

CHROM. 4755

DE LA POSSIBILITÉ DE DOSAGE SANS ÉLUTION DE PRODUITS
SÉPARÉS PAR CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHES MINCESPARTIE II. DU DOMAINE DE VALIDITÉ D'UNE FORMULE
DEVANT PERMETTRE CE DOSAGE

R. BONDIVENNE, N. BUSCH, J. SIMOND ET A. MONTEIL

Chimie Organique-C.E.R.M., Route de Marsat, 63-Riom (France)

(Reçu le 19 janvier 1970; manuscrit modifié reçu le 25 mars 1970)

SUMMARY

The possibility of quantitative analysis of products separated by thin-layer chromatography without eluting the products. Part. II. The range of validity of a formula essential to permit this determination

The validity of a mathematical formula correlating the amount spotted of a compound and the sole area of the spot obtained after migration on a thin layer has been investigated. The experimental technique and the reasons which have led to its utilisation are explained and the results obtained are discussed.

INTRODUCTION

À la fin de la première partie de cet article¹ où nous concluions que la méthode envisagée semblait nettement insuffisante, nous disions que nos recherches nous amenaient à étudier la validité de la formule donnée par PURDY ET TRUTER². La deuxième partie de ce travail traite de ce problème.

RAPPEL DE LA FORMULE DE PURDY ET TRUTER

Ces auteurs ont fait migrer, en chromatographie sur plaque, des quantités données, Q_i , de produits à étudier et ont mesuré les surfaces, S_i , correspondantes. Ils ont alors constaté que la relation entre Q_i et S_i était linéaire, donc de la forme $y = ax + b$, entre $\log Q_i$ et $\sqrt{S_i}$ (bibl. 3).

À partir de ces résultats expérimentaux, ils ont proposé l'application suivante:
(a) Migration sur une même plaque d'une quantité X inconnue d'un produit, d'une quantité D dilution de cette quantité et d'une quantité Q d'un produit standard.
(b) Application de la relation $\sqrt{S_i} = a \log Q_i + b$ à ces trois cas. L'élimination des

constantes a et b , considérées comme identiques, entre les trois relations ainsi obtenues, amène à la formule suivante :

$$\log X = \log Q + \frac{\sqrt{S_X} - \sqrt{S_Q}}{\sqrt{S_D} - \sqrt{S_X}} \log d$$

dans laquelle, on a :

- X = quantité déposée inconnue du produit à doser,
- Q = quantité déposée connue du produit standard,
- S_Q = surface, après migration, de la tache correspondant à Q ,
- S_X = surface, après migration, de la tache correspondant à X ,
- S_D = surface, après migration, de la tache correspondant à D ,
- d = dilution de D par rapport à X .

C'est donc cette formule que nous avons appliquée et tentée de vérifier.

TECHNIQUE EXPÉRIMENTALE

Il a souvent été signalé, dans la littérature, les difficultés d'obtention de reproductibilité à la fois des spots de départ, et des R_F des taches correspondantes. DALLAS⁴ et FAIRBAIRN⁵, entre autres, ont passé en revue tous les points qu'ils pensaient être la cause de ces inconvénients et ils ont proposé des méthodes et des techniques qui, d'après leurs travaux, permettraient d'éviter ces écueils. L'étude de ces articles nous a permis d'adopter le processus suivant.

Préparation des plaques

Nous avons utilisé deux sortes de plaques: (1) plaques de Gel de Silice GF₂₅₄ (Merck), épaisseur 0.250 mm, préparées suivant la méthode donnée précédemment¹ et (2) plaques de Gel de Silice F₂₅₄ (Merck) pré-étalées sur feuilles d'aluminium. Dans les conditions expérimentales décrites ici, les résultats obtenus étaient comparables.

Solvants

Les solvants utilisés étaient comme suit: solvant No. 1, phase supérieure du mélange de PARTRIDGE⁶; solvant No. 2, H-COOC₂H₅-H-COOH-toluène (4:1:5) en volume.

Révélateurs

Révéléateur pour les amines: réactif de Dragendorff modifié par MUNIER ET MACHEBOEUF⁷; pour les flavonoïdes réactif au Cl₃Al suivi d'un passage aux UV à 254 et à 365 m μ (bibl. 8).

Mise en place des spots de départ

Pour les deux sortes de produits étudiés (amines et flavonoïdes) nous nous sommes servis de solutions éthanoliques aux concentrations nécessaires pour pouvoir déposer chaque fois le même volume de 4 μ l. Ce dépôt a été fait au moyen de capillaires calibrés, microcaps Drummond, et le solvant a été évaporé sous courant d'air froid.

Mesure des surfaces

Nous avons utilisé la méthode la plus simple donnée à la fois par PURDY ET

TRUTER³ et par NYBOM⁰ et aussi employée par nous-mêmes précédemment¹. On a décalqué, avec une mine de crayon très fine, la tache colorée sur du papier millimétré transparent; puis on a compté le nombre de millimètres carrés des surfaces immédiatement supérieures et immédiatement inférieures au contour ainsi obtenu et la moyenne des deux chiffres trouvés sera la valeur utilisable de la surface.

