedakar@gmail.com](mailto:chimiedakar@gmail.com)

- **Cible:** étudiants inscrits en Licence 3 de pharmacie
- **Pré-requis:**
  - Chimie des solutions ;
  - Grandeurs de rétention et de séparation;
  - Théories de la chromatographie;

# OBJECTIFS

1. **Enoncer** le principe de la chromatographie planaire.
2. **Ecrire** l'expression des grandeurs fondamentales en chromatographie planaire.
3. **Décrire** le matériel de la chromatographie planaire.
4. **Décrire** les étapes d'une chromatographie planaire.
5. **Citer** 4 applications de la chromatographie planaire, exemple à l'appui.

# PLAN

## INTRODUCTION

1. Principe
2. Notions théoriques
3. Processus de mise en œuvre
4. Applications

## CONCLUSION

# INTRODUCTION

- La chromatographie planaire est une technique de séparation des substances (non volatiles) en solution, sur une surface plane.
- Elle est mise en œuvre à des fins d'analyse qualitative, semi-quantitative et parfois quantitative.
- Elle regroupe la chromatographie sur couche mince, la chromatographie sur papier [et l'électrochromatographie] qui utilisent toutes une couche plane, relativement mince, d'un matériau rigide ou déposé sur une surface solide variable.

# INTRODUCTION

- De loin la plus employée, la CP se résume actuellement à la chromatographie sur couche mince (CCM) qui sera particulièrement développée dans cette leçon.
- Sur le plan historique, la CCM a été découverte fortuitement en 1938 par Ismailov et Schreiber. Elle fut développée à partir de 1956 avec les travaux de STAHL.

# INTRODUCTION

- Depuis cette date, elle a connu un essor considérable.
- Le grand intérêt pour cette technique de séparation est lié à sa simplicité, sa mise en œuvre aisée, son coût bon marché, ce qui justifie ses nombreuses applications dans divers domaines allant de la chimie à la biologie.
- Il s'agit d'une technique inscrite à la Pharmacopée Européenne.

# 1. Principe

- Séparation d'un mélange de substances non volatiles en exploitant leur différence de distribution (affinité) entre 2 phases :
  - ✓ une phase mobile liquide (développant) qui déplace les substances,
  - ✓ une phase fixe liquide ou solide (phase stationnaire), immobilisée sur une surface plane, qui exerce un effet retardateur
    - ➡ Identification et/ou quantification

