

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**

**Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique**

**Ecole Nationale Supérieure Polytechnique**



المدرسة الوطنية المتعددة التخصصات  
Ecole Nationale Polytechnique

**Département de Génie Chimique**

**Projet de Fin d'Etudes  
Pour l'obtention du diplôme  
d'Ingénieur d'Etat en Génie Chimique**

**Thème**

**Mise au point d'un protocole d'analyse par  
chromatographie en phase gazeuse d'une base  
parfum**

**Proposé par :**

**SHYMECA (filiale ENAD)**

**Etudié par :**

**N.DAOU  
O.TAFFAHI**

**Dirigé par :**

**Pr. T.AHMED ZAID**

**Promotion juin 2009**

**E.N.S.P.10, Avenue Hacén Badi – El-Harrach - Alger**

## REMERCIEMENTS

Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer nos plus vifs remerciements :

- A notre promoteur Monsieur T. AHMED ZAID qui a bien voulu nous encadrer durant la réalisation de ce projet,
- Aux membres du jury qui ont bien voulu examiner notre travail :

Pr. A.SELATNIA	professeur (ENSP)	président
Pr. S.CHARCHARI	professeur(ENSP)	examinatrice
Mme F. MEZIANI	M.A.T. A (ENSP)	examinatrice

Mr. S.GARMEL Directeur de la qualité et développement (SHYMECA/ENAD) invité

Nos remerciements et notre reconnaissance sont également adressés :

- A Madame ZOUBIRI SAFIA du Centre de recherche et de développement de ALDAR pour son accueil, sa disponibilité et son assistance,
- Aux responsables du Laboratoire d'analyses chimiques de l'Ecole nationale supérieure agronomique,
- Aux responsables de l'unité Cosmétique de Rouiba ( SHYMECA/ ENAD).

Que nos camarades de promotion trouvent ici l'expression de notre amitié.

## *Dédicaces*

*A mes parents, à mes sœurs et à tous ceux qui me sont chers.*

**N.DAOU**

## *Dédicaces*

*A mes parents,*

*A mes frères et sœurs*

*Et à tous ceux qui me sont chers.*

*A Nabila et Lamia.*

**O. TAFFAHI**

## وضع بروتوكول تحليل قاعدة عطرية بواسطة التصوير التلوييني في الحالة الغازية

**ملخص:** يتضمن هذا العمل تحليل قاعدة عطرية. محتواه يتعلق بدراسة عوامل التحليل بواسطة التصوير التلوييني في الحالة الغازية، و محاولة معرفة المكونات بتقنية GC-MS و معاملات الحفظ. برمجة درجة الحرارة يحدد نوعية الفصل بين مكونات العينة المراد تحليلها، صيغة للبرمجة تم اقتراحها في إطار هذا العمل. دقة وضوح الذبذبات تتأثر بسرعة تدفق الغاز المحرك، برمجة درجة الحرارة و طبيعة الطور المستقر. هذا العمل سمح بالتعرف على 31 مكون للقاعدة العطرية التي تم تحليلها. الكلمات الأساسية: قاعدة عطرية، التصوير التلوييني في الحالة الغازية، قياس طيف الكتلة، معامل الحفظ.

### MISE AU POINT D'UN PROTOCOLE D'ANALYSE PAR CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE D'UNE BASE PARFUM

**Résumé :** le présent travail consiste à analyser une base parfum. Il s'agit d'étudier les paramètres d'analyse par chromatographie en phase gazeuse, et de tenter une identification des constituants par l'utilisation du couplage GC/MS et des indices de rétention. La résolution des pics est affectée par le débit du gaz vecteur, le mode de programmation de température et la nature de la phase stationnaire.

Le protocole appliqué a permis d'identifier 31 constituants dans la base parfum analysée.

**Mots clés :** base parfum, chromatographie en phase gazeuse, spectrométrie de masse, indice de rétention.

### GAS CHROMATOGRAPHIC ANALYSIS OF A FRAFRANCE : OPTIMIZATION

**Summary:** this work aims to achieve the best chromatographic analysis of a commercial fragrance. The major components of the mixture have been separated and identified using the GC/MS technique and retention indices. The resolution of the peaks is affected by the carrier gas flow, oven programmed temperatures and type of stationary phase.

The operating conditions permitted to identify 31 components of the studied fragrance.

**Key words:** fragrance, gas chromatography, mass spectrometry, retention index.

# TABLE DES MATIERES

## INTRODUCTION

## CHAPITRE I. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

1. THEORIE DE LA CHROMATOGRAPHIE .....	2
1.1. Définition et historique .....	2
1.2. Les différentes chromatographies .....	2
1.3. Les applications de la chromatographie .....	2
1.4. Les paramètres de base de la chromatographie .....	3
1.5. Les facteurs caractérisant la rétention .....	4
1.6. Les facteurs caractérisant la séparation .....	6
2. LA CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE.....	8
2.1. Historique et définition .....	8
2.2. Avantages et inconvénients de cette méthode d'analyse.....	9
2.3. Les principales parties d'un appareil d'analyse en chromatographie en phase gazeuse....	9
2.4. L'optimisation de la séparation en chromatographie en phase gazeuse.....	10
2.4.1. Influence des paramètres de la colonne.....	11
2.4.2. la phase stationnaire.....	12
2.4.3. L'influence de la vitesse de la phase mobile sur la séparation chromatographique....	12
2.4.4. Influence de la température sur la séparation.....	12
3. ANALYSE QUALITATIVE.....	15
3.1. Identification en condition isotherme.....	15
3.2. Identification en programmation de température.....	16
4. LE COUPLAGE CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE/SPECTROMETRIE DE MASSE.....	17
4.1. Définition et principe de la spectrométrie de masse.....	17
4.2. La structure du spectromètre de masse.....	17
4.3. Le couplage de la chromatographie en phase gazeuse et du spectromètre de masse.....	18
5. LA CHIMIE DES BASES PARFUM.....	20
5.1. La définition d'une base parfum.....	20
5.2. La structure de l'industrie des parfums.....	20
5.3. La théorie de l'odeur.....	21
5.4. La description de l'odeur.....	22
5.5. La composition des bases parfums.....	22
5.5.1. Les muscs.....	22
5.5.2. Les huiles essentielles.....	24
5.5.3. Les composés définis isolés.....	26
5.6. Les facteurs affectant l'utilisation des composés odorants.....	26
5.7. Le contrôle de la qualité.....	27
5.8. Les applications industrielles des bases parfum.....	28
5.9. Le contrôle des produits malodorants.....	28

## **CHAPITRE II. MATERIELS ET METHODES**

1. MATERIEL.....	29
2. METHODES D'ETUDE.....	30
2.1. Méthodes de séparation. ....	30
2.2. La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.....	31
2.3. Optimisation de la séparation.....	31
2.3.1. Le volume du soluté à analyser injecté.....	32
2.3.2. Le type de colonne utilisée.....	32
2.3.3. Les modalités de programmation de la température.....	32
2.3.4. Le débit du gaz vecteur.....	35
2.3.5. La température du détecteur.....	35
2.4. L'identification des constituants de la base parfum.....	35
2.4.1. Identification par les indices de rétention.....	35
2.4.2. L'identification par GC/MS.....	36
2.5. Résultats enregistrés.....	37

## **CHAPITRE III. RESULTATS ET DISCUSSION**

1. LES PARAMETRES D'OPTIMISATION DE LA SEPARATION CHROMATOGRAPHIQUE.....	38
1.1. Test préliminaire sur la fiabilité du volume injecté.....	38
1.2. L'influence de la programmation de la température sur la séparation des constituants...41	
1.2.1. La colonne polaire.....	41
1.2.2. La colonne apolaire.....	54
1.3. L'influence du débit du gaz vecteur.....	62
1.4. L'influence de la température du détecteur.....	62
2. IDENTIFICATION DES CONSTITUANTS DE LA BASE PARFUM.....	65
2.1 Identification par le couplage GC/MS.....	65
2.2. L'identification par les indices de rétention.....	71
2.2.1. Indices de rétention de la colonne polaire (PEG).....	72
2.2.2. Indices de rétention de la colonne apolaire (HP-5).....	74
2.3. Identification des constituants par la mise en œuvre simultanée des deux méthodes....	78
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>83</b>

## **BIBLIOGRAPHIE**

## **ANNEXE**

## INTRODUCTION

Les méthodes de séparation correspondent à la partie la plus ancienne de la chimie analytique, ces méthodes sont parfois appelées «analyse immédiate». Elles ont permis d'isoler de nombreuses substances tels que les corps gras, les alcaloïdes, les hétérosides. Les progrès spectaculaires de la chimie de synthèse l'avaient éclipsé quelques peu, elles ont retrouvé une nouvelle faveur depuis quelques décennies, avec l'isolement de vitamines, d'hormones, et d'antibiotiques. Ces progrès ont été réalisés, notamment, grâce à des techniques nouvelles telles que les méthodes chromatographiques ou électrophorétiques [1].

L'objectif de notre travail est de faire une analyse qualitative d'une base parfum importée par l'Entreprise d'Hygiène Ménagère et Corporelle d'Alger (SHYMECA) qui est une filiale de groupe publique algérien ENAD spécialisée dans l'industrie cosmétiques et les produits d'hygiène et d'entretien. Son souci permanent est d'assurer la protection du consommateur qui constitue un objectif important pour les industries des produits d'hygiène corporelle et des fragrances.

Ce travail nous a été confié par cette Entreprise qui dispose d'un Chromatographe en phase gazeuse au niveau de son unité de production de Rouiba (Unité Cosmétiques). C'est au sein du laboratoire de cette unité dont la mission principale est le contrôle de qualité des produits finis que ce travail a été effectué. L'échantillon objet de l'analyse est une base parfum dénommée SARDEGNA MEN et utilisée pour la formulation d'une lotion after-shave.

Des essais physico-chimiques et des analyses biologiques sont généralement réalisés sur les produits finis pour veiller à la sécurité des consommateurs qui les utilisent. Ces analyses portent essentiellement sur la détermination des points d'extrémité de sensibilisation de la peau pour déterminer les limites d'incorporation des fragrances dans les produits finis. La méconnaissance de la composition chimique de ces fragrances limite la fiabilité de ces analyses. Ce travail a donc pour objectif de combler cette lacune dans la maîtrise de la qualité. Notons que la majorité des ingrédients utilisés pour la fabrication de produits finis est importée de l'étranger. Les fiches techniques de ces matières importées se contentent d'une description sommaire avec très peu d'informations sur tout ce qui concerne la composition. Une de fiche technique relative au produit étudié est donnée dans l'annexe 1.

La première partie de notre travail au sein du Laboratoire est de remettre en marche un chromatographe en phase gazeuse de marque Agilent Technologies Modèle 6890N. Ce chromatographe est couplé à une plateforme informatique Chemstation Plus de Agilent. Une première phase d'initiation à cette station a donc été nécessaire avant de pouvoir procéder aux analyses de l'échantillon et de proposer un protocole d'analyse permettant la séparation et l'identification des composés majeurs de la base parfum.

La réalisation de ce projet constitue donc une contribution au développement de la démarche qualité de l'Entreprise, cette démarche permettra d'améliorer la crédibilité des produits de l'entreprise auprès de ses clients. Cette approche permet également de conforter les résultats des analyses de l'équipe du laboratoire physico-chimique, elle permettra entre-autres de fournir les informations nécessaires pour une amélioration des formulations des produits parfumés.



## **CHAPITRE I. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE**

### **1. Théorie de la chromatographie**

#### **1.1. Définition et historique**

Le terme chromatographie fait référence actuellement à l'ensemble des techniques qui ont comme principe commun la séparation des composés d'un mélange par l'intermédiaire d'une série d'équilibres en raison de la différence de leur miscibilité entre deux phases en contact, l'une stationnaire et l'autre mobile [2].

Sur le plan historique, la chromatographie est née en 1903 à la suite des travaux du botaniste russe Tswett qui a pu récupérer des pigments de chlorophylle dissous dans l'éthanol en les entraînant avec de l'éther de pétrole (qui constitue la phase mobile) sur une colonne remplie de carbonate de calcium (qui constitue la phase stationnaire). L'amélioration de cette technique par Kuhn et Lederer en 1931 a permis de proposer la chromatographie d'adsorption. C'est en 1952 que Martin et James mettent au point la chromatographie en phase gazeuse pour séparer des composés volatils [3].

#### **1.2. Les différentes chromatographies**

Les chromatographies sont généralement classées selon les critères suivants [4] :

- La nature des phénomènes physicochimiques qui sont à l'origine de la séparation des composés, dont les plus connus mettent en œuvre l'un des phénomènes suivants, le partage, l'adsorption, l'échange d'ions, l'exclusion-diffusion, la formation de paires d'ions, l'affinité.
- L'état physique des deux phases, la phase stationnaire et la phase mobile comme la chromatographie gaz- liquide, la chromatographie gaz- solide, la chromatographie liquide-liquide, la chromatographie liquide- solide.
- La nature de la phase mobile : selon la nature de la phase mobile, on distingue la chromatographie en phase liquide, la chromatographie en phase gazeuse, la chromatographie en phase supercritique.
- Les modalités adoptées pour immobiliser la phase stationnaire : l'immobilisation de la phase stationnaire permet de différencier deux types de chromatographie, la chromatographie sur papier ou en couche mince et la chromatographie sur colonne

#### **1.3. Les applications de la chromatographie**

La chromatographie fait l'objet de plusieurs applications dans divers domaines :

- Les industries pharmaceutiques
- L'Analyse des hydrocarbures
- La parfumerie
- la protéomique.
- L'analyse du sang dans les laboratoires médicaux.

#### 1.4. Les paramètres de base de la chromatographie

Plusieurs paramètres fondamentaux permettent de caractériser une analyse par chromatographie : le temps de rétention, le temps mort, le temps de rétention réduit, le temps de rétention net, le volume de rétention ou volume d'éluion, le volume de rétention réduit, le volume d'un pic, le volume mort, le volume de rétention net [2,5].

- **le temps de rétention  $t_R$**  : le temps de rétention est le temps écoulé entre l'instant de l'injection et celui du maximum du pic correspondant à un constituant donné.

- **Le temps mort  $t_M$  ou  $t_0$**  : un constituant non retenu sort de la colonne à un temps  $t_M$  appelé temps mort.

- **Le temps de rétention réduit  $t'_R$**  : le temps de rétention réduit est la différence entre le temps de rétention  $t_R$  et le temps mort  $t_M$  du composé.

- **Le temps de rétention net  $t_N$**  : il correspond au produit du temps de rétention réduit  $t'_R$  par le facteur de compressibilité de la phase mobile **J** :

$$T_N = t'_R \cdot J$$

- **Le volume de rétention ou volume d'éluion  $V_R$**  : le volume de rétention d'un soluté représente le volume de la phase mobile nécessaire pour le faire migrer d'une extrémité à l'autre de la colonne. Il correspond, sur le chromatogramme, au volume de la phase mobile qui s'est écoulée entre l'instant de l'injection et l'instant de l'apparition du maximum du pic du soluté. Pour un débit  $D$  constant de la phase mobile,  $V_R$  se calcule ainsi :

$$V_R = t_R \cdot D$$

- **Le volume de rétention réduit  $V'_R$**  : il correspond au produit du temps de rétention réduit  $t'_R$  par le débit constant **D** :

$$V'_R = t'_R \cdot D$$

- **Le volume d'un pic** : il correspond au volume de la phase stationnaire dans lequel le soluté est dilué en sortie de colonne.

- **Le volume mort  $V_M$**  : il représente le volume de la phase mobile qui passe à travers la colonne entre le temps d'injection et le temps mort, soit le produit suivant :

$$V_M = t_0 \cdot D$$

- **Le volume de rétention net  $V_N$**  : Il représente le volume de rétention réduit multiplié par le facteur de compressibilité **J** de la phase mobile :

$$V_N = V'_R \cdot J$$

- **Le chromatogramme** : il s'agit de la représentation des variations du signal envoyé par le détecteur en fonction du temps (ou, très rarement, en fonction du volume d'éluion). La

séparation est complète quand le chromatogramme représente autant de pics revenant à la ligne de base (qui est un tracé obtenu en l'absence de composé élué) que de composés existants dans le mélange à analyser. Un exemple de chromatogramme est présenté sur la figure 2.

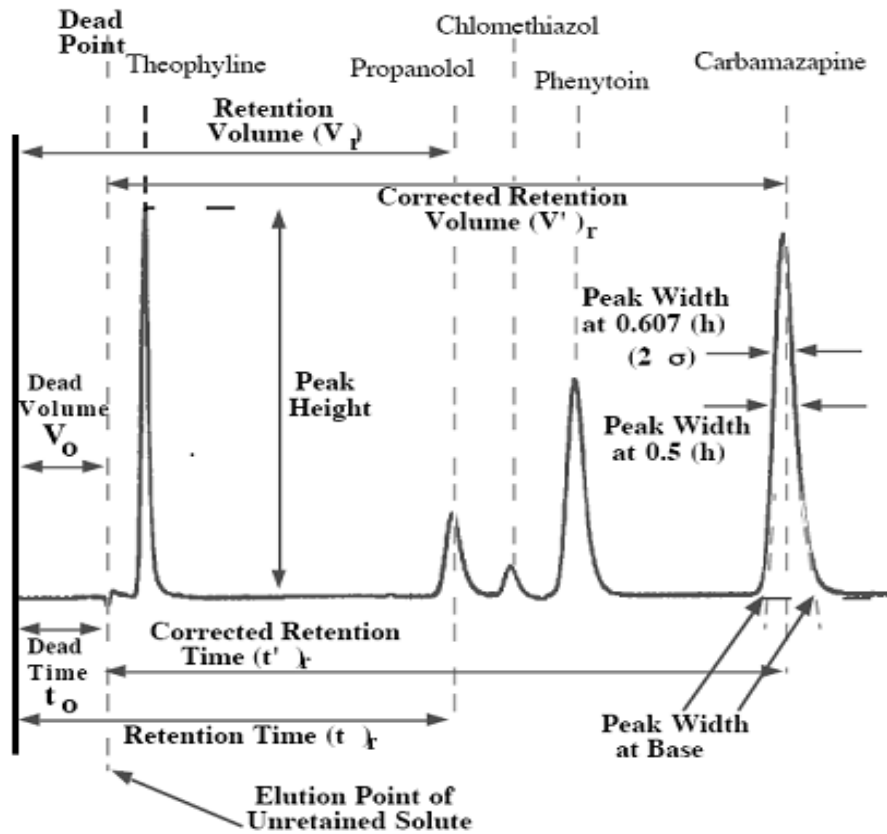


Figure 2. Schéma représentant un chromatogramme avec ces paramètres [6].

### 1.5. Les facteurs caractérisant la rétention

Deux principaux facteurs permettent de caractériser la rétention, il s'agit de la constante ou coefficient de distribution de NERNST (K), et le facteur de rétention ou capacité k.

- **La constante ou le coefficient de distribution de NERNST (K) :** c'est un paramètre physico-chimique de base en chromatographie, il traduit le rapport de la concentration du soluté dans les deux phases en présence :

$$K = \frac{C_S}{C_M}$$

$C_S$  = concentration du soluté dans la phase stationnaire

$C_M$  = concentration du soluté dans la phase mobile

Pour des valeurs de K constantes, la chromatographie est linéaire. Avec plus de rigueur sur le plan physicochimique :

$$K = \frac{a_S}{a_M}$$

Avec  $a_S$  et  $a_M$  qui représentent les activités de la phase stationnaire et de la phase mobile respectivement.

Lors de l'équilibre des deux phases :  $C_M \Leftrightarrow C_S$

$$\Delta G^\circ = -R \cdot T \ln(K) \quad \text{et} \quad \Delta G^\circ = \Delta H^\circ - \Delta S^\circ$$

La combinaison des équations précédentes permet d'obtenir la relation suivante :

$$\frac{d(\ln(K))}{dt} = \frac{\Delta H}{RT^2}$$

- Le facteur de rétention ou de capacité k : il est calculé ainsi :

$$k = \frac{m_S}{m_M} = \frac{C_S V_S}{C_M V_M} = \frac{K V_S}{V_M}$$

$m_S$  : la masse du soluté dans la phase stationnaire

$m_M$  : la masse du soluté dans la phase mobile

Le facteur de rétention ne dépend ni de la longueur de la colonne, ni du débit de la phase mobile, cependant il constitue un paramètre important pour identifier le soluté.

