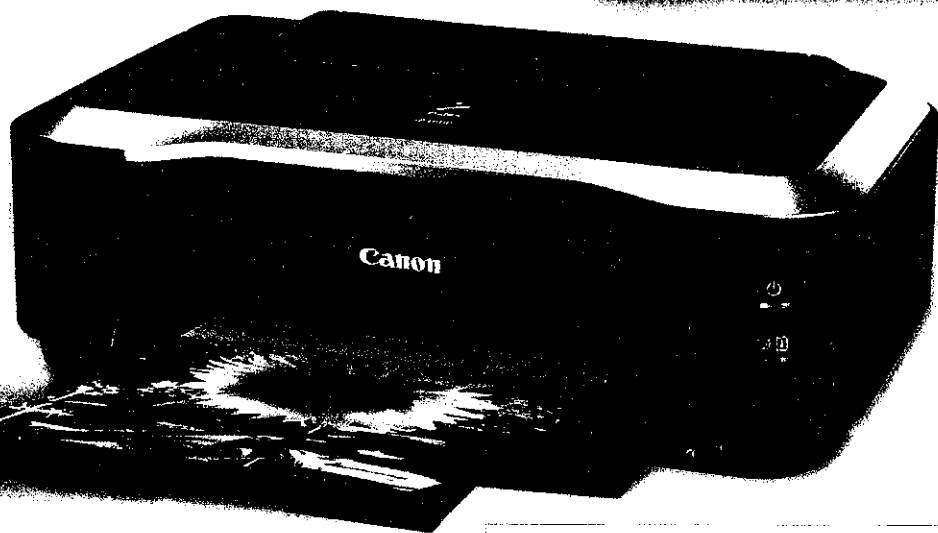


# La technologie à haut débit au bureau



Quelles sont les perspectives pour la chromatographie sur couche mince?

**Une simple imprimante à jet d'encre et un scanner permettent de simplifier considérablement et accélérer les analyses d'éléments avec la chromatographie planaire à des plaques miniaturisées.**

RUTGER DE JONG

“Personne ne se soucie de la chromatographie planaire et encore moins de la chromatographie sur couche mince à haute performance!”, s'exclame de façon exaspérée Gertrud Morlock, professeur adjoint à l'Institut für Lebensmittelchemie de l'université de Hohenheim en Allemagne. Elle comprend bien pourquoi la chromatographie sur couche mince (TLC) a été reléguée au second plan et a même publié un article de synthèse sur le sujet. “La chromatographie sur couche mince n'est enseignée à l'université qu'à un niveau de base parce qu'elle ne nécessite pas d'instruments compliqués. Plus tard les étudiants n'ont pas confiance en cette méthode justement parce qu'ils n'ont pas d'expérience avec les applica-

tions plus avancées.”

Une étude récente de Morlock et de son équipe peut changer cela. Ils ont en effet démontré qu'il est possible d'appliquer la chromatographie sur couche mince avec exactitude en utilisant une imprimante à jet d'encre, de type Canon Pixma, disponible dans le commerce, en remplissant les cartouches avec l'échantillon voulu. “Notre méthode permet donc à l'utilisateur de travailler au bureau.”

#### COLONNE OUVERTE

Les applications de la chromatographie sur couche mince à haute performance (HPTLCP) sont comparables à celles de l'HPLC selon l'analyste alimentaire allemande. Les ‘plaques’ – des supports en plastique, en verre ou en aluminium sur lesquels ont été étalés des couches chromatographiques – utilisées con-

tiennent généralement des particules analogues à celles d'une colonne de chromatographe en phase liquide. Les particules sont, certes, plus grandes ce qui réduit le pouvoir de séparation. “Cependant les plaques ne sont souvent utilisées qu'une seule fois lors d'une HPTLC. La paroi en acier inoxydable d'une colonne ne laisse pas bien voir ce qui reste, on ne peut constater que les changements du temps de rétention. En TLC par contre c'est visible et ça peut être déroutant.” Morlock estime que d'un autre côté cela peut parfois être un avantage. “Il y a toujours un peu d'échantillon qui reste fixé à l'extrémité de la plaque. Si un composant important se trouve dans ce reste, la construction ouverte permet de traiter la même plaque une nouvelle fois avec un autre éluant possédant une force d'éluion supérieure.

Ceci peut s'avérer utile si on veut connaître la différence entre deux échantillons."

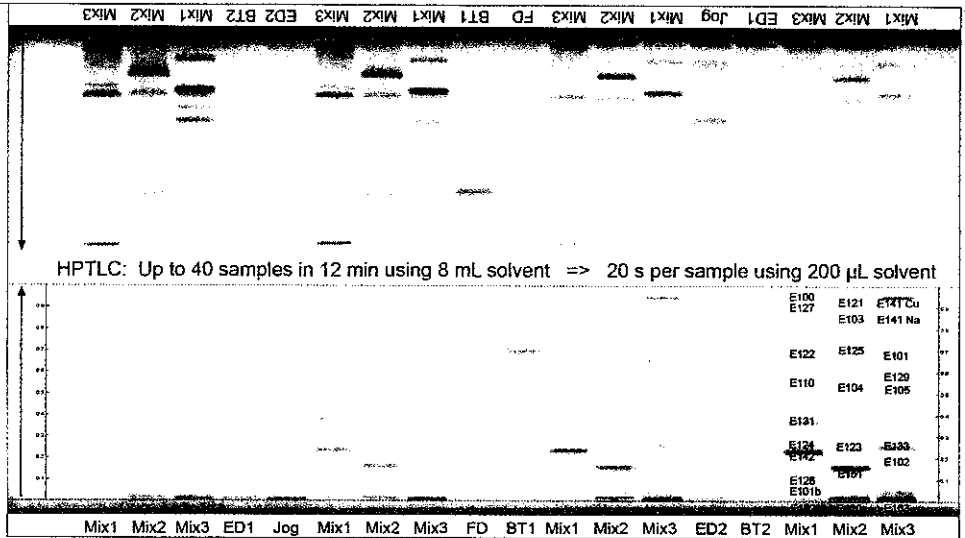
Un grand avantage de la structure ouverte est que plusieurs mesures peuvent être faites parallèlement sur la même plaque. Comme on ne travaille pas avec une colonne coûteuse, les étapes de préparation élaborées sont souvent inutiles. Morlock explique: "De cette façon on peut suspendre un cake au chocolat dans du méthanol, filtrer et puis appliquer le produit directement sur la plaque."