Cuves et migration

Après avoir étudié les travaux de HONNEGER¹⁰ nous avons construit un dispositif permettant à la fois une saturation préliminaire des cuves en vapeurs de solvant et une pré-saturation des plaques après mise en place des spots¹¹. Depuis, la littérature nous a, de nouveau, montré l'influence de ces facteurs, mais alliés à d'autres^{4, 12-14}. En fonction de ces données, nous avons conçu les dispositifs et la technique suivante: Pour chaque solvant, la cuve employée durant toute l'expérimentation fut la même, trois de ses parois étant recouvertes de papier Whatman No. 3. La saturation de la cuve en vapeur de solvant et la présaturation de la plaque furent réalisées avec notre précédent appareillage¹¹. De plus, nous avons placé tout ce dispositif dans une enceinte construite spécialement afin de maintenir, d'un part des températures les plus proches possible d'une migration à l'autre et, d'autre part, une température constante durant tout le temps de l'expérience. Cet appareillage est schématisé dans la Fig. 1. L'isolant des parois est un revêtement de polystyrène expansé; le couvercle de cette enceinte est en plexiglass de un centimètre d'épaisseur; un dispositif à tirette permet de redresser doucement la cuve.

Finalement, afin de conserver, pour chaque dépôt envisagé, des formes de taches comparables et de surface constante, nous avons adopté la technique de "l'overrun-

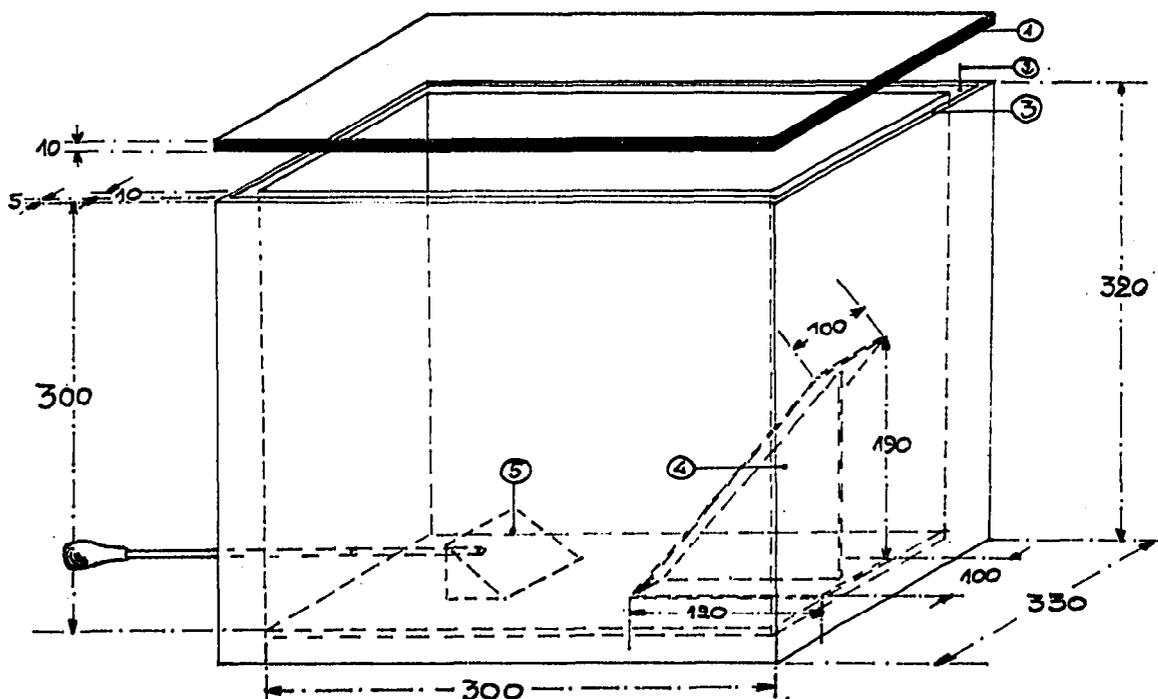


Fig. 1. Enceinte isothermique avec support de cuve. (1) couvercle de plexiglass; (2) isolant en polystyrène expansé; (3) revêtement extérieur en contre-plaqué; (4) support pour la cuve inclinée; (5) cale support et tirette. Les dimensions sont en millimètres.

ning" décrite par DALLAS⁴. La technique utilisée est donc la suivante: Dépôt des spots à 2 cm du bord inférieur de la plaque. Coupure dans la couche de gel de silice à 12 cm de ce même bord; par conséquent, la longueur de migration est de 10 cm. Mise en place de la plaque dans la cuve inclinée sur le support, la face recouverte de gel de silice tournée en dessous comme le montre la Fig. 2. Le tout est placé dans l'enceinte isothermique et laissé en position de pré-saturation durant 60 min, ce qui permet aussi d'atteindre un équilibre thermique intérieur. À la fin de ce temps, la cuve est redressée et la migration se fait. Lorsque le solvant a atteint la coupure de la couche adsorbante, on laisse encore le solvant avancer durant 15 min. Cette période étant écoulée les plaques sont sorties de la cuve, séchées, révélées et les surfaces sont mesurées comme il a été décrit au paragraphe précédent.