Si on considère maintenant  $n$  molécules semblables de ce soluté dans l'échantillon (masse  $m_T$ ), on pourra admettre qu'à chaque instant, le rapport statistique du nombre des  $n_S$  molécules fixées sur la phase stationnaire (masse  $m_S$ ) et des  $n_M$  molécules présentes dans la phase mobile (masse  $m_M$ ), est le même que celui des temps passés dans chaque phase pour une molécule isolée. Les rapports suivants ont donc la même valeur :

$$k = \frac{n_S}{n_M} = \frac{m_S}{m_M} = \frac{t_S}{t_M}$$

Avec :

$t_S$  : le temps passé par les molécules dans la phase stationnaire ( $t_S = t'_R$ )

$t_M$  : le temps passé par les molécules dans la phase mobile ( $t_M = t_0$ )

$$k = \frac{t'_R}{t_0} = \frac{(t_R - t_0)}{t_0} \quad \text{ce qui implique } t_R = t_M (1 + k)$$

Pour un débit D constant  $V_R = V_M(1 + k)$

La relation entre  $V_R$ ,  $V_s$  et  $V_M$  peut être démontrée comme suit :

$$k = \frac{t'_R}{t_0} = \frac{V'_R}{V_M} = \frac{V_R - V_M}{V_M} = \frac{KV_s}{V_M} \quad \text{d'où } KV_s = V_R - V_M$$

Finalement on obtient :  $V_R = KV_s + V_M$

Lorsque  $K=0$ ,  $V_R = V_M$  : le soluté n'est pas retenu par la phase stationnaire.  
Plus k est élevé, plus le soluté est retenu par la phase stationnaire.

D'autre part :  $L = u \cdot t_M$

Avec :

$L$  : la longueur de la colonne.

$u$  : vitesse linéaire de la phase mobile

En remplaçant  $t_M$  par  $L/u$ , on obtient :  $t_R = t_M (1 + k) = L/u (1 + k)$

## 1.6. Les facteurs caractérisant la séparation

- **Le facteur de séparation ou sélectivité entre deux solutés** : il précise la position relative de deux pics adjacents 1 et 2 sur le chromatogramme. Par définition, il ne peut pas être inférieur à 1 [5]. Ce facteur,  $\alpha$ , se calcule ainsi :

$$\alpha = \frac{t'_{R2}}{t'_{R1}} = \frac{t_{R2} - t_{M2}}{t_{R1} - t_{M1}}$$

Pour un débit de phase mobile D constant :  $\alpha = \frac{V_{R2} - V_M}{V_{R1} - V_M}$

Or  $V_{R1} = V_M(1 + k_1)$  et  $V_{R2} = V_M(1 + k_2)$

On déduit donc que :  $\alpha = k_2 / k_1$

Comme :  $k_1 = \frac{K_1 V_s}{V_M}$  et  $k_2 = \frac{K_2 V_s}{V_M}$ , il est déduit :  $\alpha = \frac{K_2}{K_1}$

Avec les indices 1 et 2 qui correspondent respectivement au soluté 1 et au soluté 2.

- **La hauteur équivalente à un plateau théorique ( HEPT) :** la hauteur équivalente à un plateau théorique est définie par la relation suivante :

$$HEPT=L/N$$

Avec :

**L** : la longueur de la colonne

**N** : le nombre de plateaux théoriques

Une grande efficacité donne lieu à des pics plus étroits comme le montre la figure 3.

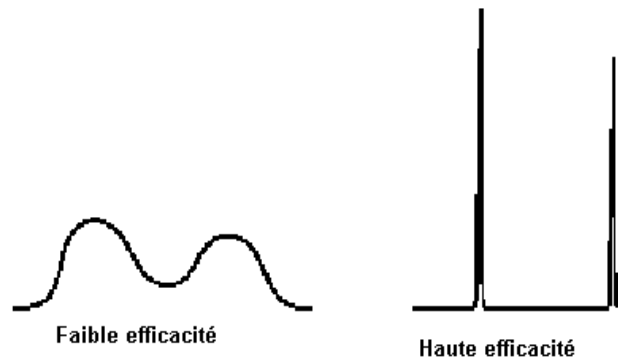


Figure 3. Exemples de pics de différentes efficacités [ 5]

-**Le facteur de traînée et facteur d'asymétrie :** l'asymétrie d'un pic est traduite par deux facteurs appelés facteur d'asymétrie  $F_a$ , et facteur de traînée  $F_b$  mesurés à 10% de la hauteur comme l'indique la figure 4 :

$$F_a = b/a \quad \text{et} \quad F_b = (a+b)/(2 a)$$

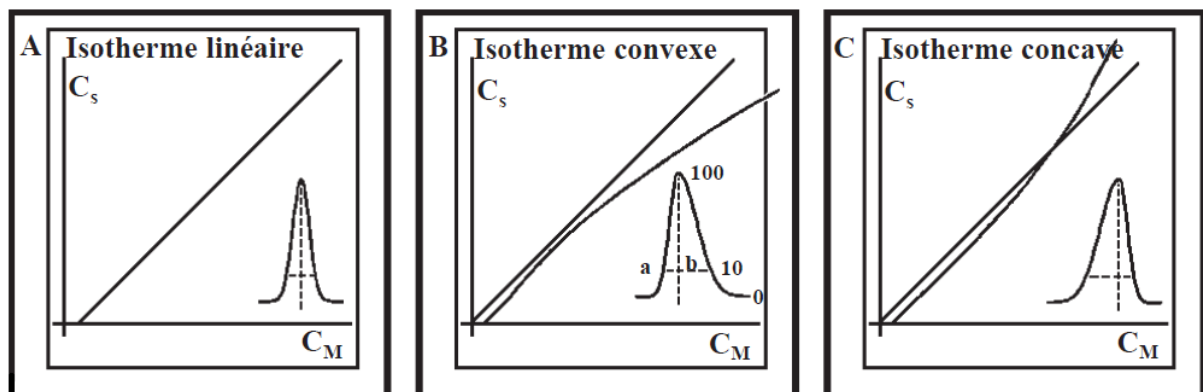


Figure 4. Les isothermes et les facteurs de traînée et d'asymétrie [ 7]

- **Le facteur de résolution entre deux pics** : pour une bonne séparation, il faut avoir autant de pics que de solutés, et il faut également que les pics soient suffisamment séparés. La résolution (R) définit la plus ou moins bonne séparation de deux pics voisins, elle est définie par la relation suivante :

$$R = 2 \frac{t_{R2} - t_{R1}}{\omega_1 + \omega_2} = 1.177 \frac{t_{R2} - t_{R1}}{\omega(0.5)_1 + \omega(0.5)_2}$$

Avec :

$\omega$  : largeur du pic mesurée à 13.5% de la hauteur

$\omega(0.5)$  : largeur du pic à mi-hauteur

La séparation est d'autant meilleure, que la valeur de R est élevée (figure 5). La valeur optimale de R est de 1.5 en analyse quantitative.

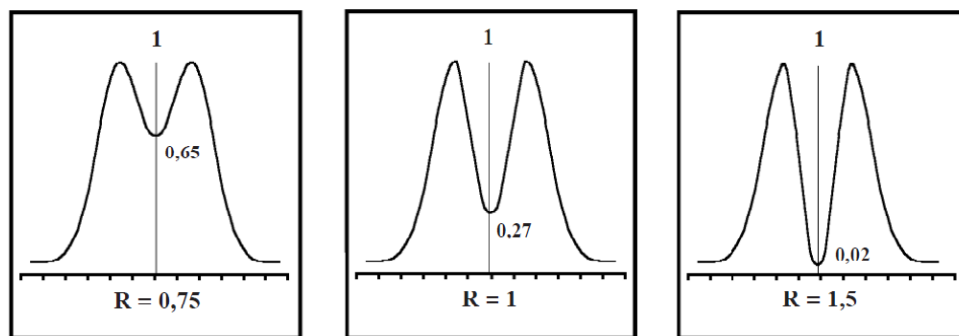


Figure 5. Relation entre la valeur de R et a qualité de la séparation [ 7]

Pour améliorer la résolution, il est possible d'augmenter le nombre de plateaux N, soit par allongement de la colonne, soit par diminution de la hauteur des plateaux. Cette dernière peut se réaliser en modifiant soit la taille des particules de la phase stationnaire, soit la vitesse de la phase mobile.

## 2. LA CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE

### 2.1. Historique et définition

La chromatographie en phase gazeuse est apparue à la suite des travaux de Martin et James (1952, cités par [ 8]) réalisées sur des acides gras libres. La chromatographie en phase gazeuse a connu, ensuite, d'importants progrès d'instrumentation et des phases mises en jeu.

Le terme chromatographie en phase gazeuse fait référence à un ensemble de techniques basées sur la théorie de la chromatographie. Elle fait intervenir deux phases, une phase mobile qui est un gaz, et une autre phases stationnaire qui peut être soit liquide (chromatographie de partage, CLG), soit solide (chromatographie d'adsorption CSG). Elle est utilisée pour séparer des composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage, sans décomposition. La chromatographie en phase gazeuse réalise la séparation des constituants et détermine leurs quantités.

## **2.2. Avantages et inconvénients de cette méthode d'analyse**

Les avantages et les inconvénients de la chromatographie en phase gazeuse sont [ 8] :

- Les avantages de la chromatographie en phase gazeuse
  - c'est une méthode d'analyse rapide,
  - elle est efficace, et elle donne lieu à de bonnes séparations,
  - elle est très sensible à des traces de l'ordre de la ppm, voire du ppb,
  - elle permet des couplages grâce à sa propriété non destructive (couplage, par exemple avec la spectrométrie de masse GC/MS) ,
  - c'est une analyse quantitative fiable,
  - elle requiert des petites quantités d'échantillon à analyser,
  - elle est fiable et relativement simple,
  - elle n'est pas coûteuse.
  
- Les inconvénients de la chromatographie en phase gazeuse
  - elle est limitée aux échantillons volatiles,
  - elle n'est pas recommandée pour les échantillons thermolabiles,
  - elle est assez difficile à utiliser si l'échantillon nécessite des prétraitements,
  - elle requiert des techniques spectroscopiques, généralement la spectrométrie de masse pour l'identification des pics.

## **2.3. Les principales parties d'un appareil d'analyse en chromatographie en phase gazeuse**

Le chromatographe est constitué d'un injecteur, une colonne et un détecteur. Pour entraîner l'échantillon le long de la colonne, un gaz est utilisé, il est appelé gaz vecteur et il représente la phase mobile. Les débits, contrôlés avec précision, permettent une grande répétitivité des temps de rétention. L'analyse commence lors de l'introduction de l'échantillon dans l'injecteur qui va ramener ce dernier à l'état gazeux, et l'introduire dans le flux gazeux en tête de colonne. Celle-ci est un tube enroulé sur lui-même et dont la longueur varie selon le type, elle renferme la phase stationnaire. La colonne est installée dans une enceinte à température réglable. Le gaz, à la sortie de la colonne, passe par le détecteur [ 9] (figure 6).



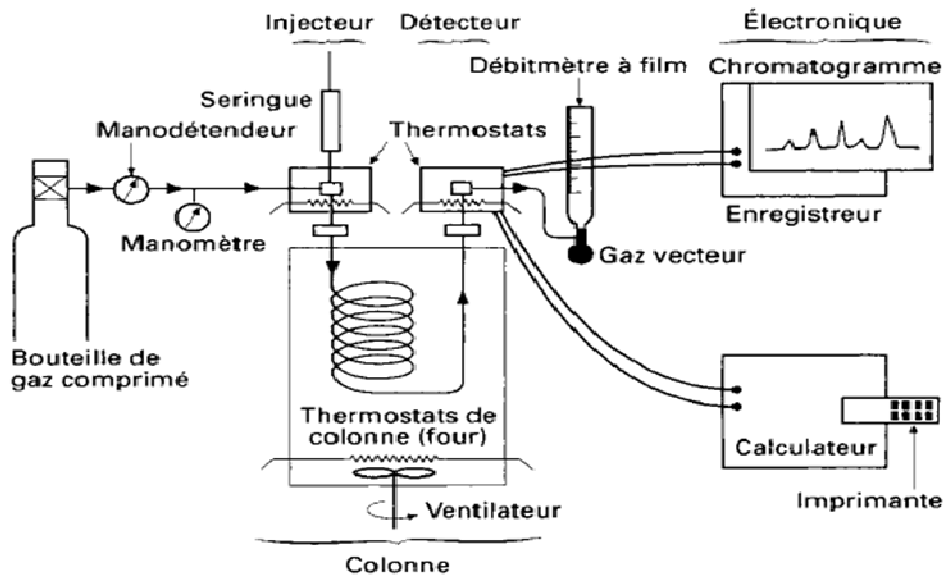


Figure 6. Structure d'un appareil d'analyse par chromatographie en phase gazeuse [ 10]

## 2.4. L'optimisation de la séparation en chromatographie en phase gazeuse

Le but de l'optimisation est de réussir une séparation suffisante des composés constituant le soluté en un minimum de temps.

L'opérateur en chromatographie est toujours prisonnier d'un triangle dont les sommets correspondent à la résolution, à la rapidité, et à la capacité (figure 7). Ces trois paramètres s'opposent généralement.

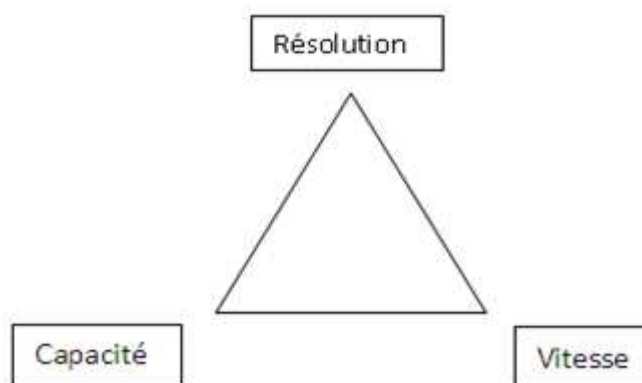


Figure 7. Les facteurs de l'optimisation en chromatographie à phase gazeuse [9]

La bonne séparation des composés dépend essentiellement de leurs volumes ou distance de rétention ( $V_R$ ), et de la largeur de leurs pics ( $\omega$ ) [1]

$$V_R = K V_S + V_M \quad \text{et} \quad \omega = \frac{4V_F}{\sqrt{N}}$$

Pour améliorer une séparation, il est donc nécessaire d'agir sur ces grandeurs. Pour cela, en chromatographie à phase gazeuse, il est possible non seulement de modifier le débit de la phase mobile ou la nature de la colonne, mais également de faire varier la température. Ces changements sont faciles à réaliser et confèrent à ce type de chromatographie une souplesse d'utilisation.

### 2.4.1. Influence des paramètres de la colonne

Les dimensions des colonnes capillaires (diamètre interne et longueur) et le débit du gaz vecteur exercent une forte influence sur la résolution des pics et la durée de l'analyse. La température est prise constante lors de la considération des effets dus au changement des paramètres physiques de la colonne [2].

- **Le diamètre interne** : le diamètre interne de la colonne ( $d_c$ ) influence fortement la hauteur minimale des plateaux. D'après la théorie, la hauteur minimale des plateaux diminue avec la diminution du diamètre interne de la colonne selon l'équation suivante :

$$\text{HEPT min} = d_c \sqrt{\frac{1+6k+11k^2}{12(1+k)^2}}$$

Avec  $k$  est le facteur de rétention.

- **La longueur** : la longueur de la colonne exerce une influence directe sur les temps de rétention (durée de l'analyse) et sur la résolution. En générale, la diminution de la longueur de la colonne, avec un débit constant, génère moins de plateaux théoriques et une faible résolution des pics à de courts temps de rétention. Cependant, dans le cas où les pics sont étroits, le facteur de séparation est grand, l'analyse prend beaucoup de temps, la longueur de la colonne peut être réduite pour diminuer la durée de l'analyse.

$$t_R = \frac{L}{\bar{u}}(k+1)$$

$k$  : facteur de rétention

$\bar{u}$  : vitesse moyenne du gaz vecteur

$t_R$  : temps de rétention du soluté

La diminution de la longueur de la colonne, en conservant un débit de gaz vecteur constant, augmente les temps de rétention dans la même proportion. Concernant la résolution des pics, elle peut s'écrire en fonction de la longueur de la colonne, la HEPT et le facteur de rétention :

$$R = \frac{1}{4} \sqrt{\frac{L}{HEPT}} \cdot \frac{\alpha-1}{\alpha} \cdot \frac{k_2}{k_2+1}$$

R : résolution des pics  
 HEPT : hauteur équivalente à un plateau théorique  
 $\alpha$  : facteur de sélectivité  
 k : facteur de rétention  
 L : longueur de la colonne

#### 2.4.2. la phase stationnaire

L'examen d'un chromatogramme permet de se rendre compte si le choix de la phase stationnaire a été judicieux : la dissymétrie des pics ou les temps de rétention trop élevés sont le reflet de phénomène d'adsorption ou d'affinité trop importante des composés vis-à-vis de la phase stationnaire.

Il s'agit de la phase stationnaire dont la polarité n'est pas adaptée à la séparation cherchée : dans le cas des substances polaires, il convient pour remédier à ces inconvénients de chercher une phase stationnaire de polarité moindre et inversement, dans le cas des substances apolaires.

#### 2.4.3. L'influence de la vitesse de la phase mobile sur la séparation chromatographique

- **L'équation de GOLAY** : en 1950, Golay a proposé une équation réservée aux colonnes capillaires de la chromatographie en phase gazeuse. Cette équation décrit l'influence de la vitesse moyenne du gaz vecteur sur la hauteur équivalente à un plateau théorique (HEPT) (figure 8) :

$$HEPT = B/u + C_L * u + C_G * u$$

B/u : correspond à la diffusion longitudinale  
 $C_L * u$  : correspond à la résistance au transfert de matière en phase liquide  
 $C_G * u$  : correspond à la résistance au transfert de matière en phase gazeuse

Cette relation permet de minimiser la HEPT pour une colonne donnée connaissant le facteur de rétention du soluté, en déterminant la vitesse optimale et donc un débit optimal

#### 2.4.4. Influence de la température sur la séparation

La température modifie la tension de vapeur des composés et donc leur volatilité comme le montre l'équation de Clausius-Clapeyron :

$$\log P^\circ = -\frac{\Delta H}{2.3RT} + \text{Constante}$$

Une élévation de la température entraîne une augmentation de la concentration de la phase mobile, et par conséquent une diminution du coefficient de partage  $K$  comme le montre l'équation suivante :

$$K = \frac{C_s}{C_M}$$

L'augmentation de la température se répercute sur les grandeurs de rétention ( $V_R$ ,  $d_R$ , ou  $t_R$ ), plus la température augmente et plus  $K$  diminue, et par conséquent les substances sortent plus rapidement ( $V_R$  étant directement proportionnel à  $K$ ). Une augmentation de la température se traduit par :

- des pics plus rapprochés mais également plus étroits puisque  $\omega$  est fonction de  $V_R$ ,
- une augmentation de la sélectivité ( $\alpha$ ),
- une augmentation de l'efficacité ( $N$ ).

L'étude de la théorie cinétique a montré que l'influence de la température sur la HEPT ou sur le nombre de plateaux pour une colonne de longueur donnée passait par une valeur optimale. Des études préliminaires ont permis aussi de montrer que si on s'intéresse à une substance donnée dans un mélange, il est possible de lui définir une zone de température pour laquelle la colonne est plus efficace grâce à la courbe de De Wet et Pretorius :

$$HEPT = A + \frac{B}{T} + CT$$

Avec  $A$ ,  $B$  et  $C$  sont des constantes qui dépendent des conditions expérimentales ;  
 $T$  est la température.

Pour la programmation de la température en chromatographie à phase gazeuse (PTGC), pour un mélange à séparer, les distances de rétention des composés sont très différentes et il est très difficile de les séparer en une seule opération à température constante. Si la température est optimale pour les composés les moins retenus, elle peut être trop basse pour ceux dont les temps de rétention sont élevés et les pics étalés. En revanche, une température optimale pour ces derniers peut être trop importante pour les autres composés qui sortent rapidement de la colonne sans être séparés. Dans ce cas, la programmation de température PTGC permet, tout en accélérant la chromatographie, d'obtenir de bonnes séparations. La chromatographie est engagée à une température suffisamment basse pour séparer correctement les composés les moins retenus, puis elle s'élève progressivement pour permettre l'élution des autres substances dans des temps plus rapides et sous forme de pics plus étroits [1].

Dans le cas de la séparation d'une large série de composés homologues comme un échantillon de kérosène (figure 8a), une analyse isotherme à 150°C empêche les composés légers ( $C_8$ ) d'être totalement séparés et prend plus de 90 minutes pour éluer le  $C_{15}$  qui semble être le dernier composé. La séparation peut être améliorée en utilisant une programmation de température où cette dernière commence à 50°C (inférieure à la température de l'analyse isotherme utilisée dans la figure 8b, et augmente à raison de 8°C par minute jusqu'à 250°C qui est une température supérieure à celle de l'analyse isotherme. L'augmentation de la température durant l'analyse diminue les coefficients de partition des analytes encore dans la colonne, ainsi ils s'éluent plus rapidement dans la colonne ce qui

diminue le temps de rétention  $t_R$ . La PTGC permet ainsi une meilleure séparation avant le pic du  $C_8$  et augment le nombre de paraffines élués. Le pic du  $C_{15}$  s'élué plus rapidement, et six autres pics sont encore observés. La largeur des pics semble peu affectée par PTGC.

La programmation de la température permet une meilleure séparation pour un large domaine de point d'ébullition, une amélioration des limites de détection, de la forme des pics et de la précision, elle constitue un excellent moyen de nettoyage de la colonne.