# 2. Notions théoriques

## 2.1 Etude de la séparation

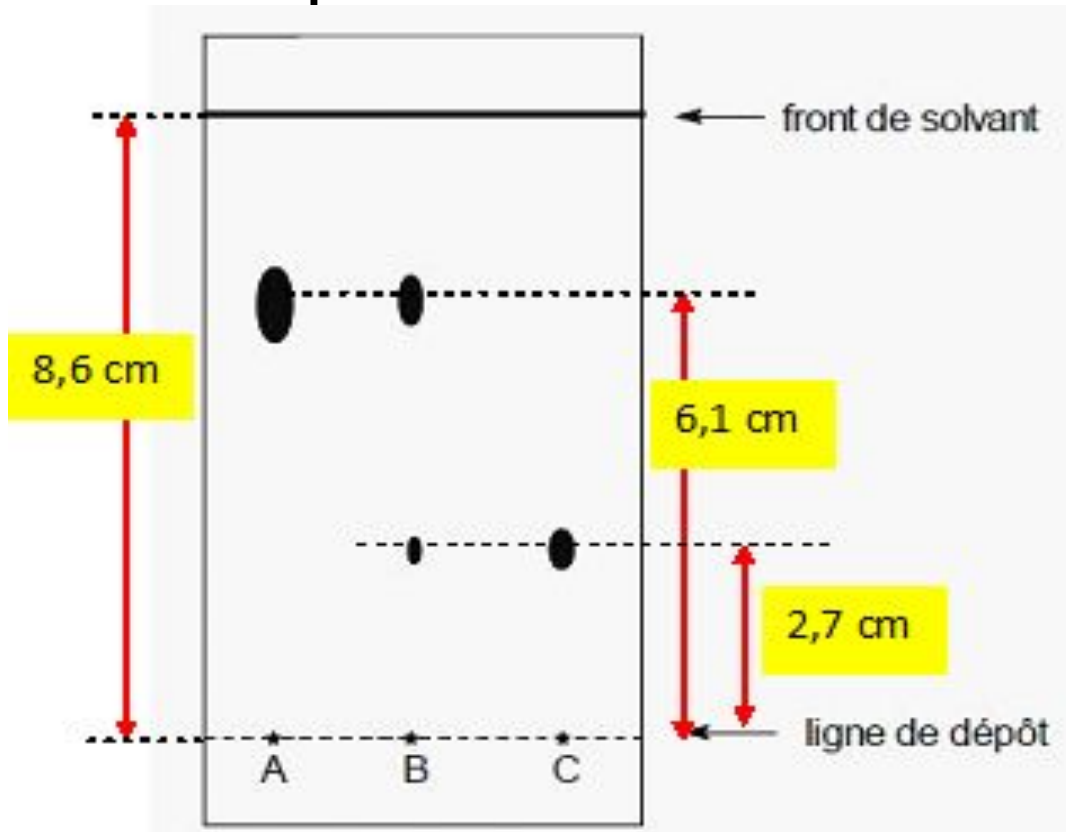
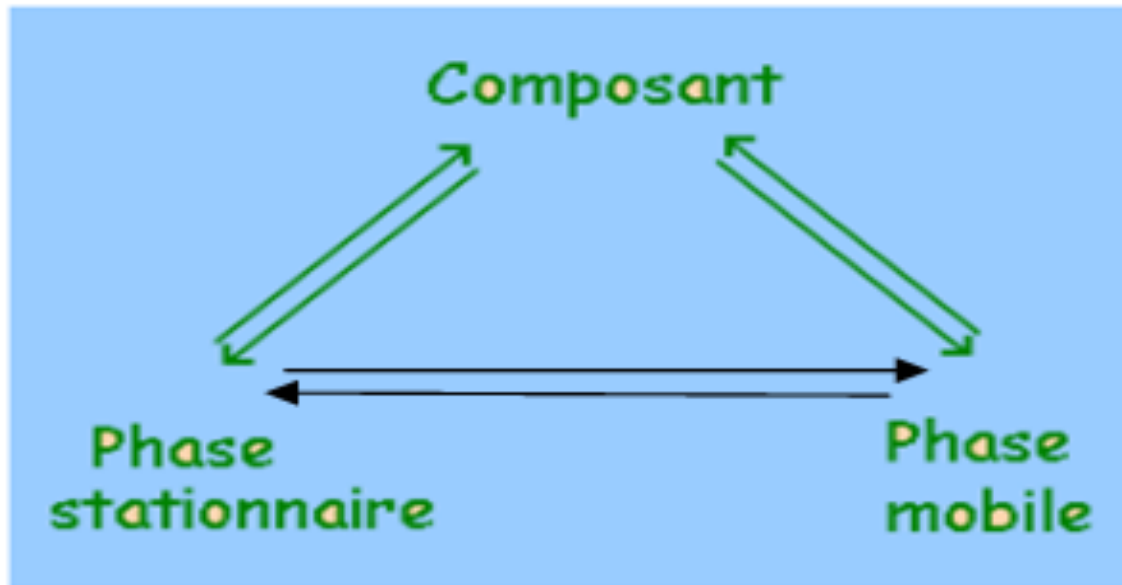


Illustration d'une chromatographie planaire

## 2. Notions théoriques

- Distribution du soluté (composant)



## 2. Notions théoriques

### ➤ Coefficient de distribution

$$K = C_s / C_M$$

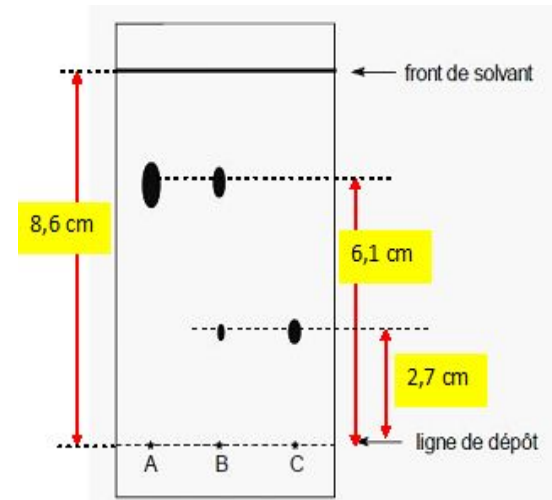
- $C_s$  = [SOLUTE] dans PS
- $C_M$  = [SOLUTE] dans PM