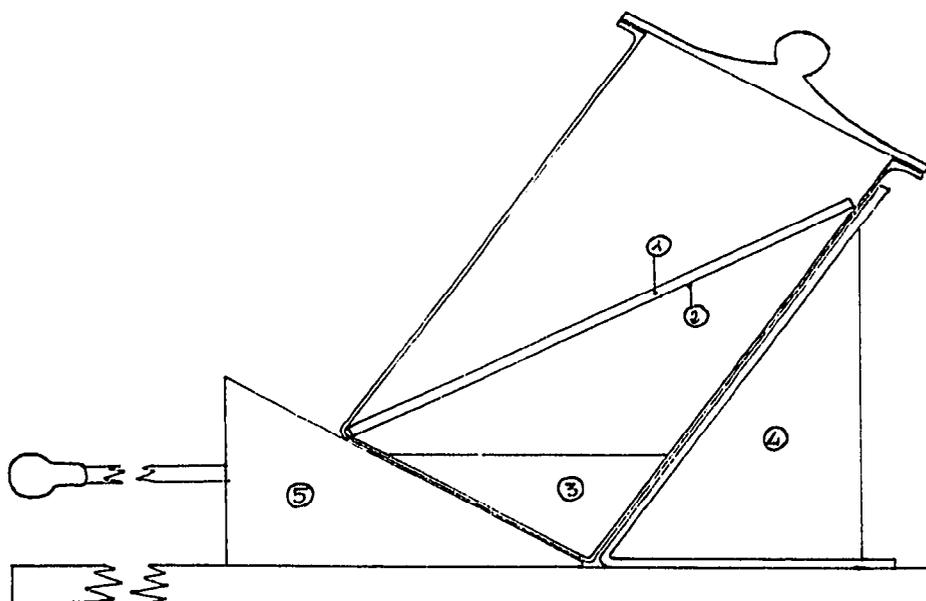


Fig. 2. Cuve en position de pré-saturation. (1) plaque de chromatographie; (2) couche d'adsorbant; (3) solvant; (4) support de cuve; (5) cale support et tirette.

RÉSULTATS

Essai sur une révélation par réaction colorée

Pour étudier la formule de PURDY ET TRUTER, dans ce cas, nous avons employé la trihexylamine. Le solvant utilisé était le solvant No. 1 et le révélateur, celui de Dragendorff modifié par MUNIER ET MACHEBOEUF.

Nous avons procédé à plusieurs sortes d'essais: (a) Essai où, sur une plaque, migraient la solution standard Q , la solution considérée comme inconnue X et sa dilution D et (b) essai où nous avons placé au départ les quantités 10, 20, 30, 40 et 50 μg .

(a) *Essai où migraient les solutions Q , X et D .* Sur chaque plaque, nous avons placé les spots de départ dans des ordres variés: Q, X, D ; Q, D, X ; X, D, Q ; D, Q, X . Nous avons pris les trois séries de valeurs données dans le Tableau I. Pour chacune de ces séries dix plaques ont été faites si bien que les résultats donnés sont la moyenne de 40 mesures pour chaque spot obtenu.

(b) *Essai où nous avons placé au départ les quantités 10, 20, 30, 40 et 50 μg . Sur chaque plaque ont migré ensemble trois séries de ces quantités et dans chacune d'elles nous avons fait varier les ordres de voisinage des spots. Nous avons fait vingt plaques de cette manière si bien que les résultats donnés sont la moyenne de 60 mesures pour chaque tache obtenue. Sur le Tableau II figurent les résultats complets relatifs à la première série, sur le Tableau III, les résultats des mesures de la deuxième série et sur le Tableau IV, les résultats complets se rapportant aux différentes combinaisons possibles de D , X et Q acquises à partir des résultats du Tableau III.*

TABLEAU I

QUANTITÉS Q , D , X PRISES POUR LES 3 SÉRIES ÉTUDIÉES

	1ère série (μg)	2ème série (μg)	3ème série (μg)
Q	20	12	30
D	30	10	15
X	40	20	20

TABLEAU II

RÉSULTATS COMPLETS DES ESSAIS DE LA PREMIÈRE SÉRIE

Quantité déposée (μg)				Pour la quantité inconnue X		X trouvé (μg)	Écart entre les quantités déposées et trouvées (%)
Q	D	X	d	$(\bar{S} \pm \Delta\bar{S})$ (mm^2)	$(\sqrt{S} \pm \Delta\sqrt{S})$ (mm^2)		
20	30	40	3/4	107.66 \pm 7.75	10.38 \pm 0.30	35.20	-12.0
12	10	20	1/2	84.90 \pm 6.60	9.20 \pm 0.35	17.69	-11.5
30	15	20	3/4	91.60 \pm 2.30	9.56 \pm 0.12	26.01	-30.0

Essai sur une révélation par fluorescence

Dans le cas envisagé, nous avons utilisé des produits dont la fluorescence sous UV à 365 $\text{m}\mu$ est connue et aussi pour lesquels cette fluorescence pouvait être changée ou augmentée par pulvérisation d'une solution de chlorure d'aluminium.

L'étude de la formule de PURDY ET TRUTER a donc porté, ici, sur les trois flavonoïdes suivants: galangine, kaempférol et quercétine. Les résultats ont été obtenus à partir de la chromatographie de spots correspondant aux quantités 10, 20, 30, 40 et 50 μg .

Le solvant employé était le solvant No. 2 et, après migration, les plaques furent séchées, examinées sous 365 $\text{m}\mu$ et la superficie des spots relevée. Puis on a pulvérisé du réactif et de nouveau relevé les surfaces sous UV. Dans ce cas là, les taches étaient plus nettes mais les différences constatées avec les mesures faites directement étaient minimales.