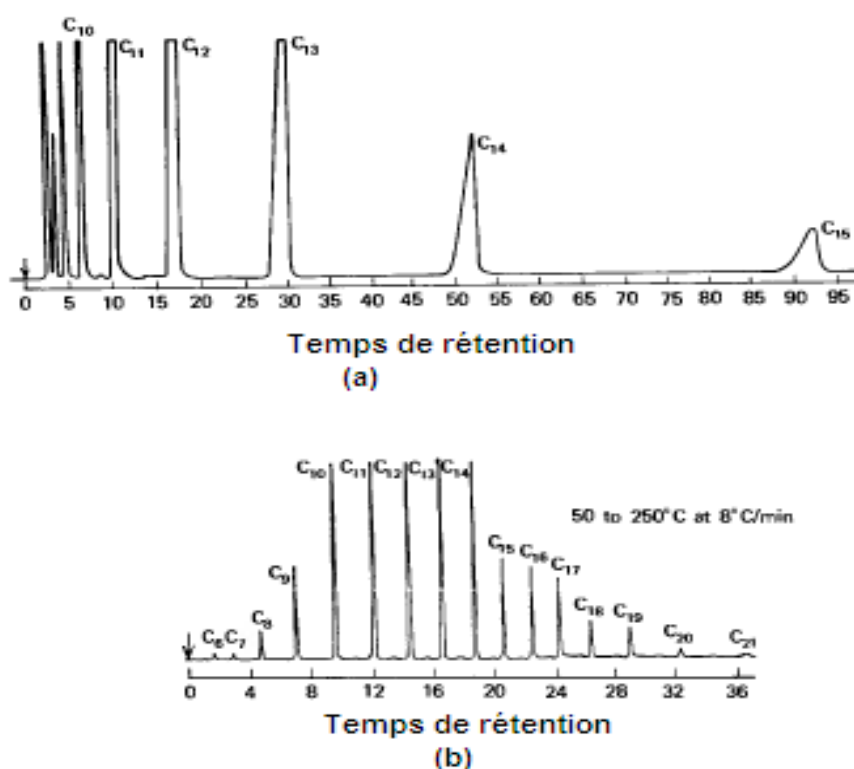


Figure 8. Comparaison entre une analyse isotherme (a) et une analyse à programmation de température (b) d'une série de paraffines [8].

Les inconvénients portent sur une instrumentation nécessaire complexe, et l'existence d'un bruit de fond à hautes températures.

L'instrumentation requise pour la PTGC porte sur le gaz vecteur sec, le programmeur de température, trois fours séparés (injecteur, détecteur, colonne), et une phase stationnaire liquide souhaitable.

### 3. ANALYSE QUALITATIVE

#### 3.1. Identification en condition isotherme

Les grandeurs de rétention présentées précédemment permettent d'identifier les pics du chromatogramme [10].

Les indices de Kovatz sont fondés sur la linéarité constatée entre le logarithme du volume de rétention spécifique  $V_g$  et le nombre d'atomes de carbone  $n$  du soluté dans une famille de produits homologues (figure 9), par exemple celle des hydrocarbures saturés aliphatiques :

$$\log(V_g) = a * n + b$$

$(V_g)$  : volume de rétention spécifique  
 $n$  : nombre d'atome de carbone  
 $a, b$  : constantes

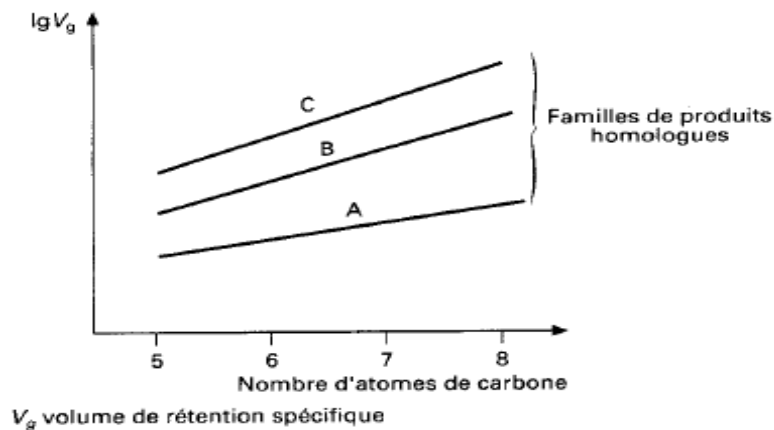


Figure 9. Relation entre le volume de rétention spécifique et le nombre d'atomes de carbone [10]

Par convention, si on attribue à chaque hydrocarbure un indice correspondant au nombre de carbones de leur chaîne multiplié par 100, on pourra calculer l'indice de rétention  $I_x$  du soluté donné pour une même température par la formule suivante [11] :

$$I_x = 100 \frac{\lg(d'_R)_x - \lg(d'_R)_z}{\lg(d'_R)_{z+1} - \lg(d'_R)_z} + 100z$$

x : soluté inconnu

I<sub>x</sub> : indice de rétention du soluté x

z : paraffine à z atomes de carbone

z+1 : paraffine à z+1 atomes de carbone

(d'<sub>R</sub>)<sub>1</sub> : distance de rétention corrigée du soluté 1

(d'<sub>R</sub>)<sub>2</sub> : distance de rétention corrigée du soluté 2

### 3.2. Identification en programmation de température

En programmation de la température, la relation entre les temps de rétention et les indices de rétention devient linéaire, les termes logarithmique de l'équation précédente peuvent être remplacé par les temps de rétention. Cela est traduit par la formule de Van dan Doole [12].

$$I_p = 100 \frac{(Tr)_x - (Tr)_z}{(Tr)_{z+1} - (Tr)_z} + 100z$$

I<sub>p</sub> : Indice de Van Dan Doole

(Tr)<sub>x</sub> : temps de rétention du soluté inconnu x

(Tr)<sub>z</sub> : temps de rétention du paraffine à z atome de carbone

(Tr)<sub>z+1</sub> : temps de rétention du paraffine à z+1 atome de carbone

Ces deux dernières paraffines encadrent le soluté x

Une formule plus générale est donné comme suit [13] :

$$I_p = 100y + 100(z-y)(Tr_x - Tr_y)/(Tr_z - Tr_y)$$

Avec :

Y : nombre de carbone de l'alcane inférieur

z : nombre de carbone de l'alcane supérieur

Tr<sub>x</sub> : temps de rétention de l'inconnue x

Tr<sub>y</sub> : temps de rétention de l'alcane inférieure

Tr<sub>z</sub> : temps de rétention de l'alcane supérieure

Cette dernière formule présente l'avantage de pouvoir calculé les indice de rétention en l'absence d'un certains nombres de paraffines sans avoir recours à des techniques d'extrapolation pour déterminer les temps de rétention manquants.

## 4. LE COUPLAGE CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE / SPECTROMETRIE DE MASSE

### 4.1. Définition et principe de la spectrométrie de masse

La spectrométrie de masse est une technique d'analyse permettant la mesure de la masse moléculaire des composés et des atomes individuels en les convertissant en ions chargés. Assez souvent, la structure des molécules peut être déduite. La spectrométrie de masse est exceptionnellement qualifiée à fournir des informations quantitatives d'un analyte donné [12].

Les mesures de la spectrométrie de masse se font avec des ions et non pas avec des particules neutres, parce qu'il est expérimentalement facile de manipuler le mouvement et la direction des ions et de les détecter. Trois étapes sont nécessaires dans l'analyse par spectrométrie de masse (figure 10). La première étape consiste en l'ionisation des analytes ou atome afin de former des espèces ioniques en phase gazeuse, cette étape requiert l'enlèvement ou l'addition d'électron ou de protons, l'excès d'énergie transféré durant l'ionisation sépare la molécule en fragments caractéristiques. L'étape suivante est la séparation et l'analyse massique des ions ainsi que de leurs masses sur la base du rapport masse/charge ( $m/z$ ). Finalement, lors de la troisième étape, le courant d'ion est amplifié et représenté sous forme de spectre de masse [14].

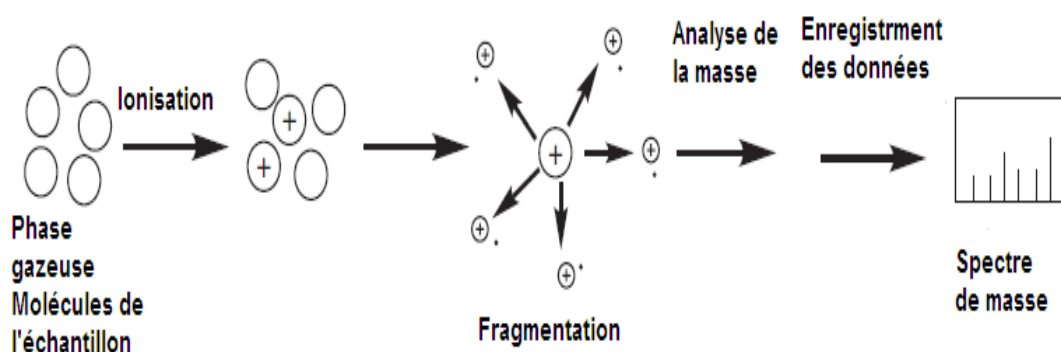


Figure 10. Concept de base de la spectrométrie de masse [14]

### 4. 2. La structure du spectromètre de masse

Le spectromètre de masse est un appareil permettant l'identification et la quantification des analytes. Il existe plusieurs types de spectromètre de masse qui présentent en communs trois éléments, une source, un analyseur et un détecteur. Ces spectromètres sont équipés d'un système de pompage assurant un vide de l'ordre de  $10^{-2}$  à  $10^{-5}$  mbar. Il s'agit d'évacuer les molécules résiduelles telles que l'azote, l'oxygène, l'eau atmosphérique, ainsi que des molécules éluées du chromatographe qui n'auront pas été ionisées et qui pourraient polluer le spectromètre de masse [15].



### 4. 3. Le couplage de la chromatographie en phase gazeuse et du spectromètre de masse

Le principe de l'analyse en chromatographie en phase gazeuse est de séparer les constituants d'un mélange à analyser. De nos jours, les analyses deviennent de plus en plus complexes en raison du nombre important de constituants présents et à leurs faibles teneurs. Cependant, ces analyses doivent être de plus en plus rapides et automatisables.

Si la chromatographie en phase gazeuse à elle seule permet la séparation des constituants d'un mélange, il est néanmoins délicat de réaliser une identification certaine, car les paramètres très réduits de la rétention sélective des solutés au travers de la colonne sont souvent lourds à manier et, dans la plupart des cas, reliés de manière complexe et indirecte aux structures moléculaires organiques [2].

L'idée de coupler une autre méthode physique d'investigation après la séparation chromatographique ajoute à la chromatographie une deuxième dimension analytique qui s'est concrétisée dès 1960 dans la combinaison entre la chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse. La technique GC/MS combine une haute résolution de séparation des composés avec une détection massique très sélective et très sensible. Elle permet d'obtenir la masse et la fragmentation des composés séparés par chromatographie en phase gazeuse et conduit à une identification qualitative des composés inconnus et à une détermination quantitative fiable de ces composés.

Le couplage GC/MS peut se faire selon deux modes, avec ou sans séparateurs moléculaires. Les séparateurs moléculaires sont montés entre la colonne et la chambre d'ionisation. Ils ont pour objet d'augmenter la concentration du soluté par rapport à celle du gaz vecteur et de réduire le débit total du gaz entrant dans le spectromètre de masse. Ils sont aujourd'hui très utilisés. Le diagramme schématique montrant les principaux composants d'un système capillaire GC/MS typique est représenté par la figure 11 [2].

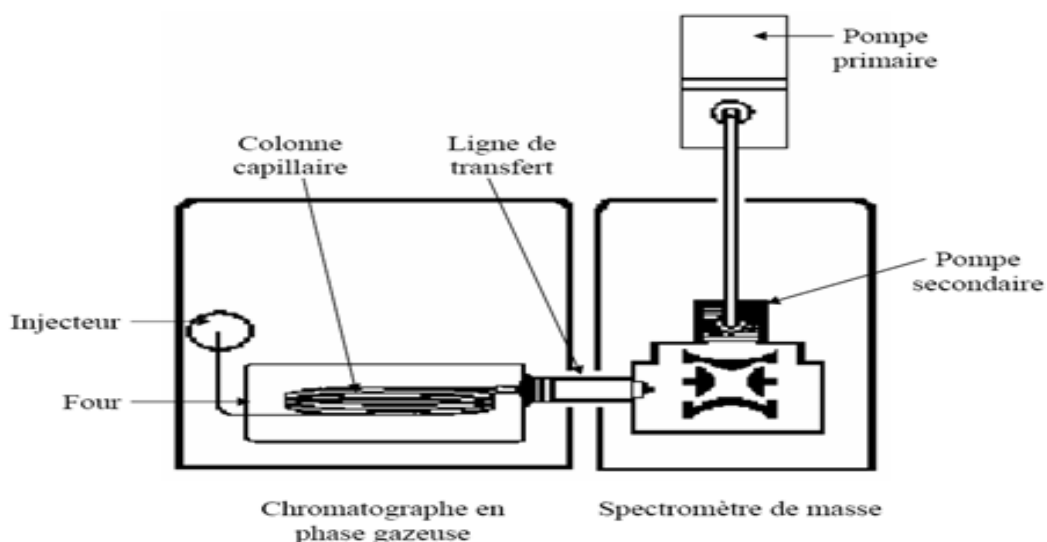


Figure 11. Schéma d'un appareil de couplage GC/MS [15].

Pour déterminer la nature des constituants d'un mélange complexe, on soumet habituellement cette matrice à une première étape d'analyse par CPG/SM. L'effluent gazeux du chromatographe se dirige vers la source ionique à travers une ligne de transfert. Les analytes vaporisés seront ionisés produisant des ions moléculaires ou fragmentés. Le spectre de la masse résulte de leur analyse et de leur détection. Un spectre de masse représente l'intensité relative des ions en fonction de leur rapport de masse sur la charge ( $m/z$ ).

Si l'on dispose de banques de données de spectres de masse et d'indice de rétention, on obtient alors une liste de propositions de composition du mélange. Pour cela, on constitue ce qui s'appelle les chromatogrammes en bâtonnets, chacun des bâtonnets est caractérisé par son indice de rétention (abscisse) et son intensité relative (ordonnée) (figure 12). De plus, chaque chromatogramme possède son propre spectre de masse qui sera analysé et comparé avec la base de données [16].

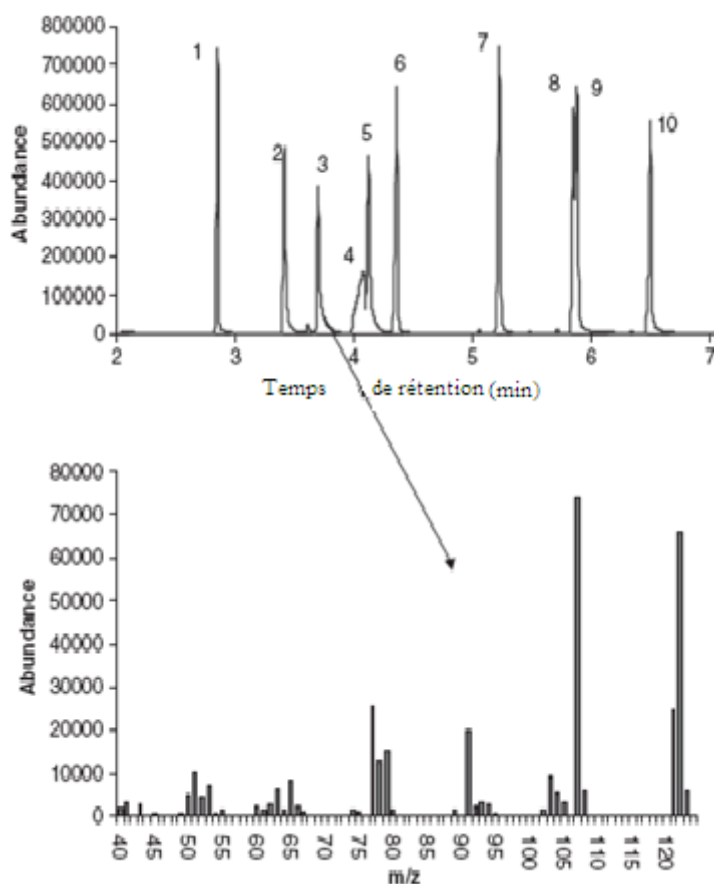


Figure 12. Chromatogramme et spectre de masse montrant une donnée typique de GC/MS (1=décane, 2=1-octanol, 3=2,6-diméthylphénol, 4=acide 2-éthylhexanoïque, 5=2,3-diméthylaniline, 6=dodécane, 7=acide undécanoïque, méthyl ester, 8=dicyclohexyl amine, 9=acide undécanoïque, méthyl ester, 10=acide décanoïque, méthyl ester) [16].

Cette méthode permet donc l'élaboration des banques de données. Elle se révèle fortement intéressante car l'apport du couplage CPG/SM n'a pas supprimé l'utilisation des indices de rétention, bien au contraire, l'emploi de ces indices permet de conforter l'identification en masse, notamment dans le cas d'isomères qui possèdent des spectres de masse quasi-identiques mais qui ont des indices de rétention différents.

Cette méthode a l'avantage de ne pas nécessiter des séparations préalables des produits à analyser avant l'analyse par spectrométrie de masse. La spectrométrie de masse joue également le rôle de détecteur, il ne nécessite pas l'utilisation du FID ou d'un autre détecteur [8].

Les limitations du GC/MS portent sur le coût élevé de l'appareillage et la nécessité d'une bonne maîtrise technique du mode de fonctionnement du système [8].

## **5. LA CHIMIE DES BASES PARFUM**

### **5.1. La définition d'une base parfum**

Une base parfum n'est pas un composé unique avec des propriétés clairement définies, mais plutôt un mélange de composés chimiques odorants, naturels ou synthétiques, agissant chacun selon ses propres propriétés. La caractérisation de ces composés séparément, et la combinaison de leurs effets donnent les propriétés finales d'une base parfum [17].

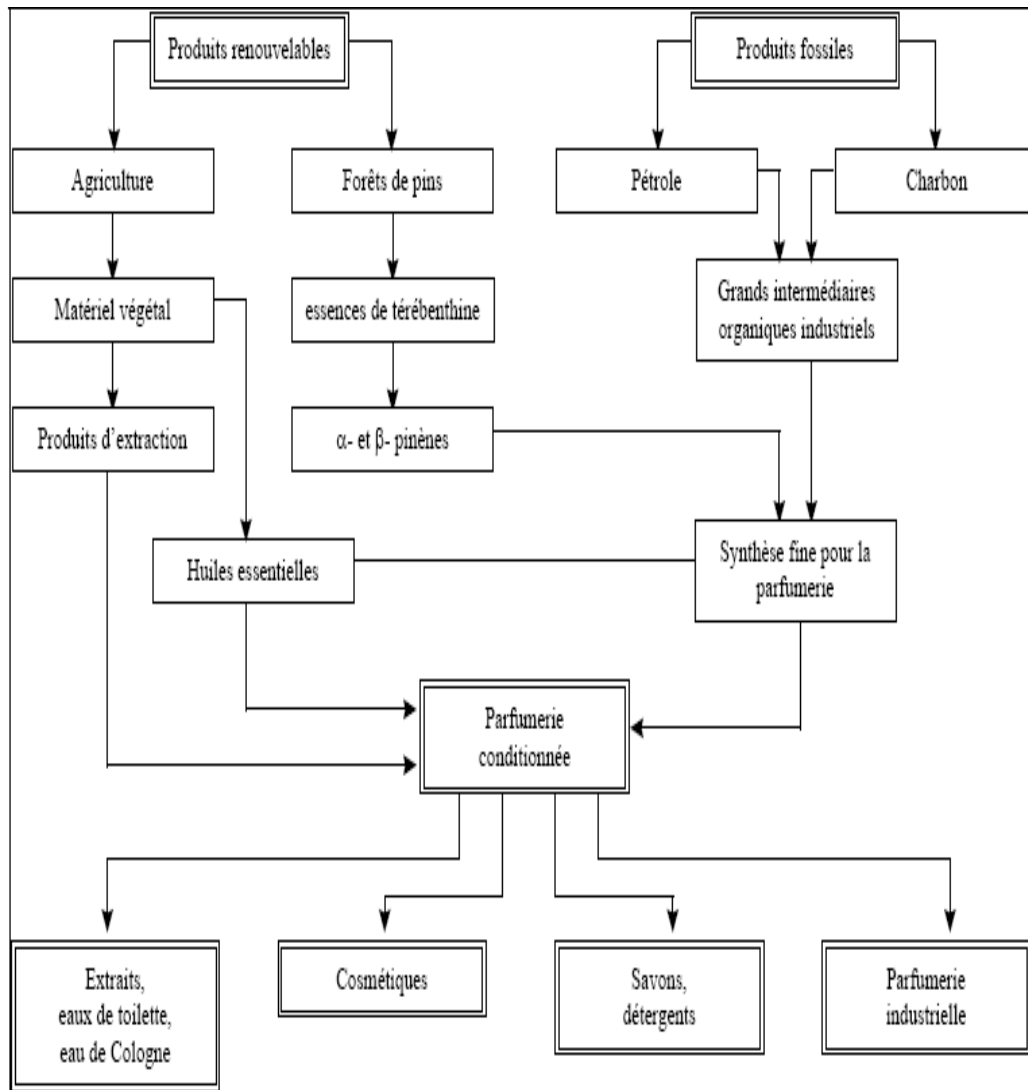
### **5.2. La structure de l'industrie des parfums**

L'industrie des parfums désigne, d'une part, l'activité de transformation des matières végétales (les huiles essentielles, les produits d'extraction), et d'autre part, l'activité de transformation des composés industriels intermédiaires. D'une façon plus précise, il s'agit de l'industrie des bases parfums considérées en tant que matières premières, à laquelle s'ajoute généralement celle des arômes alimentaires. La figure 13 schématise la structure de l'industrie des parfums.