### ➤ Théorie des plateaux

### ➤ Théorie cinétique



Grandeurs fondamentales



## 2. Notions théoriques

– Rapport frontal  $R_f$

$$R_f = \frac{\text{Distance parcourue/Soluté}}{\text{Distance parcourue/Solvant}}$$

Facteur de rétention (capacité)  $K'$

$$K' = \frac{1}{R_f} - 1$$

– Sélectivité  $\alpha$

$$\alpha = \frac{\Delta K'}{K'}$$

$$\alpha = \frac{\Delta R_f}{R_{f2}(1-R_{f1})}$$

## 2. Notions théoriques

– Efficacité

$$h = Av^{1/3} + \frac{B}{v} + C.v \quad (\text{KNOX})$$

$h$ =hauteur équivalente à un plateau théorique (HEPT)

$v$ =vitesse d'écoulement de la PM

$A$ =diffusion transversale

$B$ =diffusion longitudinale

$C$ =transfert de masse

$$N = 16R_s^2 \left( \frac{\alpha}{\alpha-1} \right)^2 \times \frac{1}{(1-Rf)^2}$$

$N$ =nombre de plateaux théoriques

$R_s$ =Résolution

## 2. Notions théoriques

– Résolution  $R_s$

$$R_s = 2 \left( \frac{X_2 - X_1}{W_2 + W_1} \right)$$

$X$  = distance de migration

$w$  = diamètre des taches

$$R_s = \frac{1}{4} \cdot \frac{\Delta K'}{K'} \cdot (1 - Rf) \cdot \sqrt{N}$$

# 3. Processus de mise en œuvre

## 3.1 Matériel et modalités chromatographiques

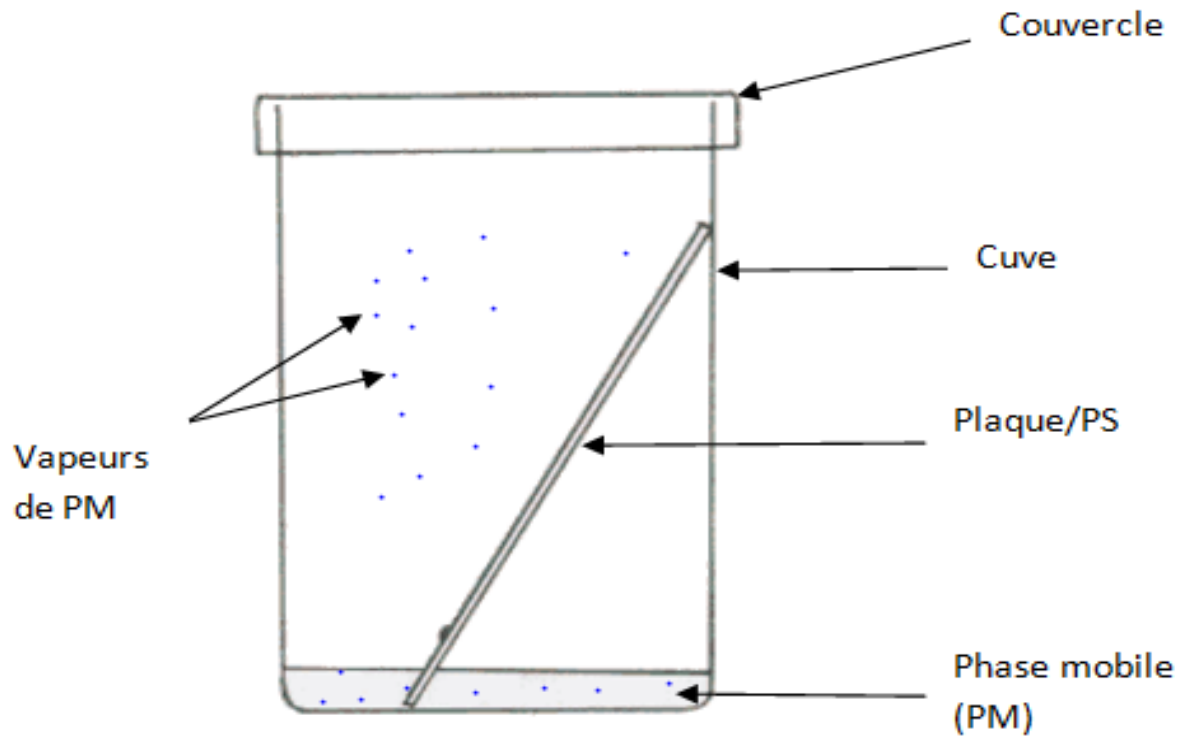


Schéma d'une cuve de CCM

# 3. Processus de mise en œuvre

## 3.1 Matériel et modalités chromatographiques

-Cuves/phases mobiles

-Plaques/phases stationnaires

➤ Phases stationnaires

- Couche mince

- ✓ Epaisseur=f(usage)

- ✓ 1-2mm : chromatographie (C) préparative

- ✓ 0,1-0,3mm : C. analytique

- PS+liant+Solvants volatils étalés /plaque

- A l'abri de l'humidité

- Réactivation à 110°C /30min

