



# ATELIER RÉVÉLATIONS

La puissance de cette étape et les révélateurs  
plus propres

Mercredi 6 Décembre 2023

26<sup>ème</sup> année



# Introduction Contributions Discussions Questions-réponses

Mercredi 6 Décembre 2023



# Comprendre la détection sur plaque

Il peut se présenter plusieurs cas de figure:

La molécule recherchée se voit sous la lumière du jour

Fluoresce sous la lumière UV en général 366nm

Absorbe dans l'UV en général à 254nm,  
d'où l'intérêt de l'indicateur de fluorescence

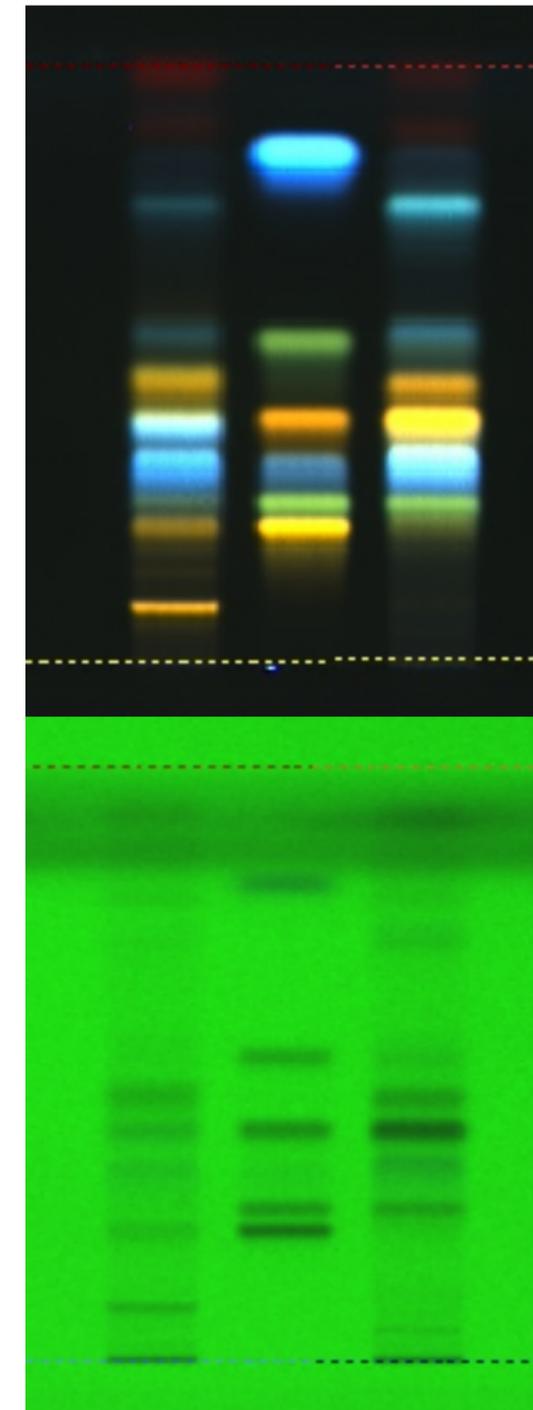
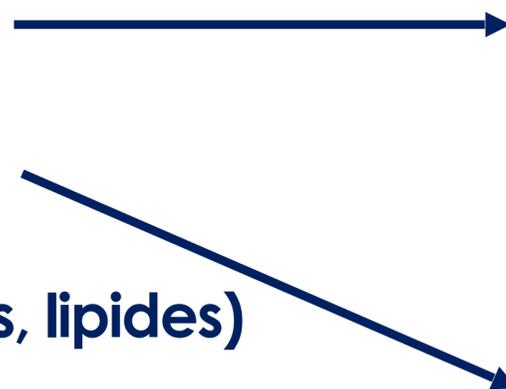
SINON c'est la RÉVÉLATION qui est nécessaire (sucres, lipides)

**IMPORTANT :**

1 / en fluorescence les molécules apparaissent  
en clair sur fond sombre, en absorbance en sombre  
sur fond clair

avec soit en UV 254 nm l'extinction de la fluorescence soit en  
visible l'absorbance de certaines couleurs =  $\lambda$