Bien que les composés synthétiques soient produits à grande échelle, les matières premières naturelles continuent d'être essentielles. Pour obtenir des produits naturels, la parfumerie utilise les matières renouvelables fournies par l'agriculture et les forêts. Les sources fossiles telles que le pétrole et le charbon fournissent des composés organiques industriels intermédiaires pour la synthèse fine des composés destinés à la parfumerie.

Les produits de synthèse sont difficiles à obtenir, cette difficulté est due au contrôle rigoureux de tous les carbones asymétriques. L'utilisation de catalyseurs homogènes comme le (-) BINAP rhodium (I) (le BINAP est une diphosphine chirale) est particulièrement adaptée aux synthèses asymétriques. La synthèse de nouvelles molécules odorantes est une question de hasard. Les chimistes ne disposant pas d'une théorie qui permette de relier la structure d'une molécule à son odeur ou sa saveur, ce qui leur donnerait les moyens de diriger la synthèse en vue d'obtenir un effet déterminé au préalable, leurs programmes ne comprennent pas la recherche de molécules de parfums spécifiques. Par contre, l'obtention d'un nouveau composé passe rarement inaperçue dans un laboratoire. Mais seuls quelques-uns pourront être retenus,

les autres peuvent présenter des risques toxicologiques, ou des coûts de production trop élevés [18].



La figure 13. La structure de l'industrie des parfums

### 5.3. La théorie de l'odeur

De part la nature du système olfactif, une substance doit présenter certaines caractéristiques physico-chimiques pour être odorante :

- la substance doit être suffisamment volatile pour que les molécules odorantes atteignent les récepteurs olfactifs,
- les molécules doivent être solubles dans l'eau, sinon elles ne pourront pas atteindre les terminaisons nerveuses qui sont noyées dans une fine pellicule aqueuse,
- les molécules doivent être solubles dans les lipides pour pénétrer jusqu'aux terminaisons nerveuses, à travers la couche lipidique de la membrane cellulaire.

Il est actuellement admis que l'origine ondulatoire des odeurs, l'influence du pouvoir rotatoire des molécules ou de l'indice de réfraction, l'absorption de l'infrarouge ou l'effet Raman, sont toutes de théories qui n'ont pas pu expliquer la relation entre la structure des molécules et leur odeur. Néanmoins, quelques indications sont connues sur les propriétés structurales des molécules odorantes, l'architecture moléculaire c'est à dire les propriétés d'isomérisation, constitue le facteur déterminant les qualités d'une odeur.

Deux isomères de constitution accusent de grandes différences pour l'ensemble de leurs propriétés et en particuliers pour leurs propriétés olfactives. La stéréo-isomérisation est considérée comme un facteur primordial en ce qui concerne l'activité physiologique d'un corps et en particulier son odeur et son goût. Il a été observé que certains phénomènes contribuent à influencer l'odeur en la développant ou en la diminuant :

- **La cyclisation** : des molécules inodores ou peu odorantes linéaires se transforment en composés cycliques présentant de fortes odeurs, souvent agréables. La cyclisation intensifie donc les odeurs.
- **La polymérisation** : la polymérisation atténue les odeurs. La disparition de l'odeur ou l'atténuation de l'odeur s'explique par le fait qu'un polymère est très peu volatil et nettement moins soluble dans l'eau que le monomère.
- **Les groupements osmophores (aromatophores)** : les composés organiques odorants peuvent être classés selon la principale fonction qu'ils possèdent, ces fonctions sont la double liaison, la triple liaison, les Alcools phénols, éthers, oxydes, les groupes carbonyles, les groupes nitrés, et les nitriles.

#### 5.4. La description de l'odeur

Les odeurs des composés chimiques sont extrêmement difficiles à décrire. Les odeurs des mélanges complexes sont parfois impossibles à décrire, à moins qu'un composé ne soit assez caractéristique pour qu'il détermine largement l'odeur du mélange. Ces difficultés rendent difficiles une classification objective des odeurs [19].

Amoore (1952), cité par [20], a été à l'origine d'une classification scientifique des odeurs. Selon cet auteur, les odeurs primaires sont les suivantes : camphrée, musquée, fleurie, piquante, mentholée, éthérée, putride.

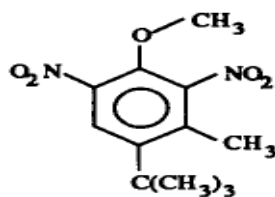
#### 5.5. La composition des bases parfum

Les bases parfums sont constituées de diverses substances telles que musc, huiles essentielles et d'autres composés [21].

##### 5.5.1. Les muscs

Un musc est une substance de puissance odorante plus ou moins marquée. Il sert à fixer le parfum, c'est-à-dire à retenir plus longtemps, par complexation, les substances odorantes plus volatiles. Il existe plusieurs types de muscs [21].

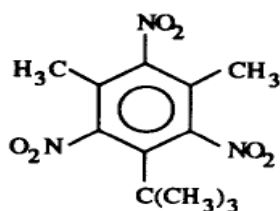
- **Le musc ambrette** : C'est le 2,6-dinitro-3-méthoxy-4-tertiobutyltoluène.



*Musc ambrette.*

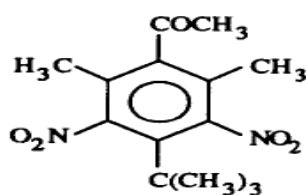
Le musc ambrette a été, pendant longtemps, un musc de synthèse important ; ses propriétés toxiques ont fait que son usage est maintenant strictement limité aux compositions qui ne viennent pas en contact avec la peau.

- **Le musc xylol** : il s'agit du 2, 4, 6-trinitro-1, 3-diméthyl-5-tertiobutylbenzène. Le musc xylol est utilisé en grande quantité dans les parfums bon marché, pour les savons et produits domestiques.



*Musc xylol.*

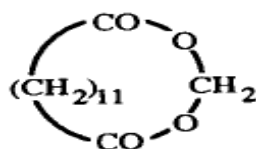
- **Le musc cétone** : le musc cétone est le 3,5-dinitro-2,6-diméthyl-4-tertiobutylacétophénone.



*Musc cétone.*

Son utilisation principale se situe dans les compositions dites fleuries.

- **Le musc T®** : il s'agit de l'ester éthylène glycolique de l'acide 1,13-tridécanedioïque. Le musc T® est le nom de marque de la société japonaise Takasako.



*musc T* ®

Ce musc est utilisé en grande quantité comme fixateur en parfumerie.

### 5.5.2. Les huiles essentielles

Le deuxième type de constituants des bases parfums est représenté par les huiles essentielles. Une huile essentielle est obtenue par traitement, sous haute pression, des écorces d'agrumes ou par entraînement à la vapeur d'eau des huiles contenues dans certaines plantes. Une huile essentielle est déterpénée lorsqu'on a éliminé les hydrocarbures terpéniques par distillation fractionnée ou lavage avec une solution hydro alcoolique.

Les essences concrètes sont les résidus de l'extraction par des solvants volatils, tels que l'hexane, de matériaux végétaux. Le traitement de l'essence concrète par l'éthanol suivi de l'élimination de cet alcool conduit à l'essence absolue.

L'oléorésine est un mélange d'essence et de résines extraites de plusieurs plantes.

Enfin, l'appellation résinoïde est plus particulièrement utilisée lorsque les solvants d'extraction mis en œuvre sont le méthanol, l'éthanol ou le toluène, et lorsque les matériaux végétaux sont secs, comme les produits résineux [21].

Divers composés sont présents dans les huiles essentielles [19].

- **Les composés aliphatiques** : les composés les plus importants sont : les composés hydrocarbonés, les alcools aliphatiques, les aldéhydes inférieurs, les aldéhydes ramifiés ou insaturés, les acétals dérivés des aldéhydes aliphatiques

- **Les composés terpéniques** : de nombreux composés terpéniques sont présents dans les bases parfum. Ces composés odoriférants sont soit extraits des végétaux sous la forme d'huiles essentielles soit synthétisés. Les terpènes sont des hydrocarbures ou des composés possédant des fonctions oxygénées. Certains sont acycliques, d'autres comportent un ou plusieurs cycles.

Les terpènes oxygénés sont les plus importants dans cette famille. Les hydrocarbures terpéniques ont généralement des odeurs faibles et ils sont utilisés comme des matières premières dans la synthèse des autres terpènes.

Les sesquiterpènes sont présents dans la vapeur d'un parfum à des concentrations plus faibles que celle des mono-terpènes mais ils ont une odeur plus efficace.

Les sesquiterpènes et les poly-terpènes élevés servent de fixateurs pour les composés les plus volatiles.

Les principaux terpènes sont le géranol/nérol, le linalol, le citronellol, le citronellal et le citral (figure 14). Ils rentrent dans la composition des bases parfum. Les alcools et leurs esters sont particulièrement importants car ils sont les produits de départ pour d'autres terpènes [22].

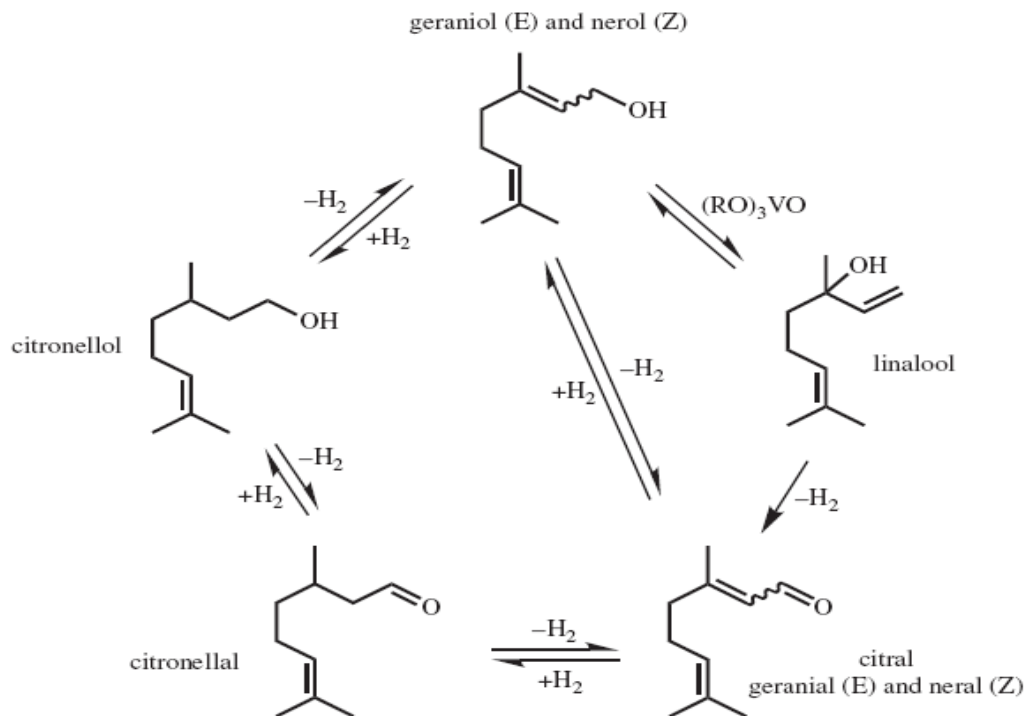


Figure 14. La structure des principaux terpènes et les modalités de leur conversion [22].

- **Les composés aromatiques** : il existe un certain nombre de composés aromatiques utilisés pour leurs propriétés odoriférantes, les principaux sont les alkyl ou aralkyl des hydrocarbures aromatiques, les alcools araliphatiques, les aldéhydes araliphatiques, les cétones aromatiques, les esters des alcools araliphatiques.

- **Les phénols et les dérivés de phénols** : cette catégorie contient plusieurs types de composés tels que les phénols, les esters phénoliques et les éthers phénoliques, les alcools phénoliques et leurs acétates

- **Les O- et O, S-hétérocycles** : ce terme désigne les éthers cycliques comme le 1,4-cinéole [470-67-7] rencontrés en quantités appréciables dans les huiles essentielles, les lactones comme le  $\gamma$ -octalactone [104-50-70] donnent des parfums balsamiques, les glycidates sont des intermédiaires importants pour la synthèse d'autres substances odoriférantes fruitées.

- **Les N- et N, S-hétérocycles** : dans cette catégorie, les indoles et les quinoléines ont une importance en parfumerie. L'indole [120-72-9] à haute dilution donne une note florale



### 5.5.3. Les composés définis isolés

A côté des huiles essentielles, il existe des composés isolés, purs et ayant des propriétés organoleptiques intéressantes servant à produire et à enrichir les compositions parfumantes. Parmi ces composés (figure 15), ceux qui sont utilisés dans des proportions importantes sont L'alcool 2-phényléthylique, Le 2-méthyl-3-(4-tertiobutylphényl)propanal, L'acétate de 4-tertiobutylcyclohexyle, Le Galaxolide ® ou Abbalide, La Coumarine, Le Hedion ®, L' $\alpha$ -terpinéol, [18] :

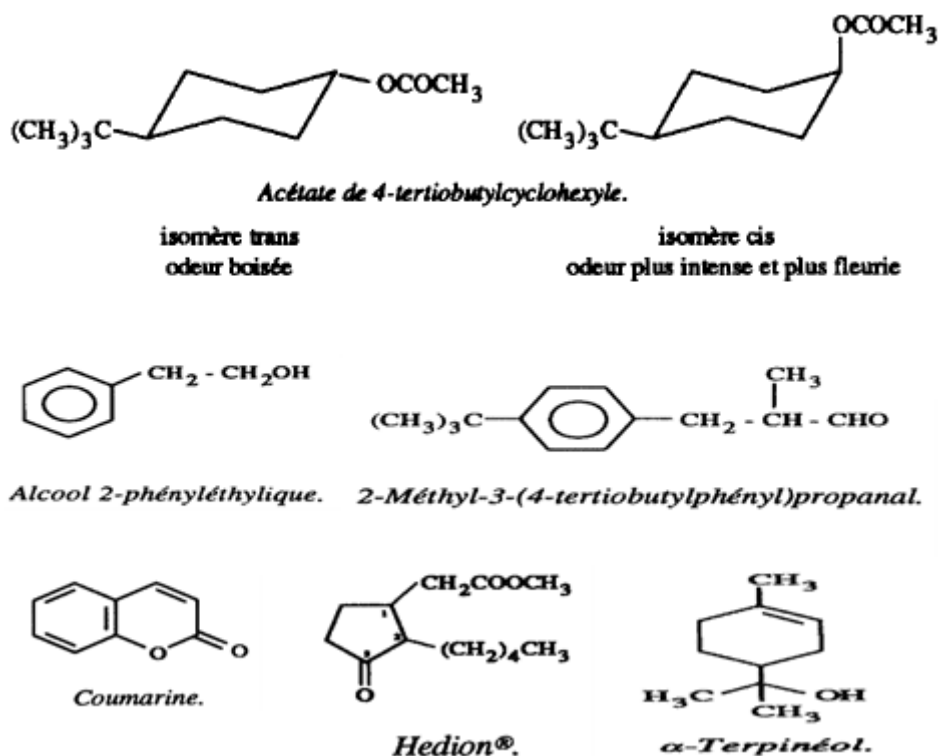


Figure 15. Les principaux composés définis isolés utilisés en parfumerie.

### 5.6. Les facteurs affectant l'utilisation des composés odorants

Dans une firme de fragrances, le département Formulation est chargé de la difficile tâche d'incorporation du parfum à un produit. Ce processus peut être en effet problématique, du fait que la fragrance peut ne pas être incorporée aisément. La solubilité de la fragrance et sa concentration doivent être maîtrisées afin de ne pas affecter l'homogénéité du produit.

D'autres facteurs doivent être étudiés pour assurer la stabilité du produit, son intégrité, et la persistance de la fragrance dans le temps en prenant en considération les conditions de stockage et de manutention. Les quatre principaux facteurs qui influent sur le volume des composés odorants incorporés dans un produit sont [21] :

- la contribution de leur odeur à la note finale,

- leur stabilité et leur performance vis-à-vis du produit à parfumer,
- leurs effets nocifs ou toxiques,
- leur coût,

### **5.7. Le contrôle de la qualité**

Le contrôle de qualité des fragrances et des produits dérivés comporte la comparaison des données sensorielles, analytiques et microbiologiques avec des normes et des spécifications. Celles-ci ont été établies dans des collections officielles de spécifications (pharmacopées, ISO, AFNOR, Essential Oil Association).

Dans les décennies passées, une méthodologie précise a été développée pour l'évaluation sensorielle de la qualité des produits, cette approche a donné des résultats fiables. Cependant, au cours de ces dernières années, l'utilisation des systèmes sensoriels chimiques (les nez électroniques) est de plus en plus répandue.

La détermination analytique de la composition chimique et de la pureté des produits aide à établir leur acceptabilité. Pour satisfaire les exigences du client, toutes les méthodes utilisées en analyse chimique doivent être validées par des mécanismes d'assurance qualité. Les fragrances et les produits dérivés sont généralement identifiés par des paramètres analytiques acceptables comme la densité, l'indice de réfraction, la rotation optique et le point de fusion.

La détermination de la composition des produits finaux, ainsi que la détermination des impuretés, est réalisée par les méthodes chromatographiques comme la chromatographie en phase gazeuse, la chromatographie en phase liquide à haute performance, l'électrophorèse capillaire, et par des techniques spectroscopiques (ultra violet, infrarouge, spectrométrie de masse et la spectroscopie à résonance magnétique nucléaire). La chromatographie en phase gazeuse est utilisée pour des contrôles de qualité et des contrôles en ligne. Pour l'analyse des mélanges complexes, des couplages de plusieurs techniques comme chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse, électrophorèse capillaire/spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier, la chromatographie en phase liquide à haute performance/spectrométrie de masse, électrophorèse capillaire/spectrométrie de masse et la chromatographie en phase gazeuse bidimensionnelle sont possibles et parfois nécessaires. L'analyse des traces dans les fragrances est très importante, des protocoles et des techniques spécifiques ont été développés à ces fins.

Pour la préparation de l'échantillon, des méthodes classiques sont encore utilisées comme la distillation, mais des techniques spécifiques comme l'extraction par un fluide supercritique (SFE), et des techniques d'adsorption comme la micro-extraction en phase solide (SPME) sont utilisées pour l'isolation, la séparation et l'identification de la composition des fragrances. La normalisation des spécifications des fragrances complexes est plus difficile que celles des composés isolés.

Pour l'administration des produits, des méthodes et des données analytiques, les laboratoires modernes d'analyse chimique et du contrôle de qualité utilisent des systèmes performants d'information et du management [22].

## 5.8. Les Applications industrielles des bases parfum

On trouve les fragrances incorporées dans divers produits comme les parfums, les produits cosmétiques (les produits d'hygiène et de soin personnels et les produits de beauté), les produits d'entretien de la maison (détergents, adoucisseurs, purificateurs d'air et les produits de nettoyage) et divers produits parfumés [19].

## 5.9. Le contrôle des produits malodorants

Une caractéristique commune des mauvaises odeurs est la présence de soufre, de l'azote, ou des halogènes.

Une première approche consiste à l'utilisation des fragrances ayant des propriétés odoriférantes connues pour être particulièrement efficaces contre les mauvaises odeurs. Les aldéhydes et les esters sont les composés clés de cette approche. La formulation US5683979 suggère un mélange de citral, eugénol, coumarine et helional ; tandis que l'US480792 préfère une formulation contenant 20 à 60 % de musc, 30 à 70 % de citron, et 1 à 20 % de menthe. L'extension de cette approche a conduit à l'utilisation de deux aldéhydes avec une concentration de 20 % pour chaque aldéhyde au minimum. L'un des deux aldéhydes doit être choisi avec une double liaison à la position  $\alpha$  ( $R-C=C-CHO$ , citral, aldéhyde cinnamique, benzaldéhyde, vanilline...), et l'autre est choisi parmi les autres aldéhydes utilisés dans les fragrances. La fragrance finale doit contenir un minimum de 10 % en mélange d'aldéhydes avec un pourcentage de 1 % de la fragrance dans le produit fini.

Une technique plus avancée consiste à utiliser des composés non odorants qui peuvent former des complexes avec les composés malodorants et éliminer leurs odeurs. Le Metazene®, le Meelium® et le Grillocin® sont des marques commerciales pour des produits entrant dans cette catégorie.