Nous avons opéré, pour chacun de ces flavonoïdes, d'une manière semblable à celle de la deuxième série des mesures de la trihexylamine, si bien que nous aurons, pour chaque composé, une série de tableaux de résultats donnant: le premier les

TABLEAU III
RÉSULTATS DES MESURES SUR LA DEUXIÈME SÉRIE

Quantité déposée (µg)	$\bar{S} \pm \Delta S$ (mm ²)	$\sqrt{S} \pm \Delta\sqrt{S}$ (mm ²)
10	77.4 ± 2.9	8.79 ± 0.16
20	99.4 ± 1.9	9.96 ± 0.10
30	104.9 ± 1.8	10.18 ± 0.10
40	110.6 ± 1.6	10.51 ± 0.78
50	121.7 ± 2.6	11.02 ± 1.28

TABLEAU IV
RÉSULTATS COMPLETS DES DIFFÉRENTES COMBINAISONS DE LA DEUXIÈME SÉRIE

Quantité déposée (µg)	$D < X < Q$			$D < Q < X$			$Q < D < X$					
	<i>d</i>	Quantité trouvée (µg)	% écart	<i>d</i>	Quantité trouvée (µg)	% écart	<i>d</i>	Quantité trouvée (µg)	% écart			
10	20	30	1/2	1/3	26.3	+30.0	1/3	23.8	-21.0	2/3	13.0	-56.6
10	30	40	1/3	1/4	31.4	+4.7	1/4	39.1	-2.3	3/4	44.8	+12.0
10	30	50	1/3	1/5	25.7	-14.0	1/5	55.2	+10.4	3/5	38.7	-22.6
20	30	40	2/3	1/2	21.8	-27.0	1/2	45.5	+13.7	3/4	32.8	-19.5
20	50	50	2/3	2/5	26.3	-34.0	2/5	62.1	+24.2	3/5	31.8	-36.4
30	40	50	3/4	3/5	32.1	-20.0	3/5	54.5	+9.0	4/5	43.4	-13.2

TABLEAU V

MESURES DES SURFACES DES TACHES

Quantité déposée (μg)	$\bar{S} \pm \Delta\bar{S}$ (mm^2)	$\sqrt{S} \pm \Delta\sqrt{S}$ (mm^2)
10	54.3 ± 1.9	7.39 ± 0.12
20	82.3 ± 0.7	9.09 ± 0.05
30	93.3 ± 1.7	9.64 ± 0.07
40	104.0 ± 0.3	10.10 ± 0.03
50	120.0 ± 1.3	10.95 ± 0.06

TABLEAU VI

RÉSULTATS COMPLETS DES DIFFÉRENTES COMBINAISONS RELATIVES À LA GALANGINE

Quantité déposée (μg)	$Q < D < X$			$D < Q < X$			$D < X < Q$		
	d	Quantité trouvée (μg)	% écart	d	Quantité trouvée (μg)	% écart	d	Quantité trouvée (μg)	% écart
10	20	30	2/3	52.51	26.10	-13.00	1/2	24.00	+20.00
10	20	40	1/2	42.87	33.54	-16.15	1/2	26.25	+31.25
10	20	50	2/5	57.65	46.39	-7.22	1/2	23.45	+17.25
10	30	40	3/4	51.38	38.39	-4.00	1/3	31.70	+5.93
10	30	50	3/5	40.08	54.33	-8.66	1/3	26.44	-11.80
10	40	50	4/5	26.05	58.11	-16.22	1/4	33.37	-16.55
20	30	40	3/4	37.10	41.90	-7.25	2/3	28.10	-6.30
20	30	50	3/5	41.22	57.10	-17.56	2/3	19.04	-36.50
20	40	50	4/5	32.97	60.32	-34.20	1/2	28.56	-28.60
30	40	50	4/5	43.67	55.24	-14.60	3/4	30.40	-24.00

TABLEAU VII

MESURES DES SURFACES DES TACHES

Quantité déposée (µg)	$\bar{S} \pm \Delta \bar{S}$ (mm ²)	$\sqrt{S} \pm \Delta \sqrt{S}$ (mm)
10	39.7 ± 1.4	6.29 ± 0.14
20	54.0 ± 2.3	7.34 ± 0.11
30	61.3 ± 2.7	7.65 ± 0.20
40	69.3 ± 1.9	8.34 ± 0.11
50	82.0 ± 2.3	9.05 ± 0.15

TABLEAU VIII

RÉSULTATS COMPLETS DES DIFFÉRENTES COMBINAISONS RELATIVES AU KAEMPFÉROL

Quantité déposée (µg)	Q < D < X			D < Q < X			D < X < Q		
	d	Quantité trouvée (µg)	% écart	d	Quantité trouvée (µg)	% écart	d	Quantité trouvée (µg)	% écart
10	20	30	2/3	59.27	1/3	25.57	1/2	24.42	+22.10
10	20	40	1/2	41.41	1/4	39.36	1/2	20.69	+ 3.45
10	20	50	2/5	43.80	1/5	54.23	1/2	16.17	+19.15
10	30	40	3/4	26.40	1/4	48.00	1/3	22.87	-23.40
10	30	50	3/5	27.42	1/5	68.41	1/3	16.13	-44.93
10	40	50	4/5	23.80	1/5	60.50	1/4	30.85	-22.90
20	30	40	3/4	30.97	1/2	48.40	2/3	16.21	-42.60
20	30	50	3/5	37.30	2/5	63.56	2/3	80.12	>60
20	40	50	4/5	32.45	2/5	58.39	1/2	30.57	-23.6
30	40	50	4/5	46.50	3/5	51.86	3/4	37.14	- 7.15