2/ avec un densitomètre qui mesure les  $\lambda$ , l'indicateur ne  
sert à rien mais il est nécessaire pour l'oeil humain et la photo.  
Par ailleurs les signaux fluo/abs sont inversés



# Révélation, dérivation sur plaque

Il en existe de deux sortes :

PRÉ CHROMATOGRAPHIQUE

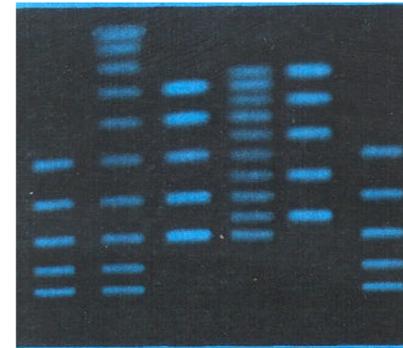
POST CHROMATOGRAPHIQUE

IMPORTANT :

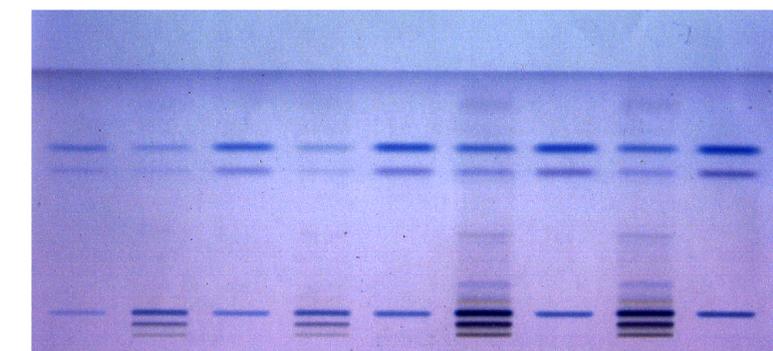
1/ il est parfois possible d'utiliser le réactif directement dans le solvant, comme la ninhydrine (0,5G/100ML)

2/ la méthodologie est importante pour deux raisons : l'homogénéité du fond de plaque en répartition à cause de la quantification et en finesse à cause du bruit de fond

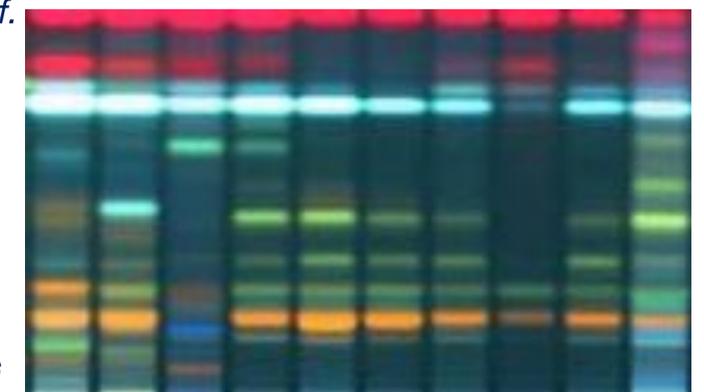
3/ le rapport signal bruit est également sensible à la cinétique réactionnelle aux solvants de migration et en fluorescence à l'ajout d'un film, PEG, paraffine, triton X100 par exemple



AG libres dansylés C11 C20 piste 4



CENTELLA + anisaldéhyde sulf.