Certaines molécules, dont la structure présente des cavités, peuvent encapsuler la molécule malodorante, comme c'est le cas de l'Odorone®. Les cyclo-dextrines possèdent cette propriété, l'intérieur de la cavité est hydrophobique tandis que l'extérieur est hydrophilique. Leurs caractéristiques de solubilité permettent leurs dispersions dans un système aqueux et le piégeage des composés ciblés dans leurs cavités [19].

## CHAPITRE II. MATERIELS ET METHODES

### INTRODUCTION

L'objectif de ce travail est de mettre en œuvre un protocole d'analyse par chromatographie en phase gazeuse d'une base parfum. Il s'agit de rechercher les conditions nécessaires qui permettent la meilleure séparation des constituants présents dans l'échantillon. Dans une seconde étape, nous tenterons d'identifier les composés majeurs en faisant appel aux banques de données (spectrométrie de masse et indices de Kovatz).

Les résultats de ces analyses devraient permettre à Shymeca de contrôler systématiquement les lots de produits importés qu'ils réceptionnent.

### 1. MATERIEL

L'échantillon analysé est une base parfum IPRA SARDEGNA MEN composée, d'un mélange d'extraits naturels et de produits de synthèse dans le solvant di-propylène glycol.

Deux chromatogrammes sont fournis par le fabricant indiquant la présence de 58 et 51 pics respectivement, en un temps d'analyse n'excédant pas 45 minutes. Ces deux chromatogrammes sont obtenus en utilisant deux colonnes capillaires de polarités différentes, l'une apolaire (100% Dimethyl polysiloxane), l'autre polaire (100 Polyethylene glycol).

Elle appartient à la famille olfactive des hespéridés aromatiques et présente les notes suivantes :

- note de tête : citron, petit grain, romarin, basilic,
- note de cœur : jasmin, rose, œillet, iris,
- note de fond : mousse de chêne, vétiver, musc.

Cette base parfum est utilisée comme composition parfumante à usage industriel. Elle est liquide, jaune pâle à jaune, sa densité est comprise entre 0.971 et 0.981, son indice de réfraction varie entre 1.450 et 1.460, elle possède un point d'éclair (coupelle fermée) de 71.2°C.

Les conditions d'analyse recommandées par la fiche technique du fournisseur sont les suivantes :

- Gaz vecteur : hélium
- Débit du gaz vecteur : 0.5 ml/min
- Volume injecté : 0.2 µl
- Température de l'injecteur : 250°C
- Mode d'injection : split (1 :100)
- Température du détecteur : 250°C
- La programmation de température est la suivante :

90°C (3min)  $\xrightarrow{7.5^\circ\text{C}/\text{min}}$  240°C (7min)

## 2. METHODES D'ETUDE

### 2.1. Méthodes de séparation

Pour la séparation des composés de la base parfum, nous avons utilisé l'appareil de CPG du laboratoire de contrôle de qualité de l'unité SHYMECA-ENAD de Rouiba. Il s'agit d'un chromatographe de type Agilent technologies 6890 Network. L'appareil est piloté par le logiciel Chemstation version A 09.01 installé sur un ordinateur HP qui est relié à une imprimante de la même marque.

Deux colonnes capillaires ont été utilisées. La première est une HP-5 faiblement apolaire, de 30 m de longueur, et de 0.32 mm de diamètre interne. La phase stationnaire possède une épaisseur de 0.25  $\mu\text{m}$ , elle est constituée de 5 % de phényle et de 95% de diméthyle polysiloxane. Elle opère dans un large domaine de température allant de -60° C jusqu'à 350° C. La deuxième colonne est une forte SolGel-Wax polaire, de 30 m de longueur et de 0.32 mm de diamètre interne. La phase stationnaire est le polyéthylène glycol (PEG) dont l'épaisseur est de 0.25 $\mu\text{m}$ . Les températures limites de cette colonne sont comprises entre 30°C et 300°C.

Au laboratoire de chimie de l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique d'El Harrach, une analyse était réalisée avec un chromatographe de type CHROMPAK GC 9002 muni d'un enregistreur chromatopack C-R8A. Le gaz vecteur est l'azote. La colonne utilisée est une colonne capillaire de 30m de long et 0.32mm de diamètre interne. La phase stationnaire est le polyéthylène glycol (PEG) avec une épaisseur de film de 1  $\mu\text{m}$ .

Au niveau du centre de recherche et de développement de Moubydal (ALDAR) Alger, le chromatographe utilisé est de marque Agilent technologies 6890 Network, le gaz vecteur est l'hélium. La colonne utilisée est une HP-5 faiblement apolaire de 30 m de longueur, et de 0.32 mm de diamètre interne. La phase stationnaire d'une épaisseur de 0.25  $\mu\text{m}$ , est constituée de 5 % de phényle et de 95% de diméthyle polysiloxane. Elle opère dans un large domaine de température allant de -60° C jusqu'à 325/350°C.

Dans les trois laboratoires où nos manipulations ont été réalisées, les chromatographes étaient munis d'injecteurs split/splitless et de détecteurs FID (détecteur à ionisation de flamme) alimenté par l'air et l'hydrogène.

L'injection de l'échantillon s'est fait manuellement à l'aide d'une seringue de 1  $\mu\text{l}$ , de marque SGE, l'acétone est utilisée pour nettoyer la seringue après chaque injection.

Les gaz utilisés (hélium, l'azote et l'air) sont stockés dans des bouteilles sous pression. Pour cela, des manodétendeurs à deux plateaux sont utilisés pour réduire cette pression avant l'introduction de ces gaz dans la colonne et le détecteur. Une trappe qui sert à éliminer l'oxygène de l'hélium et un tamis moléculaire pour le sécher, sont placés en aval de la bouteille (figure 16).

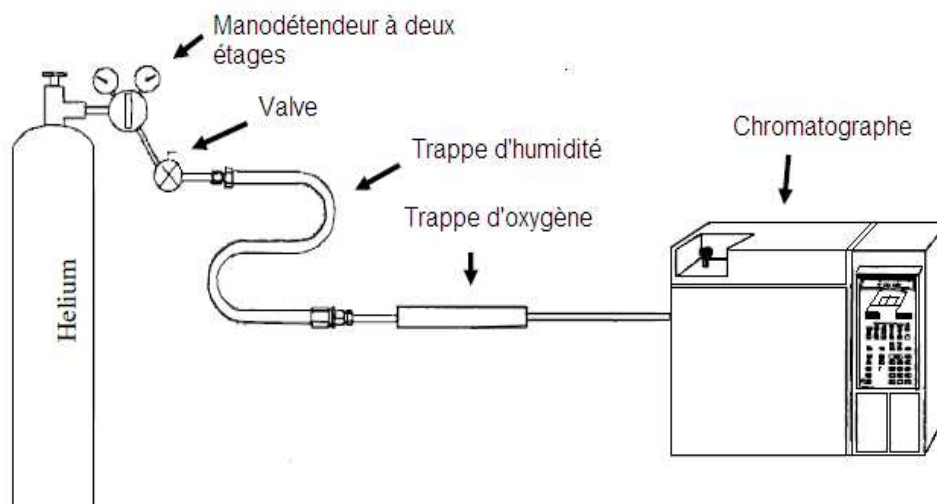


Figure 16. Schéma de l'appareillage utilisé en chromatographie à phase gazeuse [23].

## 2.2. La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

L'analyse mettant en œuvre le couplage de la chromatographie en phase gazeuse avec la spectrométrie de masse a été réalisée au niveau du centre de recherche et de développement de Moubdal (ALDAR) Alger. Le chromatographe utilisé est de type Agilent technologies 6890 Network muni d'un injecteur split/splitless et d'un détecteur FID. La colonne reliée à ce chromatographe est une HP-5MS de 30 m de long et de 0.25 mm de diamètre interne est conçue pour l'utilisation dans le couplage chromatographie en phase gazeuse /spectrométrie de masse. La phase stationnaire, dont l'épaisseur est de 0.25  $\mu\text{l}$ , est composée de 5 % de phényle et de 95% de diméthyl polysiloxane. Le gaz vecteur traversant la colonne est l'hélium.

Le spectromètre de masse est de marque Agilent technologies 5973N. Le mode d'ionisation est l'ionisation électronique (IE). Le quadripôle est porté à une température de 150°C L'interface reliant le chromatographe au spectromètre de masse est maintenue à une température de 280°C

## 2.3. Optimisation de la séparation

Au cours de ce travail, les facteurs de variation étudiés sont le volume de l'échantillon injecté, le type de colonne utilisée, le débit du gaz vecteur, les modalités de programmation de la température, et la température du détecteur. Il s'agit donc de 5 variables qui affectent les critères de qualité de l'analyse.

### 2.3.1. Le volume du soluté à analyser injecté

Dans une étape préliminaire (pour les trois premiers essais), le premier volume utilisé est de 0.1 µl, ce volume s'est avéré insuffisant pour stabiliser l'intensité des pics. Pour les essais suivants, un volume de 0.5 µl a été utilisé, ce volume est souvent recommandé pour réduire l'effet des erreurs d'injection et augmenter la sensibilité du système de détection. Les appareils ne sont pas équipés d'injecteurs automatiques.

### 2.3.2. Le type de colonne utilisée

Deux types de colonnes sont étudiés. Le premier type porte sur une colonne apolaire préférentiellement recommandée pour les produits apolaires, le deuxième type porte sur une colonne polaire préférentiellement recommandée pour les produits relativement plus polaires [8].

### 2.3.3. Les modalités de programmation de la température

Les modalités de programmation de la température qui ont été testées varient selon le type de colonne utilisée :

#### - La colonne polaire :

-*Essai 1* : cette modalité de programmation de température tient compte des températures extrêmes supportées par la colonne :

$$40^{\circ}\text{C} (3\text{min}) \xrightarrow{7.5^{\circ}\text{C}/\text{min}} 280^{\circ}\text{C} (25\text{min})$$

-*Essai 2* : une fois les deux températures extrêmes de sortie du premier et du dernier pic sont localisées, la programmation de température suivante est réalisée :

$$85^{\circ}\text{C} (3\text{min}) \xrightarrow{7.5^{\circ}\text{C}/\text{min}} 265^{\circ}\text{C} (18\text{min})$$

-*Essai 3* : Suite à la dérive de la ligne de base observée dans les deux précédentes analyses, la température finale sera diminuée jusqu'à 250°C :

$$85^{\circ}\text{C} (3\text{min}) \xrightarrow{7.5^{\circ}\text{C}/\text{min}} 250^{\circ}\text{C} (15\text{min})$$

Le volume de 0.1 µl est non maîtrisable avec une seringue de 1µl. Les essais suivants seront réalisés avec un volume de 0.5µl.

**-Essai 4 :** la même programmation de température de l'essai 1 réalisée avec un volume injecté de 0.1 µl a été refaite avec un volume injecté de 0.5 µl. La programmation de température est la suivante :

40°C (3min)  $\xrightarrow{7.5^{\circ}\text{C}/\text{min}}$  280°C (25min)

**-Essai 5 :** sur la base du chromatogramme de l'essai précédent, l'apparition du premier et du dernier pic permettent d'appliquer la programmation de température suivante :

65°C (3min)  $\xrightarrow{7.5^{\circ}\text{C}/\text{min}}$  250°C (15min)

**-Essai 6 :** la dérive observée sur la figure 5 de l'essai précédent justifie une diminution de la température finale :

65°C (3min)  $\xrightarrow{7.5^{\circ}\text{C}/\text{min}}$  240°C (15min)

**-Essai 7 :** une rampe de 2°C/min remplace celle de 7.5°C/min dans une zone présentant une mauvaise séparation des pics. Cette zone est délimitée par les deux températures de 165°C et 215°C :

65°C (3min)  $\xrightarrow{7.5^{\circ}\text{C}/\text{min}}$  165°C  $\xrightarrow{2^{\circ}\text{C}/\text{min}}$  215°C  $\xrightarrow{7.5^{\circ}\text{C}/\text{min}}$  240°C (6min)

**-Essai 8 :** un palier de 10 min est laissé à 165°C pour voir l'influence de la vitesse de chauffe minimale :

65°C (3min)  $\xrightarrow{7.5^{\circ}\text{C}/\text{min}}$  165°C (10 min)  $\xrightarrow{2^{\circ}\text{C}/\text{min}}$  215°C  $\xrightarrow{7.5^{\circ}\text{C}/\text{min}}$  240°C (6min)

**-Essai 9 :** l'essai est réalisé avec un palier de 10 min à 201°C :

65°C (3min)  $\xrightarrow{7.5^{\circ}\text{C}/\text{min}}$  165°C  $\xrightarrow{2^{\circ}\text{C}/\text{min}}$  201°C (10min)  $\xrightarrow{7.5^{\circ}\text{C}/\text{min}}$  240°C (6min)



**-Essai 10 :** la température finale passe de 240°C à 230°C en gardant le même palier :

65°C (3min)  $\xrightarrow{7.5^{\circ}\text{C}/\text{min}}$  165°C  $\xrightarrow{2^{\circ}\text{C}/\text{min}}$  215°C  $\xrightarrow{7.5^{\circ}\text{C}/\text{min}}$  230°C (6min)

Cette programmation de température est celle qui a permis d'avoir une meilleure séparation avec un temps d'analyse réduit.

#### **- La colonne apolaire**

**-Essai 11 :** cette modalité de programmation de température tient compte de la non polarité de la colonne et des essais précédents :

40°C (3min)  $\xrightarrow{7.5^{\circ}\text{C}/\text{min}}$  280°C (25min)

**-Essai 12 :** une fois les deux températures extrêmes de sortie du premier et du dernier pic sont localisées, la programmation de température suivante est réalisée :

60°C (3min)  $\xrightarrow{7.5^{\circ}\text{C}/\text{min}}$  240°C (10min)

**-Essai 13 :** la rampe de 7.5°C est remplacée par une rampe de 2°C/min dans une zone présentant une séparation insuffisante des pics. Cette zone est délimitée par les deux températures de 120°C et 225°C :

60°C (3min)  $\xrightarrow{7.5^{\circ}\text{C}/\text{min}}$  120°C  $\xrightarrow{2^{\circ}\text{C}/\text{min}}$  225°C  $\xrightarrow{7.5^{\circ}\text{C}/\text{min}}$  240°C (3min)

**-Essai 14 :** un palier de 10 min est laissé à 124°C pour évaluer l'influence de la vitesse de chauffe minimale :

60°C (3min)  $\xrightarrow{7.5^\circ\text{C}/\text{min}}$  165°C  $\xrightarrow{2^\circ\text{C}/\text{min}}$  124°C (10 min)  $\xrightarrow{2^\circ\text{C}/\text{min}}$  225°C  $\xrightarrow{7.5^\circ\text{C}/\text{min}}$  240°C (3min)

#### 2.3.4. Le débit du gaz vecteur

Deux débits sont testés. Le premier débit de 0.5 ml/min est celui recommandé par la fiche technique. Le deuxième débit est de 1 ml/min, il correspond à une vitesse de l'ordre de 19 cm/min qui favorisent une meilleure séparation des pics [9].

#### 2.3.5. La température du détecteur

Deux températures sont testées. La première température de 250° C recommandée par la fiche technique. La seconde température, qui est de 300° C et qui correspond à la valeur recommandée par le fabricant, elle dépasse la température précédente de 50°C. Dans tous les cas la température du détecteur doit être la plus élevée possible pour réduire les risques d'encrassement de ce dernier suite à des condensations possibles des produits les plus lourds.

### 2.4. L'identification des constituants de la base parfum

Les constituants de la base parfum sont identifiés par l'utilisation de deux techniques :

- L'identification par chromatographie en phase gazeuse utilisant un détecteur de type FID (GC/FID). Il s'agit de comparer les indices de rétention des constituants de la base à parfum avec des indices connus dans la littérature (les indices utilisés sont ceux présentés dans Flavornet data base [www.flavornet.org](http://www.flavornet.org), et dans pherobase [www.pherobase.com/database](http://www.pherobase.com/database)). Les indices de rétention sont relatifs à la série d'alcane C9-C22 co-injectés dans deux colonnes de polarité différentes et sont calculés par la formule de Van den Doole et Kratz suivante [13]:

$$I_p = 100(z - y) \frac{(Tr)_x - (Tr)_y}{(Tr)_z + y - (Tr)_y} + 100y$$

- Le couplage de la chromatographie en phase gazeuse avec la spectrométrie de masse. Il s'agit de comparer les spectres de masse des constituants de la base à parfum avec les spectres de masse de la base de données NIST Mass Spectral Search program Version 2.0.

#### 2.4.1. Identification par les indices de rétention

La mesure des indices de rétention a été réalisée sur deux chromatographes différents. La première analyse s'est déroulée sur un chromatographe de marque Agilent Technologies 6890N sous les conditions opératoires suivantes:

- Colonne capillaire HP-5 de 30 m de longueur et 0,32mm de diamètre interne,
- Phase stationnaire non polaire 5% Diphényl et 95% Diméthyl polysiloxane, d'une épaisseur de film 0,25µm,
- Détecteur : FID,
- Température du détecteur : 250°C,
- Gaz vecteur : hélium,
- Débit de gaz vecteur : 1 ml/mn,
- Température de l'injecteur : 250°C,
- Volume injecté : 0.5µl,
- Mode d'injection : split 1 :100
- la programmation de la température est la suivante: 60°C...7.5°C/min 240°C

La deuxième analyse a été réalisée sur un chromatographe de marque Chrompack CP 9002 sous les conditions suivantes :

- Colonne capillaire : Stabilwax de 30 m de longueur et de 0,32mm diamètre interne,
- Phase stationnaire polaire : polyéthylène glycol (PEG), avec une épaisseur de film de 0,1 µm
- Détecteur : FID
- Température du détecteur : 250°C,
- Gaz vecteur : azote,
- Débit de gaz vecteur : 1 ml/mn,
- Température de l'injecteur : 250°C
- Volume injecté : 1µl,
- Mode d'injection : split (1 :100),
- La programmation de la température est la suivante : 50(3min)...2°C/min...215(15 min)

#### **2.4.2. L'identification par GC/MS**

Le chromatographe de marque Agilent Technologies 6890N couplé à un spectromètre de masse 5973 de même marque est utilisé sous les conditions suivantes :

- Colonne capillaire HP-5 ms de 30 m de longueur et de 0,32mm de diamètre interne,
- Phase stationnaire non polaire 5% Diphényl et 95% Diméthyl arylene siloxane, épaisseur du film 0,25µm
- Température du quadripôle : 150°C,
- Température de la source : 230°C,
- Température d'interface : 280°C,
- Mode d'ionisation : ionisation électronique,
- Energie d'ionisation : EI=70 eV
- Gaz vecteur : hélium
- Débit de gaz vecteur : 1 ml/mn
- Température de l'injecteur : 250°C
- Volume injecté : 5µl
- Mode d'injection : split 1/100
- La programmation de la température : 60°C à 240°C à raison de 7.5°C/min.

## **2.5. Résultats enregistrés**

Pour la chromatographie en phase gazeuse, les résultats obtenus sont généralement présentés, dans un premier temps, sous forme de chromatogrammes qui présentent l'intensité des pics en fonction du temps d'élution.

Pour l'identification des constituants de la base parfum, l'identification par GC/FID nécessite le calcul des indices de Van Den Doole et leur comparaison avec des indices de référence. L'identification par GC/MS comparera les spectres de masse des différents constituants avec des spectres de référence.

## CHAPITRE III. RESULTATS ET DISCUSSION

Le présent travail porte sur l'optimisation de la séparation et du temps d'analyse des constituants d'une base parfum et de leur identification. La base parfum analysée est un mélange d'extraits naturels et de produits de synthèse utilisé pour parfumer des produits industriels.

Les résultats seront structurés comme suit :

-La première étape porte sur l'optimisation en faisant varier les différents paramètres à savoir la quantité injectée, la nature de la phase stationnaire, la programmation de la température de la colonne, le débit de la phase mobile et la température du détecteur.

-La seconde étape est une tentative d'identification des constituants présents par la mise en œuvre des indices de Van Den Doole et le couplage chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse (GC/MS).

### 1. LES PARAMETRES D'OPTIMISATION DE LA SEPARATION CHROMATOGRAPHIQUE

#### 1.1. TEST PRELIMINAIRE SUR LA FIABILITE DU VOLUME INJECTE

Le volume de 0.1 µl sera testé sur la colonne polaire SolGel-Wax pour évaluer la qualité de l'analyse.

L'échantillon est prélevé et introduit dans l'injecteur à l'aide d'une microseringue de 1 µl. Les essais 1, 2 et 3 ont été réalisés sur la colonne polaire en testant trois modes de programmation de la température.

- **Essai 1** : la programmation de température utilisée correspond aux valeurs limites de la

colonne :  $40^{\circ}\text{C}$  (3min)  $\xrightarrow{7.5^{\circ}\text{C}/\text{min}}$   $280^{\circ}\text{C}$  (25min)

Sur la figure 17, le premier pic (pic 1) apparaît à un temps de rétention 10.47 min et le dernier pic (pic 30) à 32.16 min. Ces temps de rétention correspondent respectivement à des températures de 96.02°C et de 258.70°C.