TABLEAU IX
MESURES DES SURFACES DES TACHES

Quantité déposée (μg)	$\bar{S} \pm \Delta\bar{S}$ (mm^2)	$\sqrt{S} \pm \Delta\sqrt{S}$ (mm^2)
10	31.6 ± 2.2	5.61 ± 0.19
20	46.3 ± 4.2	6.78 ± 0.32
30	55.3 ± 5.4	7.31 ± 0.40
40	61.3 ± 5.1	7.82 ± 0.33
50	68.3 ± 1.1	8.26 ± 0.06

TABLEAU X

RÉSULTATS COMPLETS DES DIFFÉRENTES COMBINAISONS RELATIVES À LA QUERCÉTINE

Quantité déposée (μg)	$Q < D < X$			$D < Q < X$			$D < X < Q$				
	d	Quantité trouvée (μg)	% écart	d	Quantité trouvée (μg)	% écart	d	Quantité trouvée (μg)	% écart		
10	20	30	2/3	36.90	+23.00	1/3	28.17	6.20	1/2	21.99	+9.95
10	20	40	1/2	43.70	+9.40	1/4	38.40	4.00	1/2	21.60	+8.00
10	20	50	2/5	50.98	+1.90	1/5	49.20	1.60	1/2	21.08	+5.40
10	30	40	3/4	34.40	-14.00	1/4	41.10	2.80	1/3	28.82	-3.90
10	30	50	3/5	41.59	-18.82	1/5	53.49	6.98	1/3	27.04	-9.90
10	40	50	4/5	38.37	-23.20	1/5	52.43	4.76	1/4	37.94	-5.15
20	30	40	3/4	36.46	-9.00	1/2	35.68	11.05	2/3	27.09	-9.70
20	30	50	3/5	44.32	-11.40	2/5	53.97	7.94	2/3	24.17	-16.10
20	40	50	4/5	42.40	-14.60	2/5	52.52	5.04	1/2	37.33	-7.15
30	40	50	4/5	48.58	-2.64	3/5	50.40	0.80	3/4	39.05	-2.35

valeurs de \bar{S} et de $\sqrt{\bar{S}}$ pour chaque spot de départ; les trois autres, les différentes séries de combinaisons possibles de D , Q et X entre ces valeurs.

Galangine. Voir les Tableaux V et VI.

Kaempférol. Voir les Tableaux VII et VIII.

Quercétine. Voir les Tableaux IX et X.

DISCUSSION ET CONCLUSION

Cas de la trihexylamine

L'étude de tous ces tableaux montre que les trois différentes combinaisons examinées se succèdent dans l'ordre suivant: $D < Q < X$, $D < X < Q$ et $Q < D < X$ par rapport au nombre de résultats acceptables. De toute manière, la proportion des résultats où le pourcentage des écarts de récupération par rapport à la quantité déposée est inférieur ou au plus égal à 10 % n'est que de quatre cas sur dix-huit envisagés, ce qui n'est absolument pas satisfaisant.

La formule de PURDY ET TRUTER a été établie après avoir constaté expérimentalement

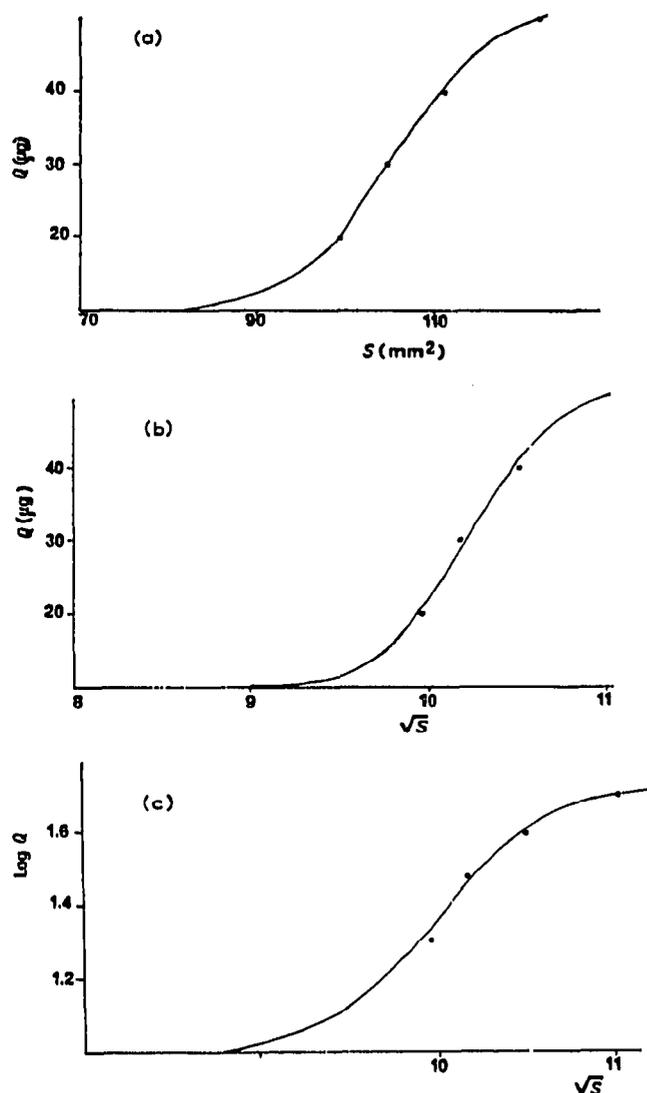


Fig. 3. Courbes relatives à la trihexylamine. (a) $S = f(Q)$; (b) $\sqrt{S} = f(Q)$; (c) $\sqrt{S} = f(\log Q)$.