# 3. Processus de mise en œuvre

## 3.1 Matériel et modalités chromatographiques


### ➤ Phases stationnaires polaires

- Silice : Adsorption et Partage
- Alumine : Adsorption et Partage
- Cellulose : Partage
- Terre de diatomées : Adsorption et Partage (KIESELGUHR)
- Diethylaminoéthylcellulose : échange d'ions

# 3. Processus de mise en œuvre

## 3.1 Matériel et modalités chromatographiques

### ➤ Phases stationnaires apolaires

- Silice greffée : partage
- Alkyle ( $C_2$ ,  $C_8$ ,  $C_{18}$ ...)
- Diphényle
- Silice greffée+sélecteur chiral :  
 énantioséparation

# 3. Processus de mise en œuvre

## 3.1 Matériel et modalités chromatographiques

- Caractéristiques technologiques des phases stationnaires et types de CCM

	CCM ordinaire	CCM haute performance
Diamètre des grains	10-30 $\mu$ m	3-10 $\mu$ m
Épaisseur	250 $\mu$ m	100-200 $\mu$ m
homogénéité	Grains larges	Grains sphériques étroits
Distance de migration maximale	12-15cm	5-7cm

# 3. Processus de mise en œuvre

## 3.2 Conduite d'une analyse

### ➤ Préparation analyse

- Echantillon
- Plaques/ Phase stationnaire
- Révélateurs
- Phase mobile/cuve

# 3. Processus de mise en œuvre

## 3.2 Conduite d'une analyse

### ➤ Réalisation analyse

#### ❖ Dépôt

- $\mu\text{l}$
- Solvant peu éluotrope
- Par capillarité
- ✓ Manuel ou mécanique
- par vaporisation (HPTLC)

 Applications quantitatives

# 3. Processus de mise en œuvre

## 3.2 Conduite d'une analyse

### ❖ Migration/Développement

#### ➤ Par capillarité

✓ En cuve classique

✓ En cuve automatique

- Temps de saturation

- Temps de migration

- Distance de migration

#### ➤ En flux force

- Couche mince pressurisée

- PM poussée ( $\leq 50$ bars)