### MINIATURE

Au début, Morlock voulait surtout miniaturiser les applications d'échantillons sur des plaquettes à couche ultrafine (UTLC) de 5 µm. L'emploi de l'imprimante permet en effet de réduire la quantité d'échantillon – souvent précieux – tout en utilisant justement au maximum la surface de la plaque. Morlock dit: "L'imprimante permet de traiter trente échantillons en même temps sur une plaque de 10 cm sur 2 cm. La plupart des échantillons ont en outre un temps de traitement de moins d'une minute."

La technique pourrait de plus être utilisée pour les applications à haut débit pour lesquelles on utilise encore principalement les techniques d'analyse enzymatiques comme la méthode des gels ELISA. "Les chercheurs ne choisissent pas souvent la chromatographie dans le cadre de la technologie à haut débit", estime Morlock. "Quand ELISA est utilisé pour une analyse alimentaire, un composant de la matrice alimentaire peut rapidement interférer avec un des enzymes utilisés pour la technique."

Les adaptations nécessaires de l'imprimante sont infimes selon Morlock. C'est



possible à condition que l'imprimante dispose d'une voie directe pour imprimer les CD. "Il suffit de remplir les cartouches avec son échantillon et d'adapter le programme pilote de l'imprimante. Presque toutes les plaques dans le tiroir CD peuvent ensuite être 'imprimées'. Avec une prochaine version, Morlock espère pouvoir imprimer à partir de microplaques ce

### "La TLC convient tout particulièrement pour une première analyse"

qui permettra, sans avoir à faire de changements, d'avoir à disposition plus d'échantillons différents et de réduire la quantité de solution nécessaire.

La plus grande difficulté lors de l'adaptation de l'imprimante était de déterminer la quantité de liquide libérée par l'appareil. C'est cependant le fait que les minces aiguilles d'impression, les nozzles, chauffent pendant un court instant avant de dégager 'une goutte d'encre' projetée sur le papier, qui a causé le plus de soucis. "Il s'est finalement avéré que le phénomène était si bref qu'il ne semble pas avoir eu d'effet dans nos tests sur la substance et sur la solution." Il faut cependant ajuster la viscosité et la tension superficielle de la solution afin d'éviter l'obstruction des nozzles.

### RÉSOLUTION

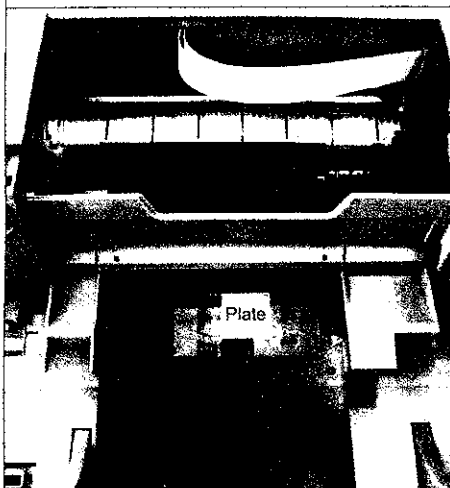
La technique convient surtout pour les tâches d'analyse simples parce que la résolution – le pouvoir de séparation – des couches minces est inférieure à celle de l'HPLC. Ceci est surtout dû au court chemin que les échantillons parcourent sur la plaque. Morlock déclare: "Nous n'utilisons pas de pompe et la distance

parcourue est de ce fait limitée par les forces capillaires."

Le simple scanneur utilisé ne peut rien y changer. L'image couleur du scanneur est suffisamment précise pour un chromatogramme. Le logiciel graphique convertit d'abord l'image du scanneur en niveaux de gris puis, en fonction de leur intensité, il génère une courbe qui suit les tracés. Plus le gris est foncé, plus le pic est élevé.

La faible résolution de la couche mince ne pose d'ailleurs pas toujours de problèmes. La chromatographie planaire conserve selon Morlock l'avantage sur le plan de la sélectivité. Il y a en effet un grand nombre de possibilités pour changer la sélectivité en imprégnant la plaque avant ou après les opérations. Quand on imprègne une plaque avec du  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , elle devient par exemple parfaitement appropriée pour la détection des sucres. Il est de plus possible d'utiliser différents bioassays pour imprégner la plaque. Les plaques peuvent en outre être observées de diverses façons, en utilisant différents types de lampes – des lampes UV ou des lampes à infrarouge – dans le scanneur ou en diversifiant les filtres.

"Une simple TLC convient surtout en tant que première analyse, quand on ne sait pas encore à quoi s'attendre. Une HPTLC avec les instruments appropriés et des plaques de meilleure qualité permet cependant de faire encore plus de choses. On peut tout examiner et en même temps réaliser des analyses quantitatives pour les échantillons avec une identification des composants à l'aide d'un spectromètre de masse. Tout cela peut se faire sur la même plaque et pour un grand nombre d'échantillons en parallèle", plaide Morlock.



Une plaque de couche mince sur l'imprimante.