talement que la courbe $\sqrt{S} = f(\log Q)$ était une droite. En outre, nos résultats précédents¹ ont montré que ceci n'était pas toujours obtenu de façon rigoureuse. Nous avons alors réalisé, pour la trihexylamine, les courbes: $S = f(Q)$ (Fig. 3a), $\sqrt{S} = f(Q)$ (Fig. 3b) et $\sqrt{S} = f(\log Q)$ (Fig. 3c). Sur ces courbes, nous remarquons que: la courbe la plus rigoureuse est $S = f(Q)$; la courbe $\sqrt{S} = f(Q)$ est linéaire dans le même domaine de quantité que $S = f(Q)$ mais que la sensibilité est réduite par augmentation de la pente de sa partie linéaire; la courbe $\sqrt{S} = f(\log Q)$ est celle où la région de linéarité par rapport à la quantité Q déposée est la plus petite et où la pente de la partie linéaire est la plus forte. La relation entre l'existence d'une très petite partie linéaire de cette dernière et la très faible quantité de résultats acceptables donnée par la formule de PURDY ET TRUTER est ici montrée.

Cas des flavonoïdes étudiés

Pour ces trois produits, la proportion de résultats où le pourcentage des écarts de récupération par rapport à la quantité déposée est inférieur ou au plus égal à 10 %,

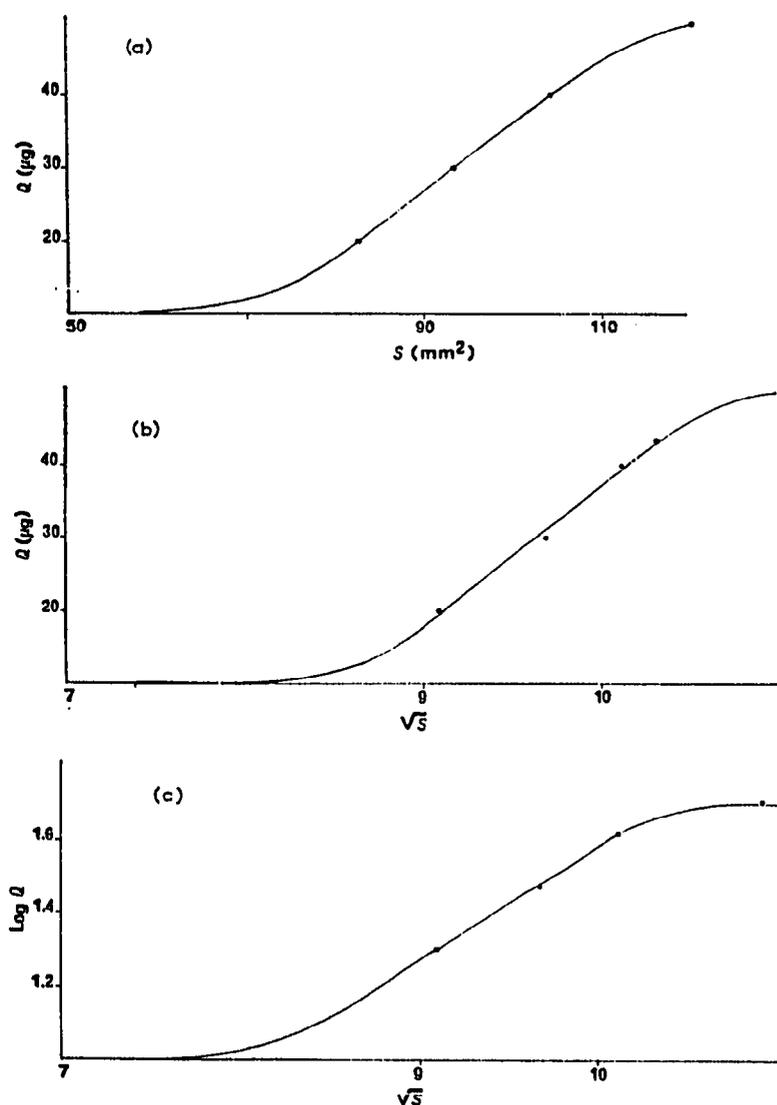


Fig. 4. Courbes relatives à la galangine. (a) $S = f(Q)$; (b) $\sqrt{S} = f(Q)$; (c) $\sqrt{S} = f(\log Q)$.

est plus forte que pour la trihexylamine. Le nombre le plus grand de cas favorables est trouvé pour la quercétine, puis se suivant par ordre décroissant, galangine et kaempférol. Nous avons fait, pour ces trois produits, les mêmes courbes que précédemment :

Quercétine: $S = f(Q)$ (Fig. 4a), $\sqrt{S} = f(Q)$ (Fig. 4b) et $\sqrt{S} = f(\log Q)$ (Fig. 4c).

Galangine: $S = f(Q)$ (Fig. 5a), $\sqrt{S} = f(Q)$ (Fig. 5b) et $\sqrt{S} = f(\log Q)$ (Fig. 5c).

Kaempférol: $S = f(Q)$ (Fig. 6a), $\sqrt{S} = f(Q)$ (Fig. 6b) et $\sqrt{S} = f(\log Q)$ (Fig. 6c).

L'examen de ces courbes nous permet de constater que: pour la quercétine, la courbe $\sqrt{S} = f(\log Q)$ possède la partie linéaire la plus longue; pour la galangine, cette partie est réduite; pour le kaempférol, on ne peut pas considérer cette courbe comme linéaire. Ces résultats recourent la conclusion déjà établie pour la trihexylamine.