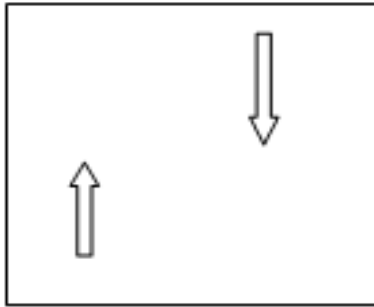
# 3. Processus de mise en œuvre

## 3.2 Conduite d'une analyse

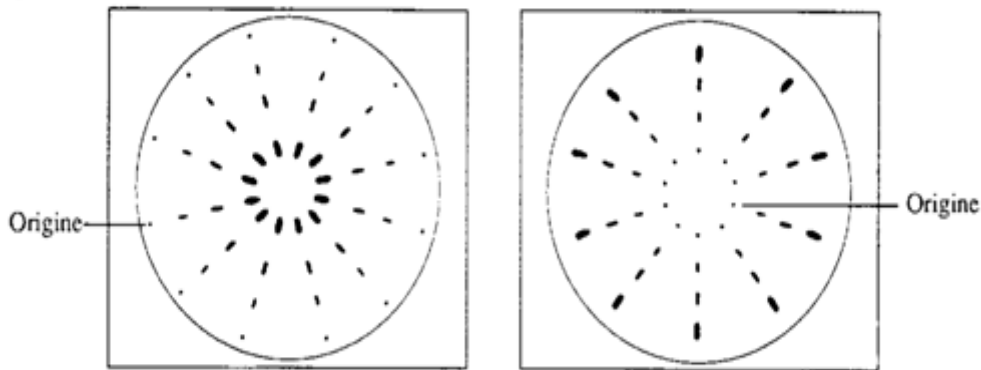
- Migration ascendante
- Migration descendante
- Migration circulaire
- Migration anti-circulaire
- Chromatographie bi-dimensionnelle

# 3. Processus de mise en œuvre

## 3.2 Conduite d'une analyse



Migration ascendante et descendante



Migration circulaire et anti-circulaire

# 3. Processus de mise en œuvre

## 3.2 Conduite d'une analyse

### ❖ Détection/ Révélation

- Détection visuelle directe
- Détection après pulvérisation de réactifs de révélation
- Détection sous lumière UV à 254nm ou 366nm
- Détection biologique
- Détection instrumentale
- ✓ Densitométrie
- ✓ Spectrométrie de masse
- ✓ Compteur de radioisotopes

# 3. Processus de mise en œuvre

## 3.2 Conduite d'une analyse

### ❖ Optimisation de l'analyse

- Optimisation de préparation analyse
- Optimisation de dépôt
- Optimisation séparation
- Optimisation détection

# 3. Processus de mise en œuvre

## 3.3 Exploitation analytique

### ➤ *Analyse qualitative*

- Identification/Rf VS étalon
- Couleur et forme tache
- Couplage/SM

### ➤ *Analyse semi-quantitative/quantitative*

- Dosage
- Comparaison VS étalon
- Etalonnage

# 4. Applications

- Dans l'industrie pharmaceutique
  - Identification des matières premières et des principes actifs;
  - Recherche d'impuretés;
  - Contrôle des préparations radiopharmaceutiques
  - Immuno-chromatographie (TDR)

# 4. Applications

- Dans l'industrie agroalimentaire
  - Etude d'interactions contenant-contenu
  - Recherche d'impuretés
  
- En Pharmacognosie
  - Analyses phytochimiques
  - Recherche d'activités pharmacologiques
  
- En Toxicologie d'urgence
  - Recherche d'antidépresseurs, neuroleptiques, antipaludéens

# 4. Applications

## EXEMPLES ISSUS DE LA PHARMACOPEE EUROPEENNE

SUBSTANCE	PS	PM	REVELATION
DEXAMETHASONE	SILICE	MeOH/DCM (1:9)	UV- 254nm
PROPANOLOL	SILICE	NH <sub>3</sub> /MeOH (1:99)	ALDEHYDE ANISIQUE
KETOCONAZOLE	SILICE GREFFEE C18	ACETATE D'AMMONIUM/DIO XANE/MeOH (20:40:40)	I <sub>2</sub>

# CONCLUSION

- Tout en conservant sa simplicité, sa facilité de mise en œuvre et sa rapidité, cette méthode est devenue aussi performante que les autres techniques chromatographiques instrumentales.
- Elle présente en outre sur ces dernières l'avantage d'être économique et écologique.

# REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Mahuzier G. et al. Abrégés de chimie analytique,  
Tome 2, Méthodes de séparation, 3<sup>e</sup> éd. Masson

Rouessac F, Rouessac A. Analyse chimique, 7<sup>e</sup> ed,

**MERCI**