Cet essai permet de définir la programmation de température de l'essai suivant. Ce dernier devra démarrer à une température inférieure d'environ 10°C à la température d'apparition du pic 1 qui est de 95°C, la température retenue est de 85°C. La température finale de l'essai suivant devra être supérieure d'environ 10°C à la température d'apparition du pic 30 qui est de 258.73°C, la température finale retenue est de 265°C. Le palier qui a été de 25 min dans l'essai 1 est réduit à 18 min pour minimiser le temps d'analyse. Cette durée n'a pas été prise

plus courte en raison de l'ignorance du comportement de l'échantillon au voisinage de la température finale de 265°C.

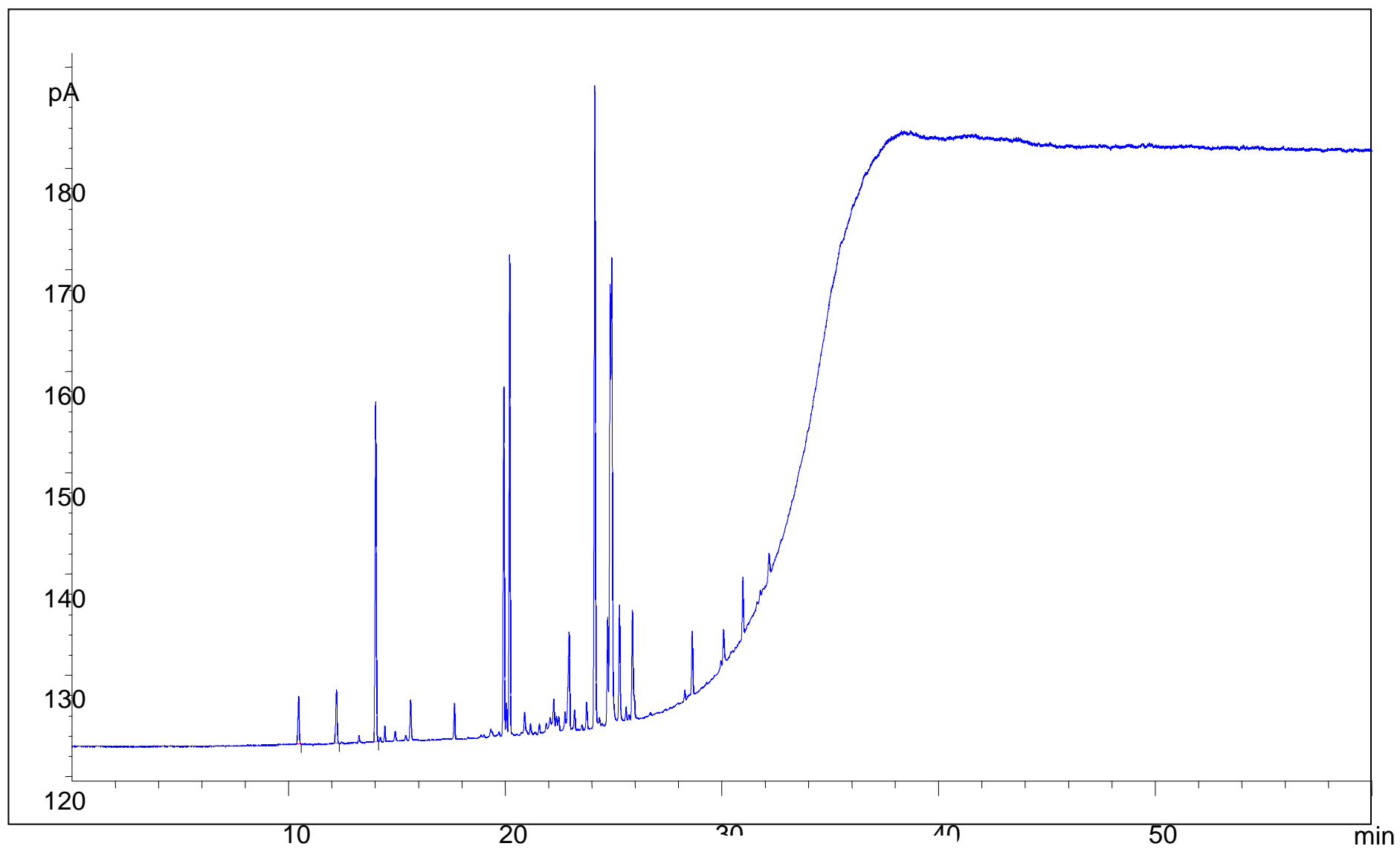


Figure 17. Chromatogramme de l'essai 1

- **Essai 2** : en laissant une marge d'environ 10°C aux deux températures de sortie des pics extrêmes de l'essai 1, l'essai 2 aura la programmation de température suivante :

$$85^{\circ}\text{C} (3\text{min}) \xrightarrow{7.5^{\circ}\text{C}/\text{min}} 265^{\circ}\text{C} (18\text{min})$$

D'après la figure 18, une dérive apparaît et se stabilise durant les 15 dernières minutes pendant lesquelles aucun pic n'apparaît à cause des hautes températures. Pour réduire la dérive, la température finale doit être diminuée [24]

De ce fait une température plus faible et proche de 265°C est appliquée pour éviter la perte des derniers pics. Un palier de 15 min est envisagé pour permettre la « sortie » des derniers pics..

-**Essai 3** : Cet essai est comparable au précédent, à l'exception de la température finale qui sera de 250°C durant 15 min. l'essai 3 aura la programmation de température suivante :

$$85^{\circ}\text{C} (3\text{min}) \xrightarrow{7.5^{\circ}\text{C}/\text{min}} 250^{\circ}\text{C} (15\text{min})$$

La figure 19 montre que la dérive à diminué, tous les derniers pics (de 27 à 30) apparus lors de l'essai 2 ne sont pas perdus lors de cet essai.

En résumé, ces trois programmations de température ont permis de montrer qu'une programmation de température convenablement choisie permet de réduire la dérive. Par ailleurs, ces résultats montrent une différence de l'intensité des pics entre les trois essais, cette différence serait provoquée par l'erreur commise lors du prélèvement de l'échantillon qui porte sur un volume très faible (0.1µL) prélevé par une seringue de 1µL. Pour minimiser cette erreur, un volume injecté plus importante (0.5 µL) sera utilisé pour la suite de ce travail. Ce volume est limité à 0.5 µL pour éviter une séparation insuffisante des pics qui est généralement affectée par le volume injecté [3].

## 1.2. L'INFLUENCE DE LA PROGRAMMATION DE LA TEMPERATURE SUR LA SEPARATION DES CONSTITUANTS

Les colonnes utilisées sont la colonne polaire SolGel-Wax et la colonne apolaire HP-5.

### 1.2.1. La colonne polaire

-**Essai 4** : Rappelons que la colonne polaire possède des températures limites de 30 et 300°C.

La programmation de température correspond aux valeurs limites de la colonne, la température minimale est majorée de 10°C et la température maximale est minorée de 20°C



pour éviter les risques de perte de la phase stationnaire [3]. Les valeurs extrêmes utilisées (40°C et 280°C) permettent de repérer les températures limites correspondant à la

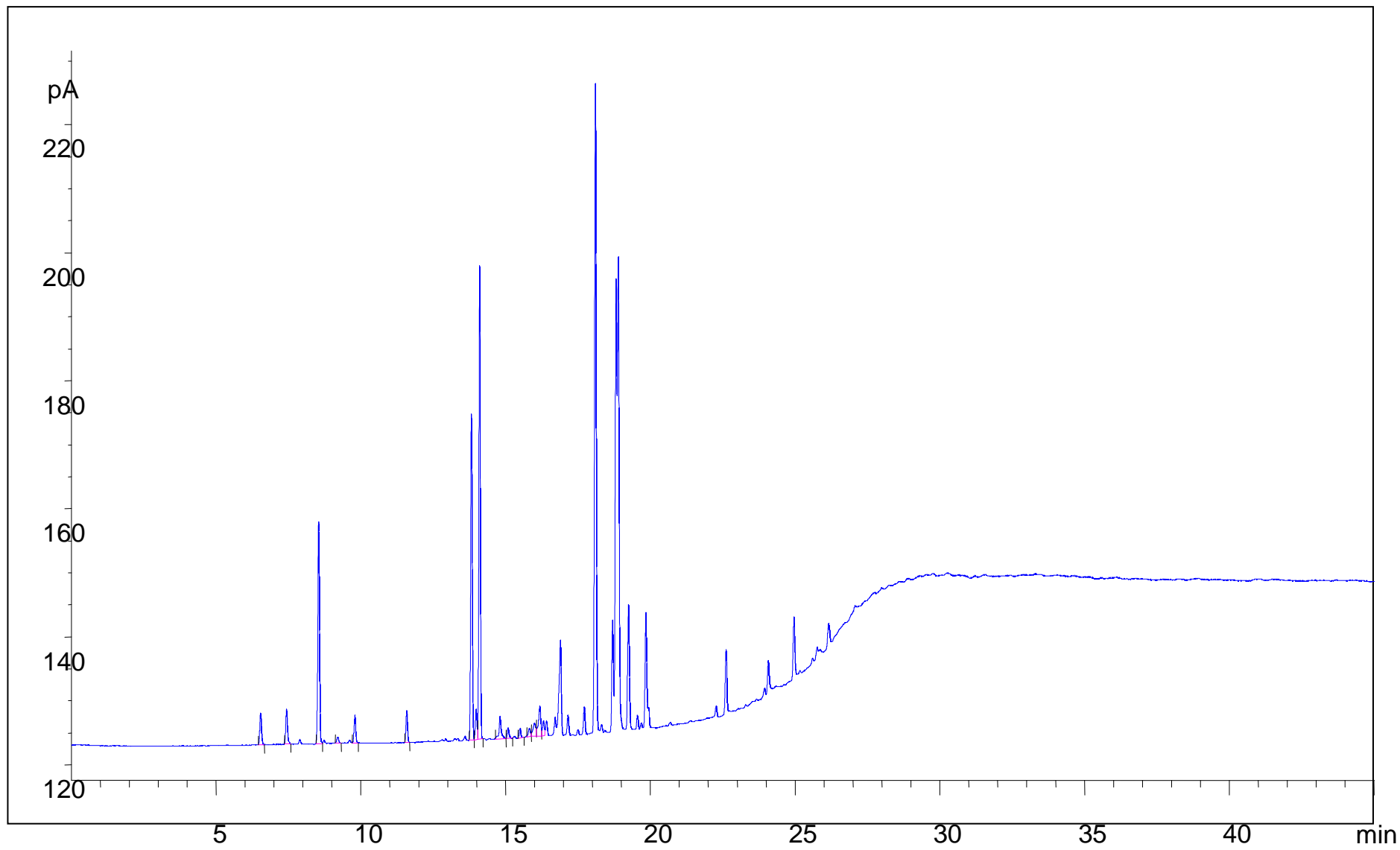


Figure 18. Chromatogramme de l'essai 2

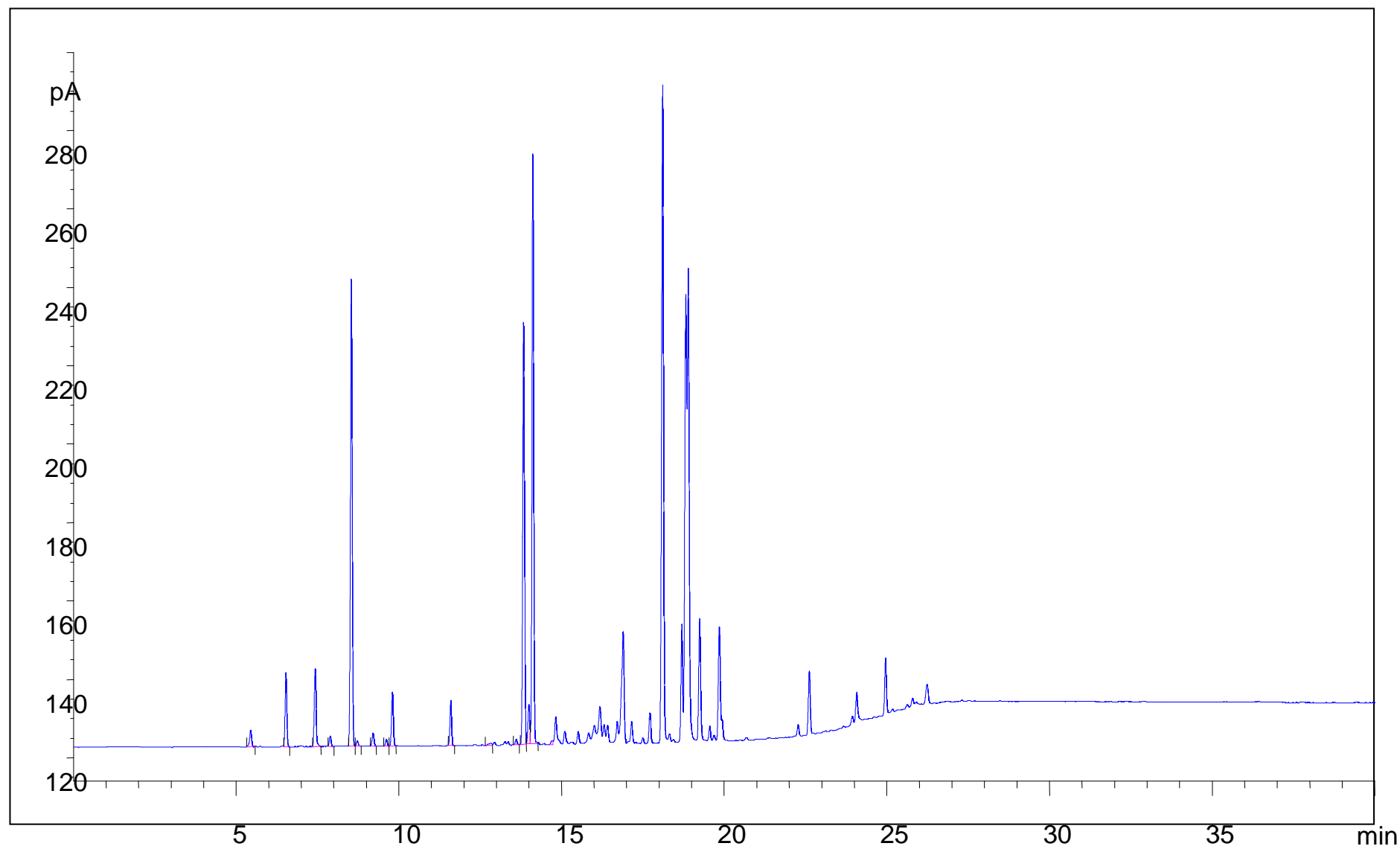


Figure 19. Chromatogramme de l'essai 3

température d'apparition du premier et du dernier pic. La programmation retenue est la suivante:

$$40^{\circ}\text{C} (3\text{min}) \xrightarrow{7.5^{\circ}\text{C}/\text{min}} 280^{\circ}\text{C} (25\text{min})$$

Sur la figure 20, le premier pic (pic 1) apparaît à un temps de rétention de 6.75 min, et le dernier (pic 46) à 32.17 min. Ces temps de rétention correspondent respectivement à des températures de 68.12°C et de 258.77°C.

Cet essai permet de définir la programmation de température de l'essai suivant. Ce dernier devra démarrer à une température inférieure d'environ 3°C à la température d'apparition du premier pic qui est de 68.12°C pour permettre la sortie de tous les composés légers. Pour cela, la température retenue est de 65°C. Le dernier pic qui apparaît dans cet essai avec un temps de rétention de 32.17 min qui correspond à une température finale de 258.77°C, ce pic est apparu lors de l'essai 1 avec un temps de rétention de 32,16 min. La température finale de 250°C est suffisante pour permettre l'apparition du dernier pic.

Cet essai a produit 46 pics, alors que l'essai 1 réalisé avec les mêmes conditions opératoires n'a révélé que 30 pics (figure 20), le nombre de pics est passé de 30 à 46 pics. Cette augmentation du nombre de pics est due à l'élévation du volume injecté. Ce résultat suggère que le volume de 0.1µL injecté était inférieur à la quantité minimale détectable qui donne des pics dont la hauteur correspond à deux fois le bruit de fond [3].

**-Essai 5 :** la programmation de température est la suivante :

$$65^{\circ}\text{C} (3\text{min}) \xrightarrow{7.5^{\circ}\text{C}/\text{min}} 250^{\circ}\text{C} (15\text{min})$$

Une dérive est observée sur le chromatogramme de la figure 21, elle est particulièrement localisée au niveau des températures élevées qui la favoriseraient [24]. Pour limiter la dérive lors de l'essai suivant, la température finale a été limitée à 240°C avec un palier de 15 min. Cette durée du palier est maintenue aux 15 min nécessaires à l'élution des composés lourds, ce choix n'augmente pas la durée de l'analyse.

**-Essai 6 :** la température finale passe de 250°C dans l'essai 5 à 240°C. La programmation de température est la suivante:

$$65^{\circ}\text{C} (3\text{min}) \xrightarrow{7.5^{\circ}\text{C}/\text{min}} 240^{\circ}\text{C} (15\text{min})$$

Le chromatogramme de la figure 22 présente toujours une dérive. Le dernier pic apparaît à un temps de rétention de 29.19 min, c'est-à-dire à presque 3 min de chauffe à 240°C. Concernant