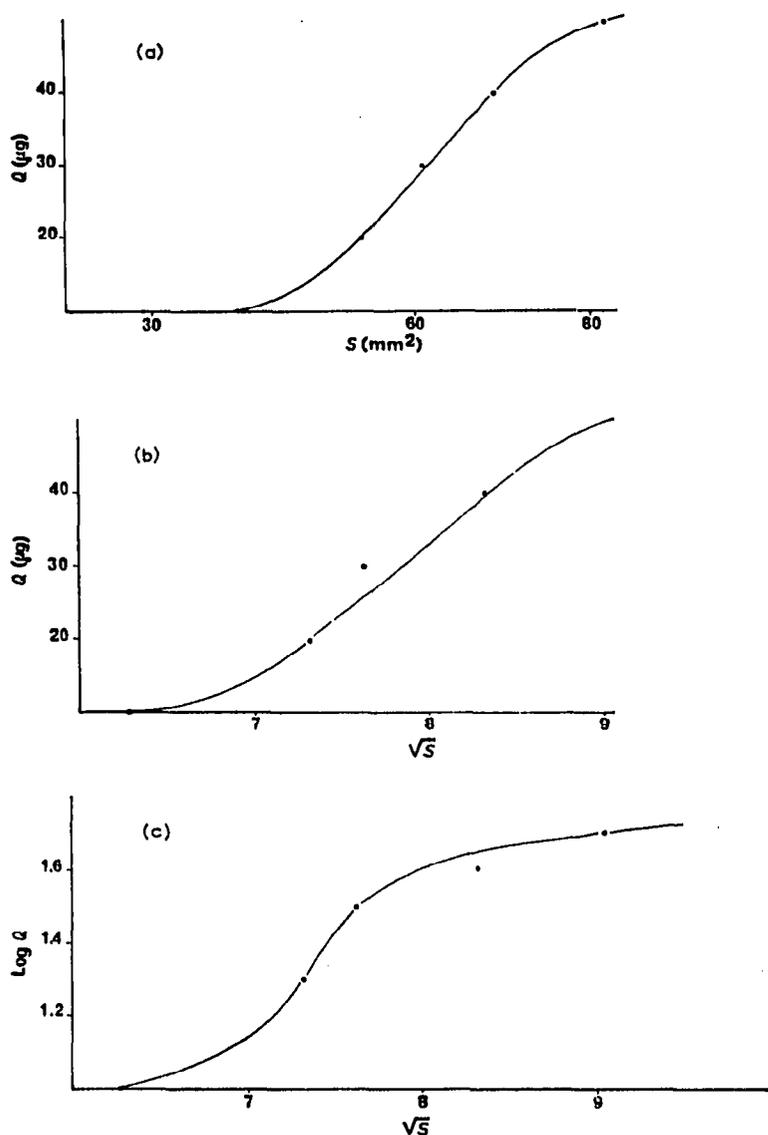


Fig. 5. Courbes relatives au kaempférol. (a) $S = f(Q)$; (b) $\sqrt{S} = f(Q)$; (c) $\sqrt{S} = f(\log Q)$.

Conclusions relatives au quatre produits étudiés

D'abord, du point de vue répartition des quantités déposées, on s'aperçoit que l'ordre des spots qui donnent le plus de résultats acceptables est, pour les quatre produits étudiés, la combinaison $D < Q < X$. De plus, les combinaisons envisagées, toujours pour les quatre produits, se suivent dans le même ordre: $D < Q < X$; $D < X < Q$ et $Q < D < X$. Par conséquent, il semblerait bien que cette méthode puisse donner des résultats relativement acceptables si la quantité standard Q est placée entre la quantité inconnue X et sa dilution D .

L'application de la formule de PURDY ET TRUTER devrait être une méthode générale et pourtant il apparaît que, seul, un mode de répartition donné soit privilégié, ce qui est une limitation très substantielle de ce système de dosage.

Si nous rapprochons les résultats exposés ici et ceux que nous avons établis dans la première partie de ce travail, nous pouvons conclure que, à de rares exceptions

