

# étude fondamentale sur la chromatographie en phase supercritique et ses applications dans l'analyse des molécules chirales.

Dr.HAMADOUCHE.K<sup>1</sup>,Dr.SAIDI.W<sup>2</sup>. [kadoujhamada@gmail.com](mailto:kadoujhamada@gmail.com)

1.2. pharmaciennes assistantes en chimie analytique département de pharmacie. Faculté de médecine de Sidi Bel Abbès

## Introduction

La chromatographie en phase supercritique a connu une forte croissance ces dernière année, En raison de la réglementation environnementale plus stricte, les techniques supercritiques ont été développée, en tant qu'alternative aux procédés conventionnel, dans le but d'éviter l'utilisation des solvants organique toxique. La CFS peut être qualifiée de technique verte. La chromatographie par fluide supercritique (CFS) est utilisée pour la séparation des molécules chirales, thermolabiles et/ou de masses moléculaires élevées avec une résolution meilleure.



### A Objectif

- ☐ faire un rappel sur la chromatographie en phase Supercritique
- ☐ détailler les différentes applications dans l'analyse des molécules chirales.

### B Principe de la technique

la phase mobile est un fluide supercritique qui correspond à un état tr particulier que l'on peut assimiler à un liquide compressible de très faible viscosité. Il est obtenu en comprimant à basse température et à très haute pression (grâce à une pompe de HPLC dont les têtes sont réfrigérées) un gaz comme le CO<sub>2</sub>. Il en résulte un solvant éventuellement modifiable par quelques % de méthanol par exemple, qui sert de phase mobile pour une chromatographie qui peut s'effectuer aussi bien sur une colonne de HPLC en acier que sur une colonne capillaire de GLC. La faible viscosité du solvant autorise des débits élevés qui ne nuisent pas à l'efficacité des séparations qui sont effectuées en quelques minutes à quelques dizaines de minutes.

### C Partie pratique

Les procédés de chromatographie supercritique permettent de :

- ✓ Analyser de soluté de masse moléculaire + élevées > 1000 avec une résolution meilleure.
- ✓ Séparer des molécules très proches chimiquement (type énantiomères, composés chiraux)
- ✓ Purifier de larges quantités d'échantillons tout en réduisant les manipulations et consommations de solvants

### Applications en milieu dioxyde de carbone-modificateurs

#### polaires : chiralité.

Depuis la réalisation de la première séparation chirale en CPS en 1985, la plupart des phases chirales de la CPL ont été mises en œuvre en CPS avec

des mélanges CO<sub>2</sub>-modificateurs polaires. Pour une durée d'analyse constante, la résolution est toujours plus grande en CPS dans le domaine de temps considéré. La sélectivité est plus difficile à discuter puisque composé dépendante : elle peut donc être comparable à celle de la CPL ou supérieure comme le montrent la figure où l'on observe simultanément un accroissement de la sélectivité (dû probablement à la modification de la structure des cavités chirales de la cellulose en présence de la phase mobile supercritique) et, comme attendu, un gain de temps important.

#### BIBLIOGRAPHIE

M Hamon, G Mahuzier, D Ferrier, P Prognon. *Abrégés de Chimie analytique Tome 2 Methodes de separation*. Paris : Masson, 1999.

Marie Méjean, *Développement d'un couplage de chromatographie en phase supercritique et spectrométrie de masse pour l'analyse de substances naturelles*. Université Paris sud soutenue le 17/10/2014

Julien Crepier. *La chromatographie en phase supercritique couplée avec une détection UV et spectrométrie de masse haute résolution pour l'analyse d'échantillons complexes : application aux bio-huiles*, l'Université Claude Bernard Lyon 1 le 03/04/2018

Marcel CAUDE, Didier THIÉBAUT. *Technique d'ingénieur*.

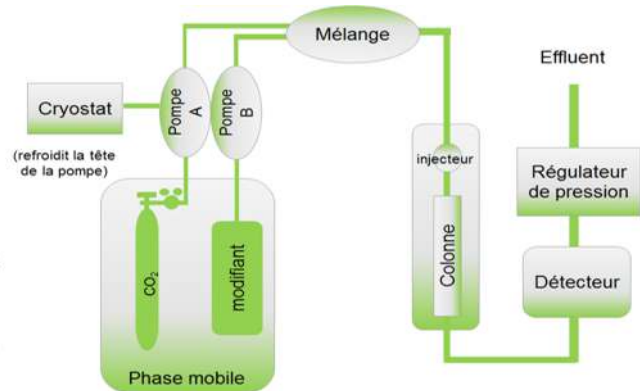
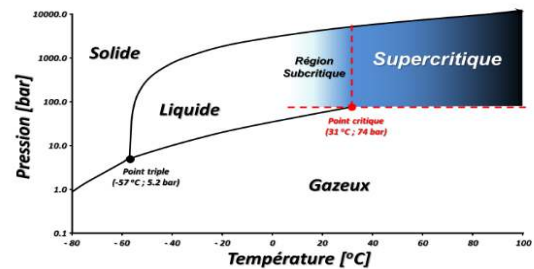


Figure 01: schéma représentatif de la chromatographie en phase supercritique.



La figure résume à elle seule les avantages de la CPS : ainsi, une séparation très rapide des deux énantiomères du propranolol est obtenue sur une phase de type Pirkle en sélectionnant des conditions opératoires permettant d'obtenir une grande vitesse de phase mobile dans une colonne très courte ; ces conditions sont possibles en raison de la sélectivité de la séparation qui peut être obtenue en mettant en œuvre du CO<sub>2</sub> à la place des solvants classiques de la CPL. Ainsi, la valeur de sélectivité dépasse-t-elle 1,5, ce qui permet d'obtenir une excellente résolution des énantiomères avec un nombre réduit de plateaux théoriques dans la colonne, autorisant aussi l'emploi d'une colonne très courte. On notera que la rétention des deux énantiomères est élevée malgré la rapidité de la séparation (k' est supérieur à 5 pour le premier énantiomère élu).

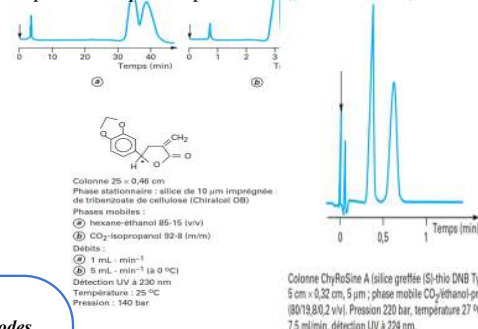


Figure 02 : Séparation d'une méthylène-lactone par chromatographie en phase liquide (a) et en phase supercritique(b)

Figure 03 : Séparation rapide des énantiomères du propranolol par CPS