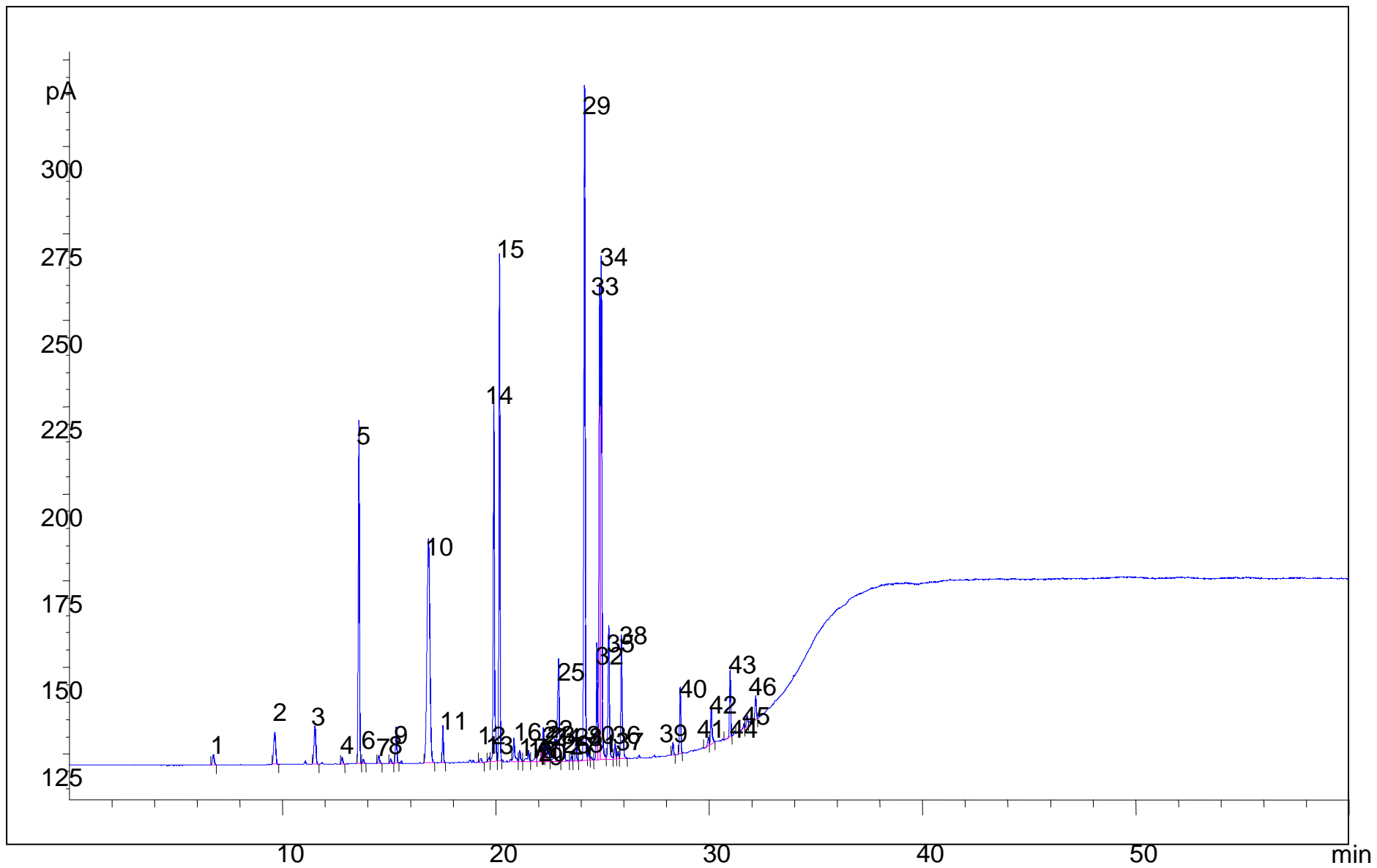


Figure 20. Chromatogramme de l'essai 4

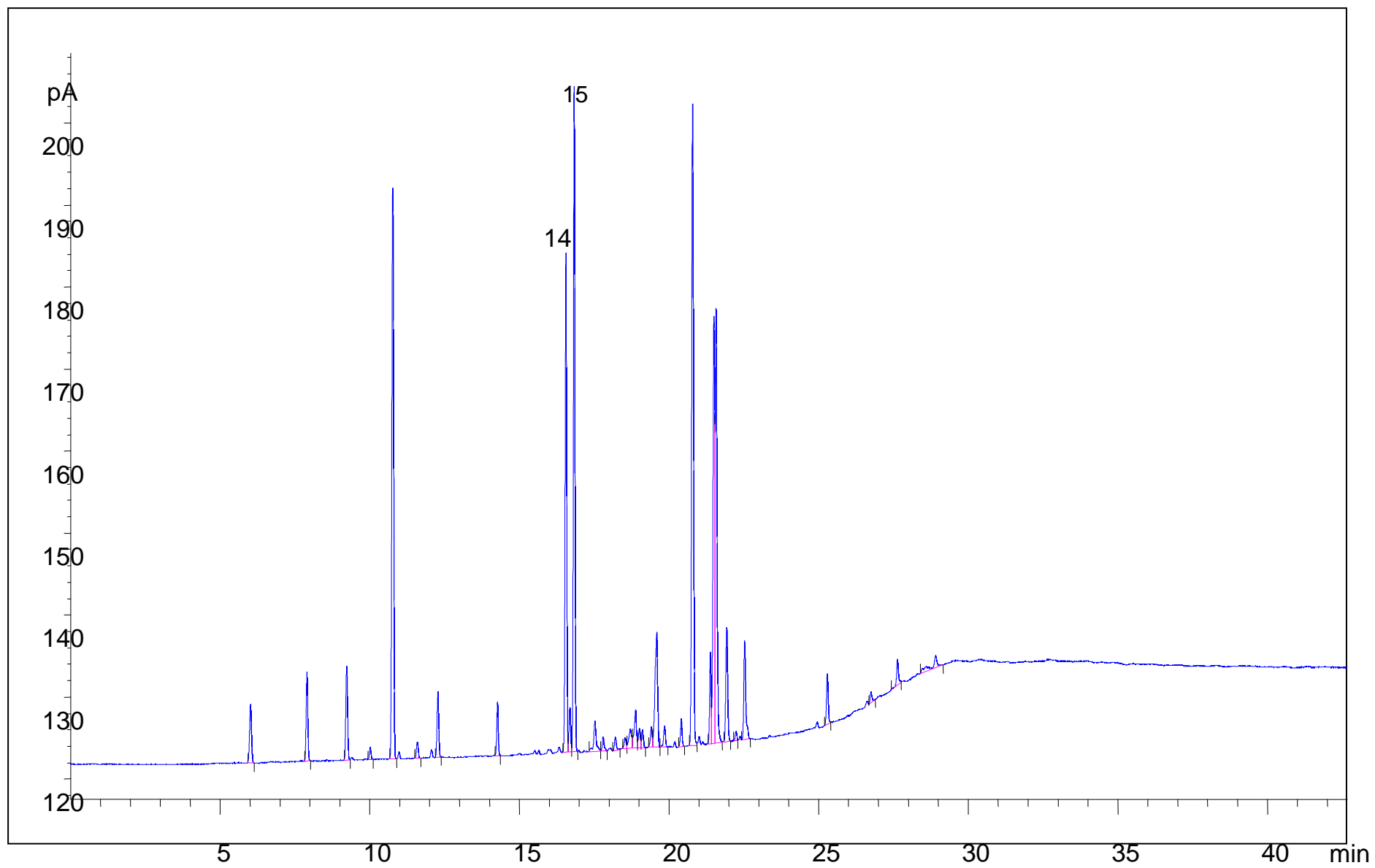


Figure 21. Chromatogramme de l'essai 5

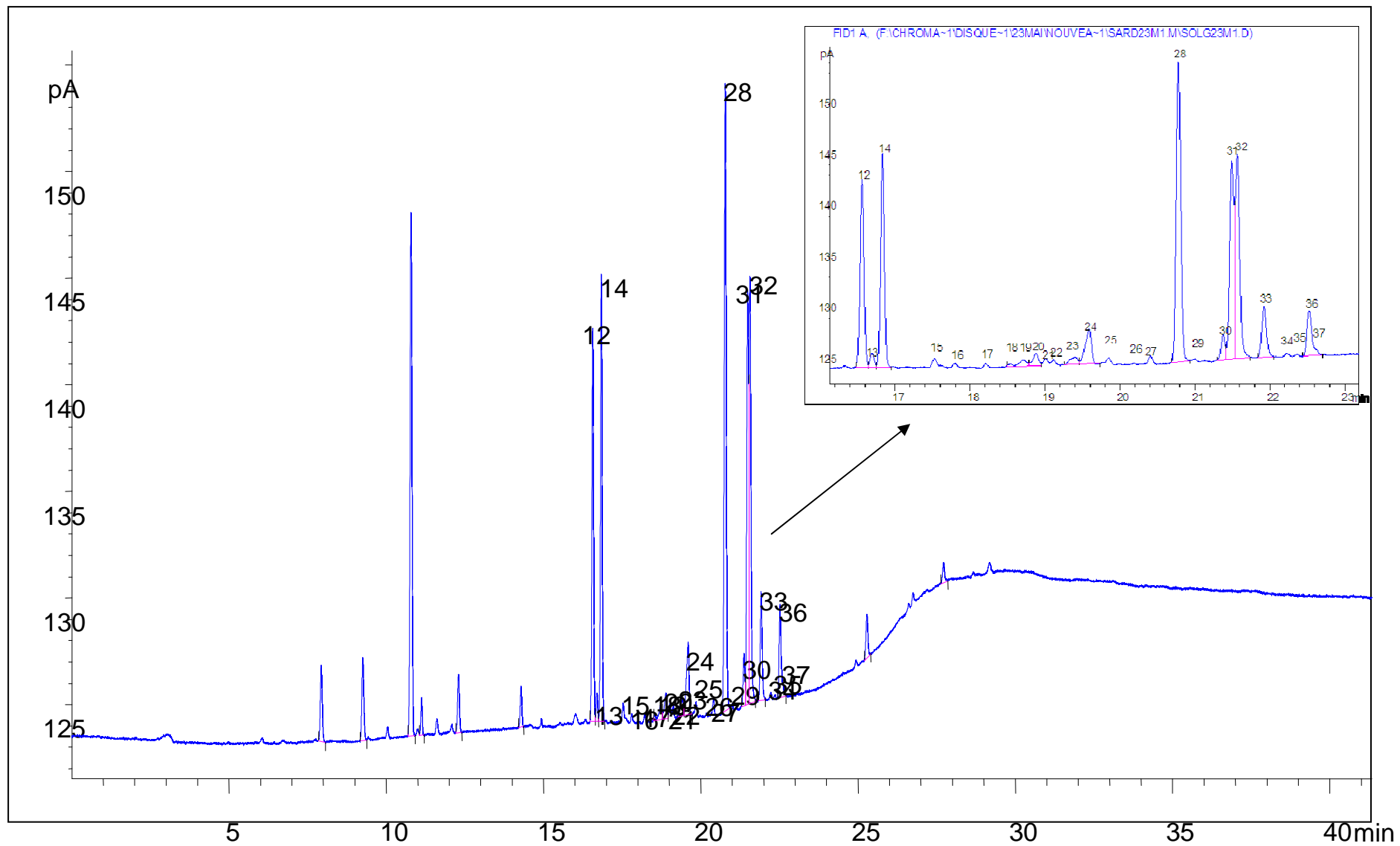


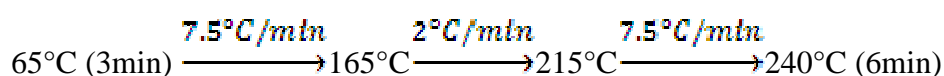
Figure 22. Chromatogramme de l'essai 6

la durée du palier de la température finale (240), en ajoutant 3 min supplémentaires au temps nécessaire à la sortie du dernier pic, cette durée sera de 6 min.

La zone comprise entre 16,33 min et 23,00 min présente une mauvaise séparation des pics, elle correspond à des températures comprises entre 165°C et 215°C.

Pour l'essai suivant, pour améliorer la séparation des pics, la rampe de chauffe est réduite à 2°C/min dans cette gamme de température afin d'espacer les distances d'élution des constituants.

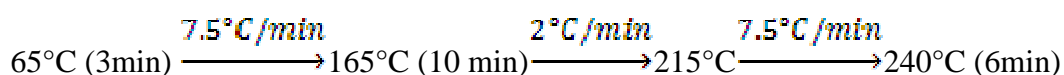
**-Essai 7 :** les résultats de l'essai précédents permettent d'établir la programmation de température suivante :



La figure 23 montre que la séparation entre les pics 19 et 20 s'améliore sensiblement. La séparation entre les pics 23 et 24 est également améliorée. La résolution entre les pic 30 et 31 est meilleure et la séparation est totale. Bien que la résolution entre les pics 31 et 32 augmente, la séparation n'est pas totale. Concernant les pics 12, 13 et 14, aucune amélioration n'a été remarquée.

Pour la suite, l'attention se portera sur l'amélioration de la séparation des pics majoritaires dans deux régions. L'essai 8 portera sur la première région qui englobe les trois pics 12, 13 et 14, l'essai 9 portera sur la deuxième région qui englobe les pics 31 et 32. Dans la première région, l'amélioration de la séparation sera tentée avec une rampe de chauffe minimale à 165°C pendant 10 min.

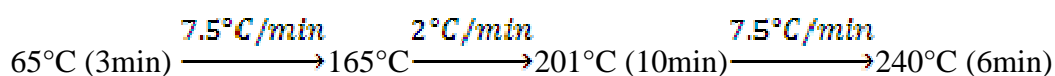
**-Essai 8 :** la programmation de la température est la suivante :



La figure 24 montre que le palier de 10 min à 165°C n'a pas amélioré la séparation des pics 12, 13 et 14.

Concernant la deuxième région qui englobe les pics 31 et 32, le pic 31 s'élue à 202.85°C dans l'essai 6. Une température inférieure d'environ 2°C est proposée. La température retenue est de 201°C pendant 10 min.

**-Essai 9 :** la programmation de la température est la suivante :





La figure 25 montre que ces conditions expérimentales ne permettent pas une amélioration de la séparation des pics 31 et 32.

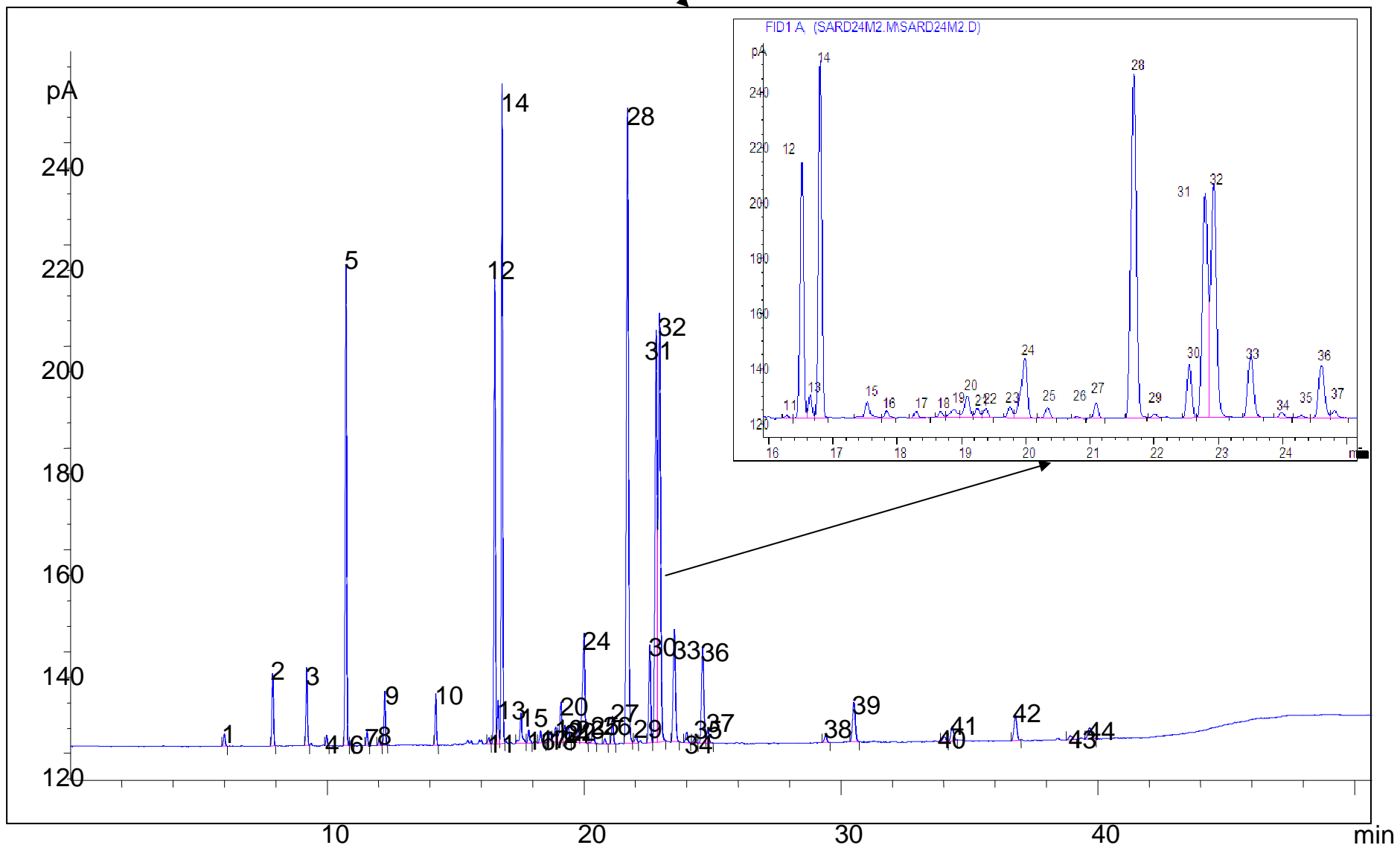


Figure 23. Chromatogramme de l'essai 7

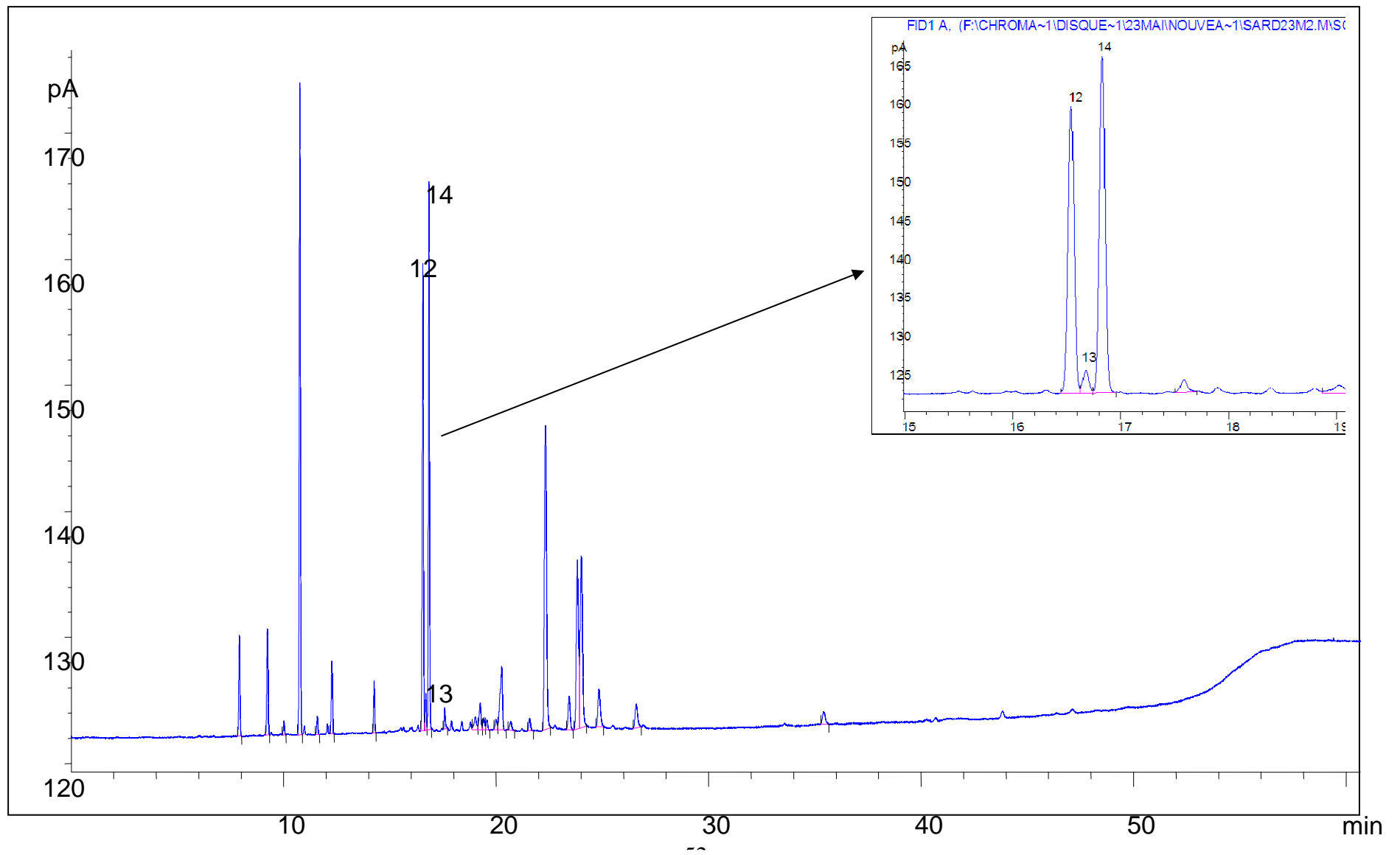


Figure 24. Chromatogramme de l'essai 8

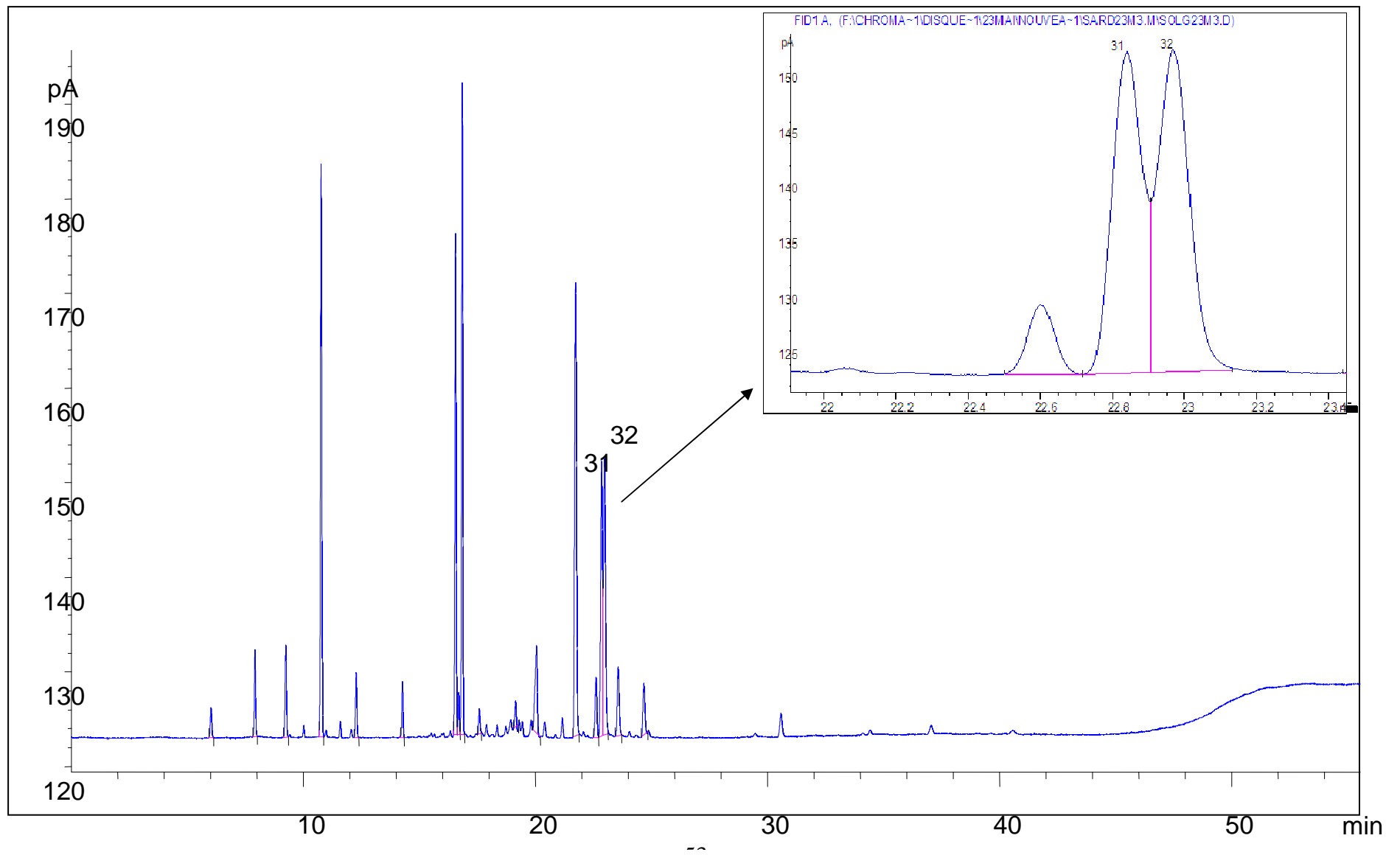


Figure 25. Chromatogramme de l'essai 9

Les résultats des essais 7, 8 et 9 montrent que le dernier pic apparaît toujours avant 240°C, la dérive commence approximativement à cette température. L'essai suivant testera un mode de programmation avec une température finale plus faible, cette température devrait permettre de retrouver tous les derniers pics en utilisant le même palier de 6 min. La température retenue est de 230°C avec un palier de 6 min.