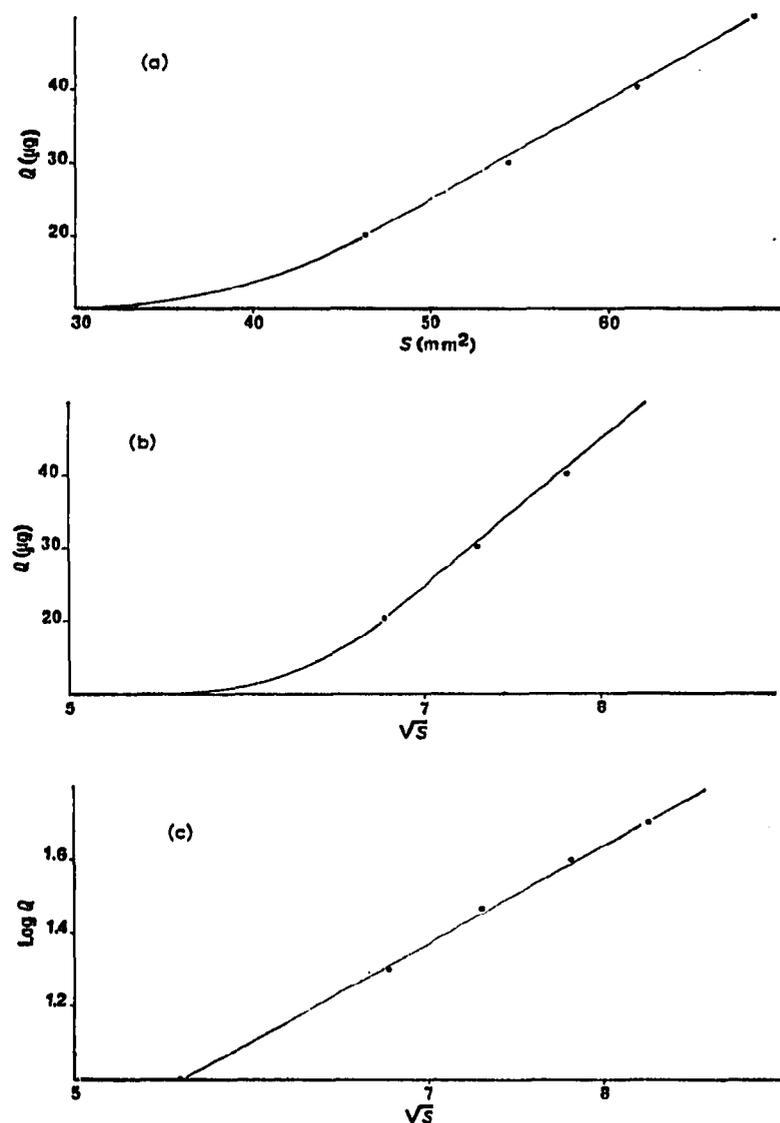


Fig. 6. Courbes relatives à la quercétine. (a) $S = f(Q)$; (b) $\sqrt{S} = f(Q)$; (c) $\sqrt{S} = f(\log Q)$.

et dans des conditions d'expérimentation extrêmement serrées, on ne peut envisager de réaliser une technique générale de dosage en chromatographie sur couches minces par mesure directe des surfaces sur les plaques au moyen de la technique très simple employée ici d'après PURDY ET TRUTER² et NYBOM⁹. Ceci rejoint, d'ailleurs, les conclusions de FAIRBAIRN⁵ qui a dû utiliser des conditions expérimentales draconiennes et mettre au point un appareil fort coûteux pour la mise en place des échantillons. Quant à la lecture des surfaces, il semble aussi qu'il faille employer des techniques très élaborées afin d'obtenir des résultats satisfaisants.

Malgré une apparente rapidité, la technique par "superféricimétrie" décrite ici et se terminant soit par l'établissement d'une courbe étalon, soit par l'application d'une formule mathématique, ne fournit ni la précision souhaitée, ni les résultats attendus. La détermination quantitative de produits séparés en chromatographie sur plaques, nécessitant le minimum de manipulation et d'appareillages et donnant le maximum de résultats acceptables, semblerait être soit l'élution suivie d'une colorimétrie ou d'un dosage UV, soit la densitométrie des taches après coloration¹⁶. En effet, ces méthodes tiennent compte des facteurs intensité de la coloration ou de la fluorescence et donnent des résultats obtenus par des appareils de mesure et non par des mesures subjectives.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier Monsieur le Professeur DUCHENE-MARULLAZ, Directeur Scientifique du C.E.R.M., pour la bienveillante attention qu'il a apportée à ce travail ainsi que Madame CLAUDE DUSSAP et Mademoiselle FRANÇOISE LOMBARD dont l'aide technique et les calculs nous ont été précieux.

RÉSUMÉ

Dans cet article, on a tenté d'appliquer pour un produit séparé en chromatographie sur plaque, une formule liant la quantité déposée à la seule surface obtenue après migration. La technique employée et les raisons qui nous ont amenés à son utilisation ont été exposées, suivie d'une discussion des résultats et les conclusions.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 R. BONDIVENNE, J. SIMOND ET N. BUSCH, *J. Chromatog.*, 41 (1969) 205.
- 2 S. J. PURDY ET E. V. TRUTER, *Analyst*, 87 (1962) 803.
- 3 S. J. PURDY ET E. V. TRUTER, *Chem. Ind. (London)*, (1962) 506.
- 4 M. S. J. DALLAS, *J. Chromatog.*, 17 (1965) 267.
- 5 J. W. FAIRBAIRN, dans E. J. SHELLARD (Rédacteur), *Quantitative Paper and Thin-Layer Chromatography*, Academic Press, London, New-York, 1965, pp. 1-15.
- 6 S. M. PARTRIDGE, *Biochem. J.*, 42 (1948) 241.
- 7 R. MUNIER ET M. MACHEBOEUF, *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 33 (1951) 846.
- 8 R. PARIS, *Prod. Pharm.*, 15 (1960) 347.
- 9 N. NYBOM, *J. Chromatog.*, 28 (1967) 447.
- 10 C. G. HONNEGER, *Helv. Chim. Acta*, 46 (1963) 1730.
- 11 R. BONDIVENNE ET N. BUSCH, *J. Chromatog.*, 29 (1967) 349.
- 12 D. JÄNCHEN, *J. Chromatog.*, 33 (1968) 195.
- 13 F. GEISS ET S. SANDRONI, *J. Chromatog.*, 33 (1968) 201.
- 14 F. GEISS ET H. SCHLITT, *J. Chromatog.*, 33 (1968) 208.
- 15 J. G. HEATHCOTE ET C. HAWORTH, *J. Chromatog.*, 43 (1969) 84.