Basilics & co + Réactif de NEU + PEG

# Sensibilité & sélectivité

**IMPORTANT:**

**TOUJOURS ÉVALUER**

**LA MEILLEURE MÉTHODE**

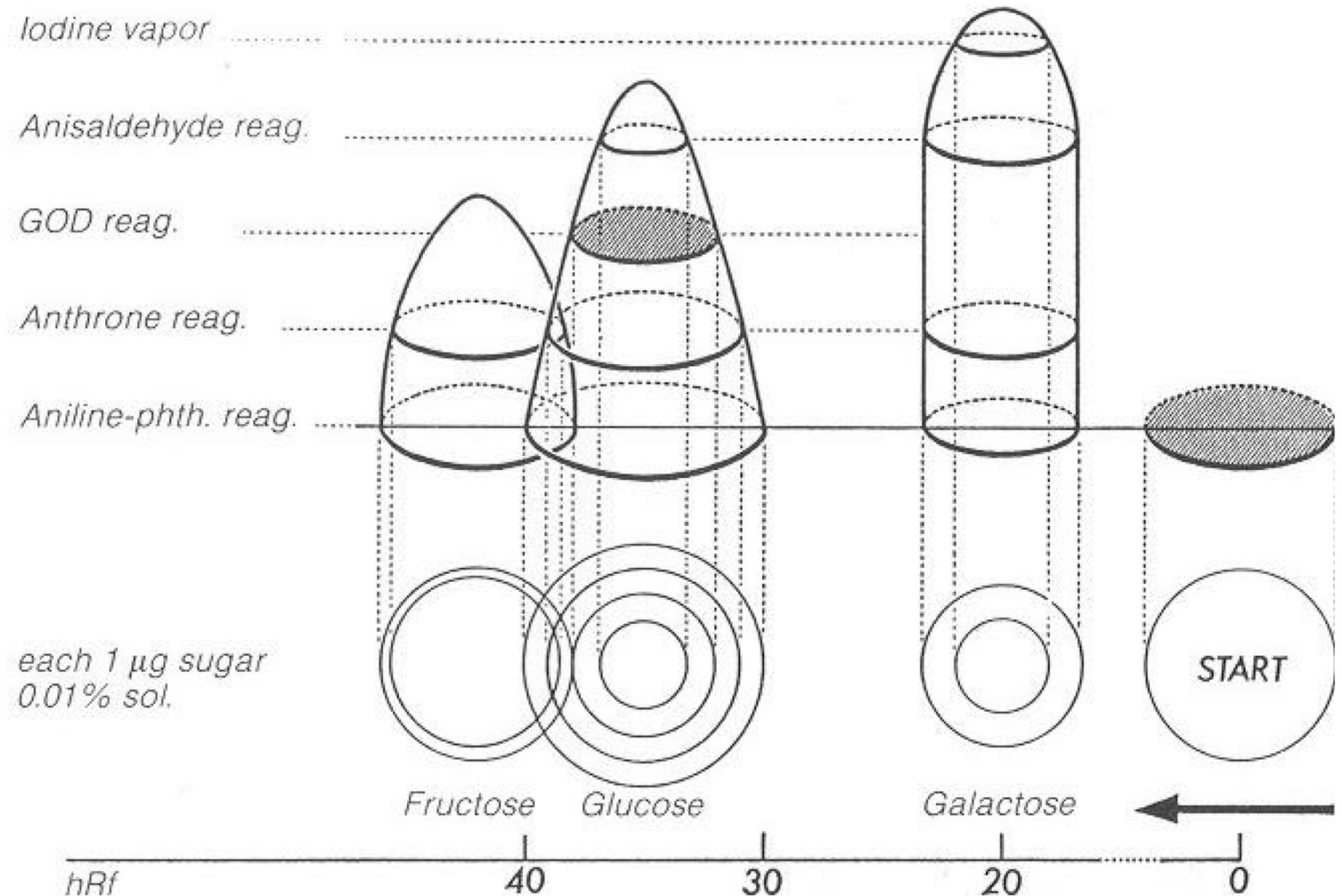
**DE DÉTECTION**

**C'est le point de départ de toute mise au point de méthode**

**Du fait de la fonction de réponse à connaître et ajuster**

**Donc attention au réactif universel qui ne voit rien ou au spécifique qui voit trop**

**Importance du seuil de pic et du fond de la plaque**



# En savoir plus

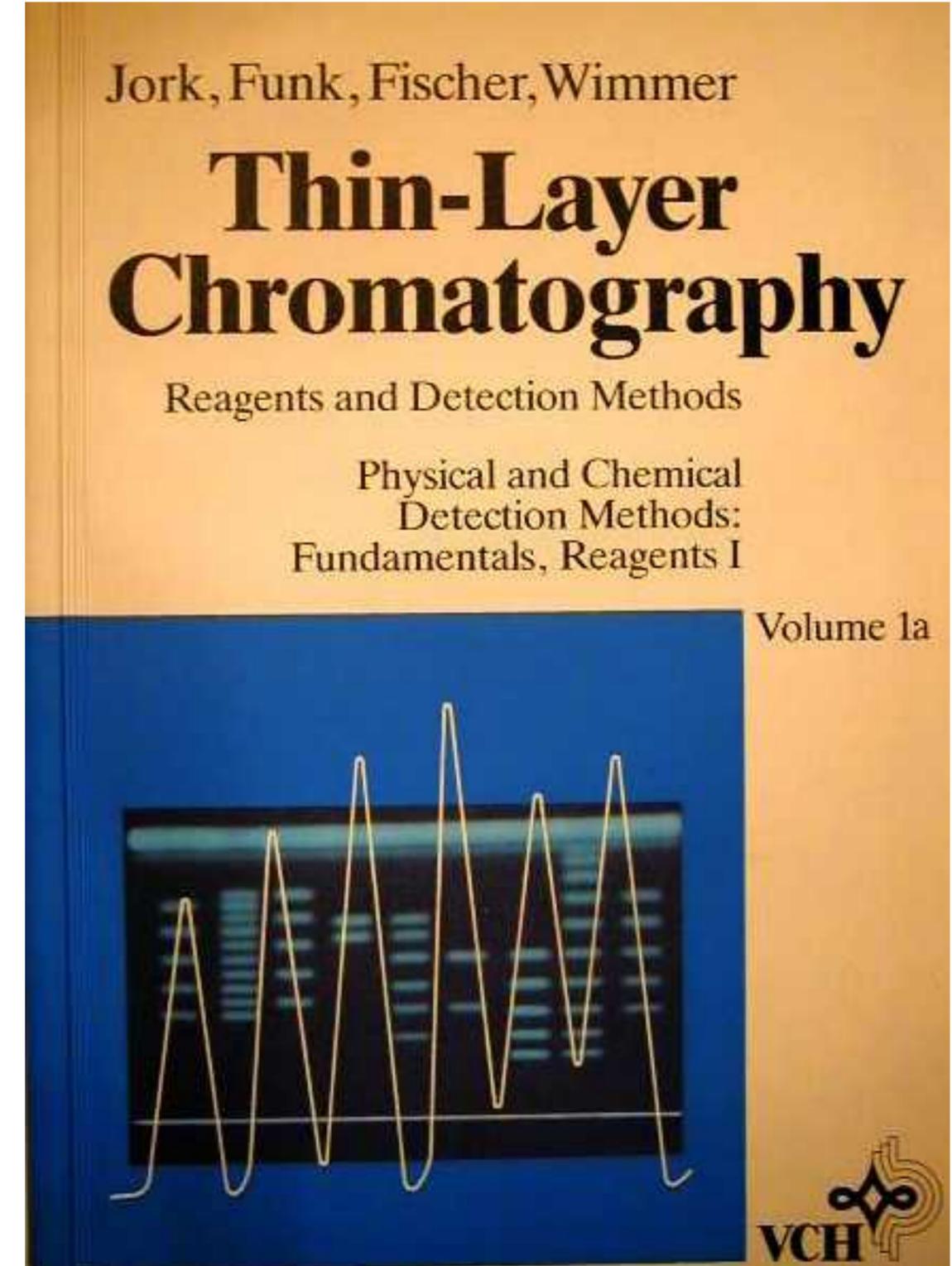
La littérature est le seul moyen de connaître les réponses possibles à une question donnée dans ce domaine.

Le livre des révélateurs est à télécharger sur notre site / archives et documents

[https://www.clubdeccm.com/wp-content/uploads/2022/06/Dyeing\\_Reagents\\_TLC.pdf](https://www.clubdeccm.com/wp-content/uploads/2022/06/Dyeing_Reagents_TLC.pdf)

## IMPORTANT :

La plus part des réactions ne sont pas complètement élucidées et il est par conséquent nécessaire parfois



version électronique sur demande