**-Essai 10 :** la programmation de la température est la suivante :

65°C (3min)  $\xrightarrow{7.5^\circ\text{C}/\text{min}}$  165°C  $\xrightarrow{2^\circ\text{C}/\text{min}}$  215°C  $\xrightarrow{7.5^\circ\text{C}/\text{min}}$  230°C (6min)

Parmi les modes de programmation de la température testés, ce dernier paraît le plus efficace. Il permet d'offrir la meilleure séparation avec une durée d'analyse relativement limitée (figure 26).

### 1.2.2. La colonne apolaire

La colonne apolaire permet en générale la séparation des composés en fonction de leur point d'ébullition.

**-Essai 11 :** bien que la colonne apolaire supporte des températures extrêmes de -60°C et 325/350°C, l'essai 1 permet de montrer que la température de 40°C est largement suffisante pour permettre l'élution des composés les plus volatiles. Les essais précédents ont montré que la température de 240°C est suffisante pour que tous les composés lourds et retenus par la phase stationnaires soient élués. Ces deux températures sont retenues au cours de cet essai pour déterminer les températures de sortie du premier et du dernier constituant, ces valeurs permettent ensuite de proposer de nouvelles modalités de programmation de températures qui pourraient être utilisées.

La programmation de température est la suivante :

40°C (3min)  $\xrightarrow{7.5^\circ\text{C}/\text{min}}$  280°C (25min)

La rampe de chauffe de 7.5°C/min, le palier initial de 3 min à 40°C et le palier final de 25 min sont justifiés dans l'essai 1.

Sur le chromatogramme de la figure 27, le premier pic apparaît à un temps de rétention de 6.29 min qui correspond à une température de 64.67°C. Le dernier pic apparaît à un temps de rétention de 39.18 min c'est-à-dire après 4,18 min de chauffe à 240°C.

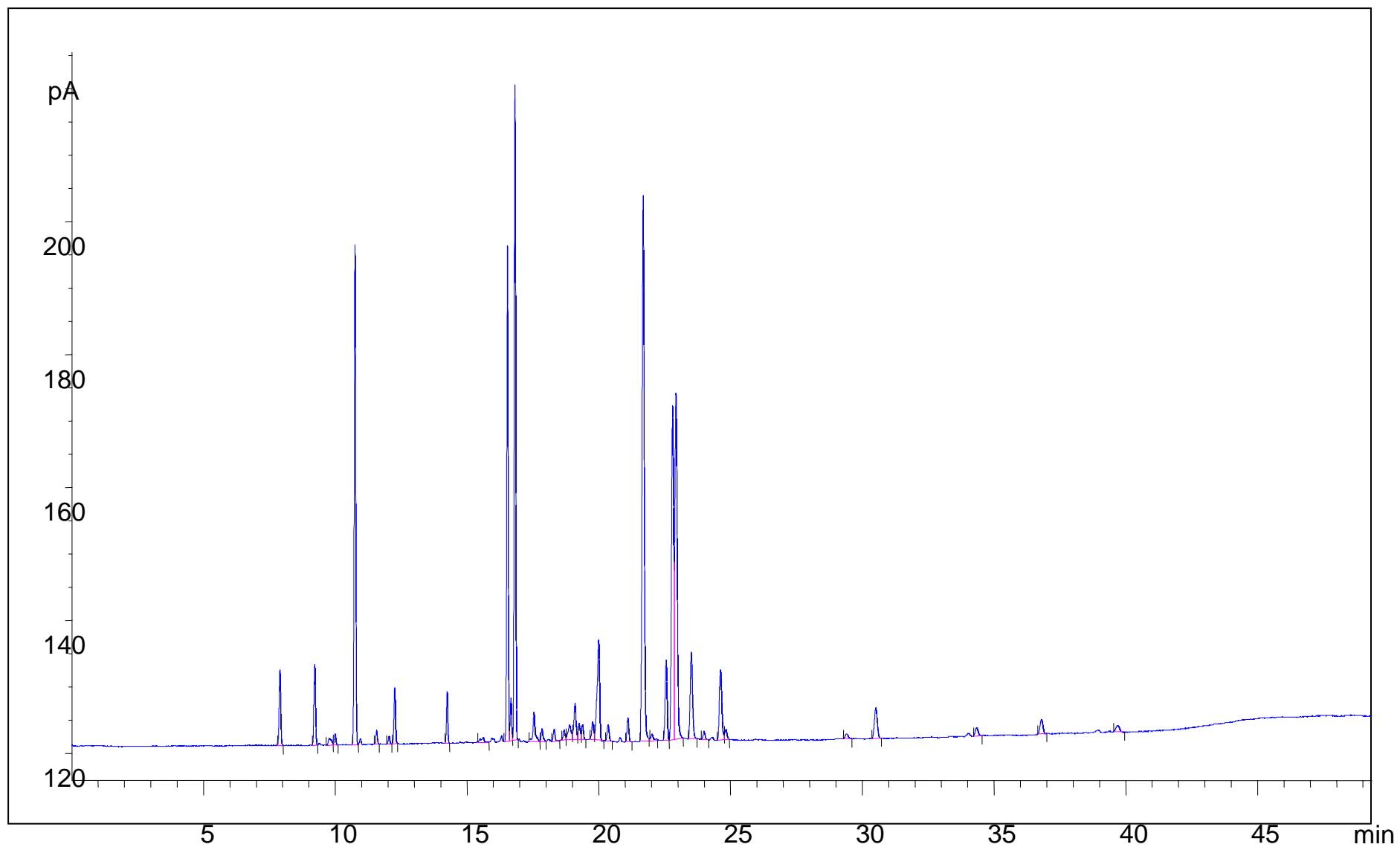


Figure 26. Chromatogramme de l'essai 10

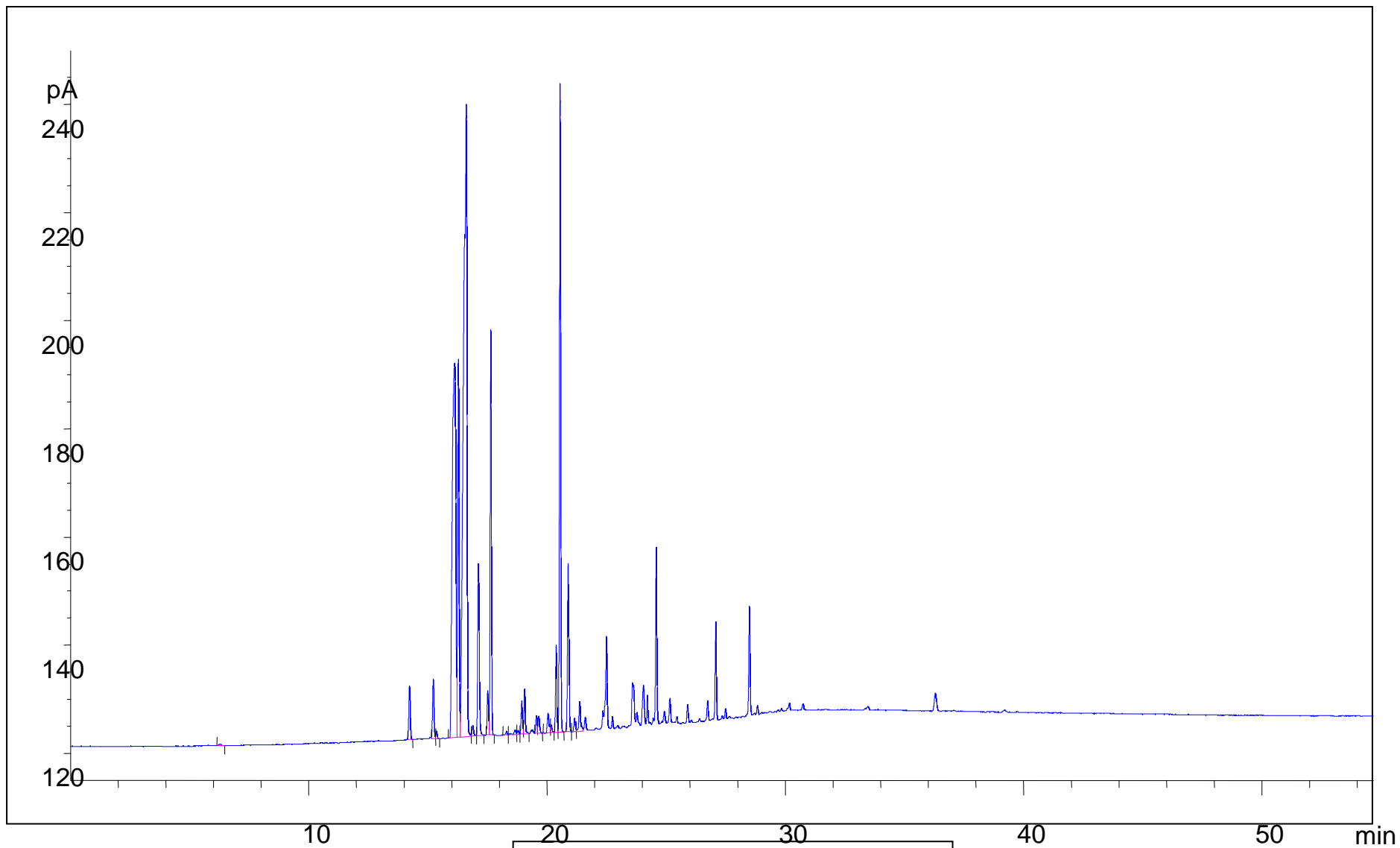


Figure 27. Chromatogramme de l'essai 11

L'essai suivant devra démarrer avec une température inférieure d'environ 5°C à celle correspondant à la température d'apparition du premier pic (64.67°C), la température retenue est donc de 60°C. La température finale sera maintenue avec un palier supérieur d'environ 5 min à celui permettant l'élution du dernier constituant, le nouveau palier aura donc une durée de 10 min.

**-Essai 12 :** la programmation de la température est la suivante :

$$60^{\circ}\text{C} (3\text{min}) \xrightarrow{7.5^{\circ}\text{C}/\text{min}} 240^{\circ}\text{C} (10\text{min})$$

La figure 28 montre que la zone comprise entre les temps de rétention de 11 et 25 min présente une mauvaise séparation des pics, elle correspond à des températures comprises entre 120°C et 225°C.

Pour l'essai suivant, pour améliorer la séparation des pics, la rampe de chauffe est réduite à 2°C/min dans cette gamme de température afin d'éloigner les températures de sortie des molécules et ainsi différencier leur temps de rétention.

**-Essai 13 :** les résultats de l'essai précédents permettent d'établir la programmation de température suivante :

$$60^{\circ}\text{C} (3\text{min}) \xrightarrow{7.5^{\circ}\text{C}/\text{min}} 120^{\circ}\text{C} \xrightarrow{2^{\circ}\text{C}/\text{min}} 225^{\circ}\text{C} \xrightarrow{7.5^{\circ}\text{C}/\text{min}} 240^{\circ}\text{C} (3\text{min})$$

Sur le chromatogramme de la figure 29, aucune amélioration notable dans la séparation des pics majoritaires 6,7 et 8 n'est observée. Une faible amélioration est remarquée sur quelques pics minoritaires. Pour la suite, l'attention sera portée sur la séparation des pics majoritaires 6, 7 et 8, l'amélioration de la séparation sera tentée avec une rampe de chauffe minimale à 124°C pendant 10 min.

**-Essai 14 :** la programmation de température est la suivante :

$$60^{\circ}\text{C} (3\text{min}) \xrightarrow{7.5^{\circ}\text{C}/\text{min}} 165^{\circ}\text{C} \xrightarrow{2^{\circ}\text{C}/\text{min}} 124^{\circ}\text{C} (10 \text{ min}) \xrightarrow{2^{\circ}\text{C}/\text{min}} 225^{\circ}\text{C} \xrightarrow{7.5^{\circ}\text{C}/\text{min}} 240^{\circ}\text{C} (3\text{min})$$

La figure 30 montre que le palier de 10 min à 124°C n'a pas amélioré la séparation des pics 6, 7 et 8.

En résumé, les essais précédents montrent que la rampe de chauffe de 2°C/min a permis l'amélioration de quelques pics minoritaires avec une durée d'analyse relativement longue. C'est donc la rampe de 7.5°C/min qui permet une plus courte durée d'analyse. Sur la figure 28, le dernier pic apparaît à une température de 231.17°C, ce qui permet de réduire le palier de la température finale (240°C) de 10 min à 3min. La meilleure séparation des pics pourrait



donc être obtenue avec la programmation de température suivante :

60°C (3min)  $\xrightarrow{7.5^{\circ}\text{C}/\text{min}}$  240°C (3 min)

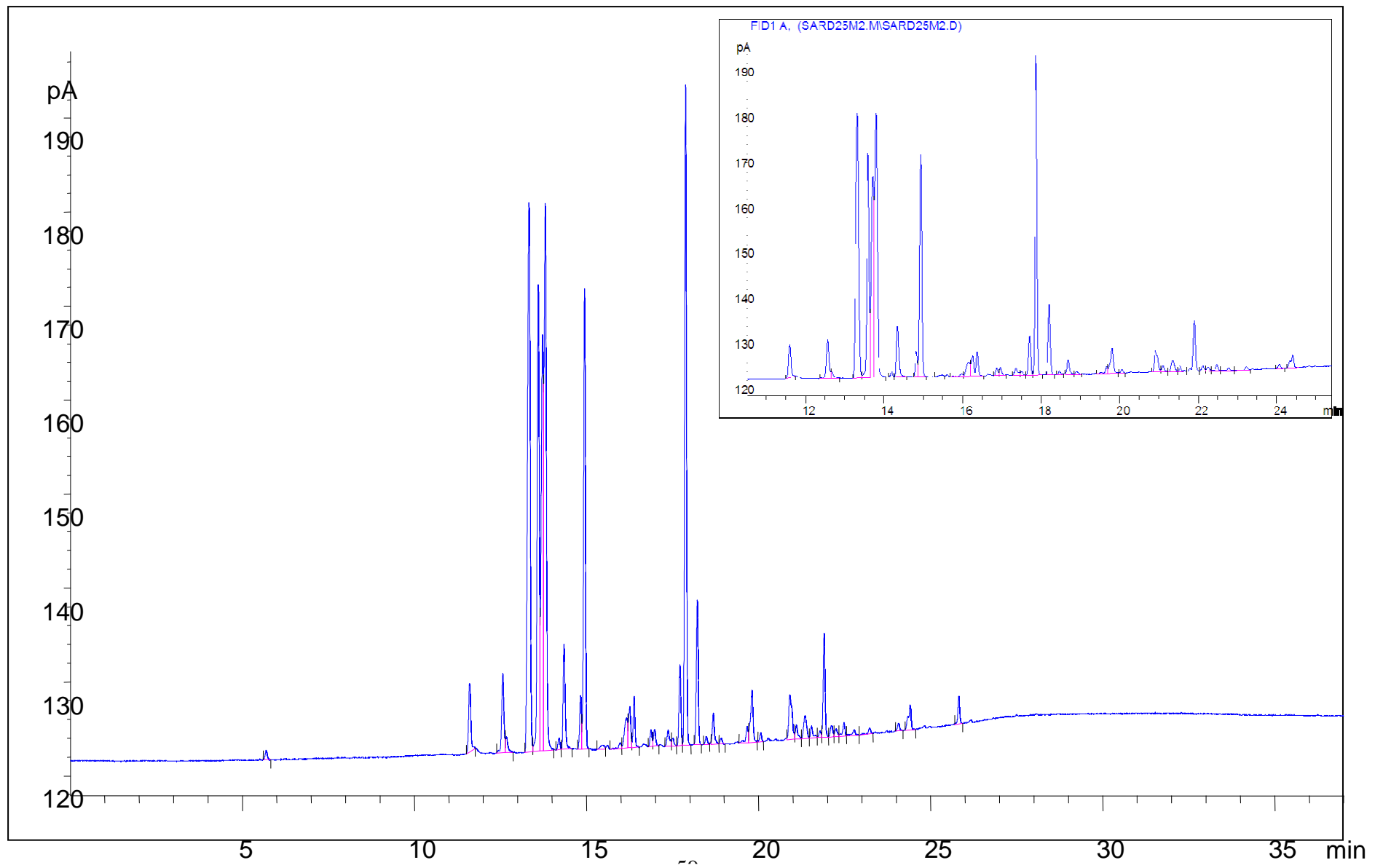


Figure 28. Chromatogramme de l'essai 12

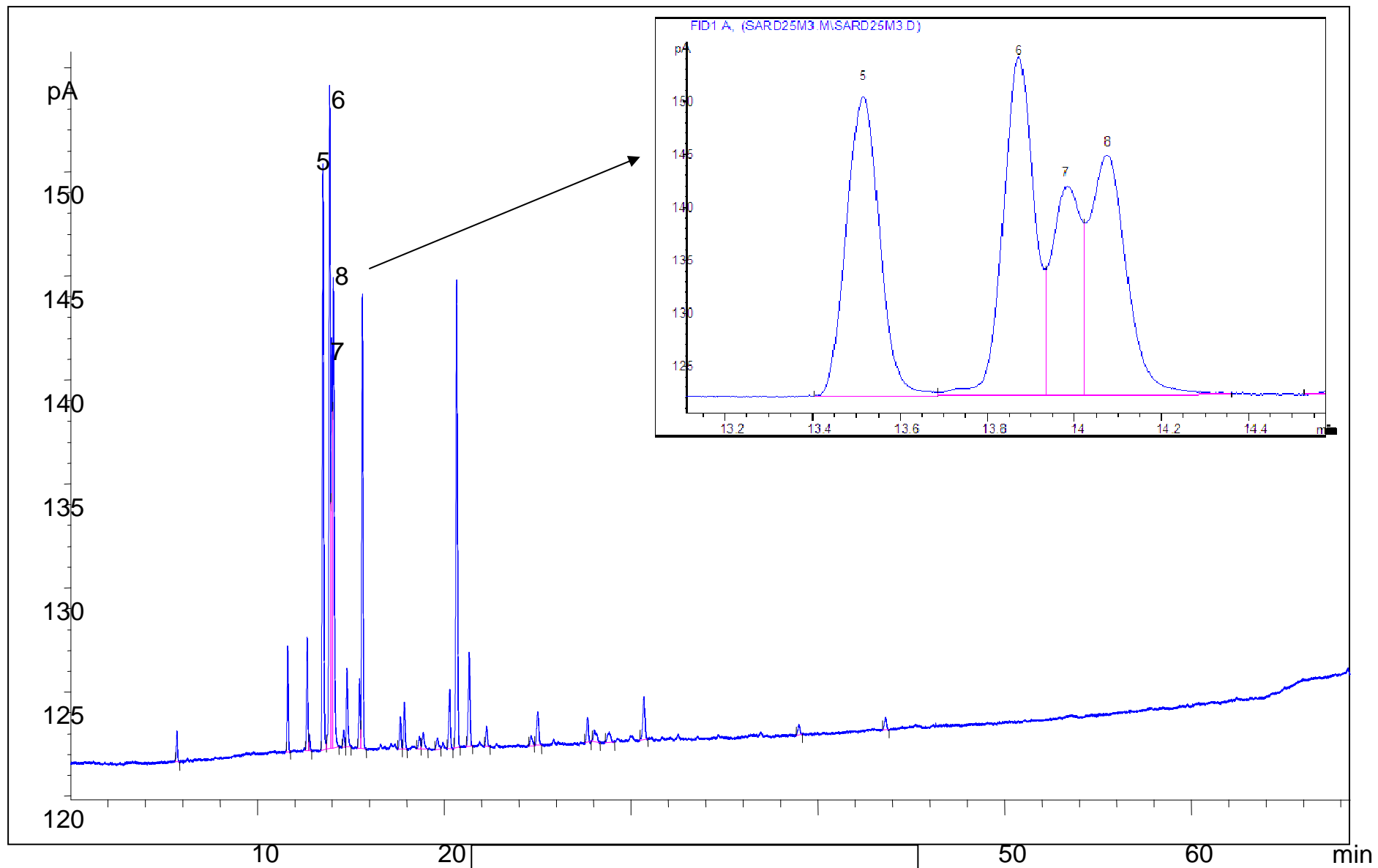


Figure 29. Chromatogramme de l'essai 13

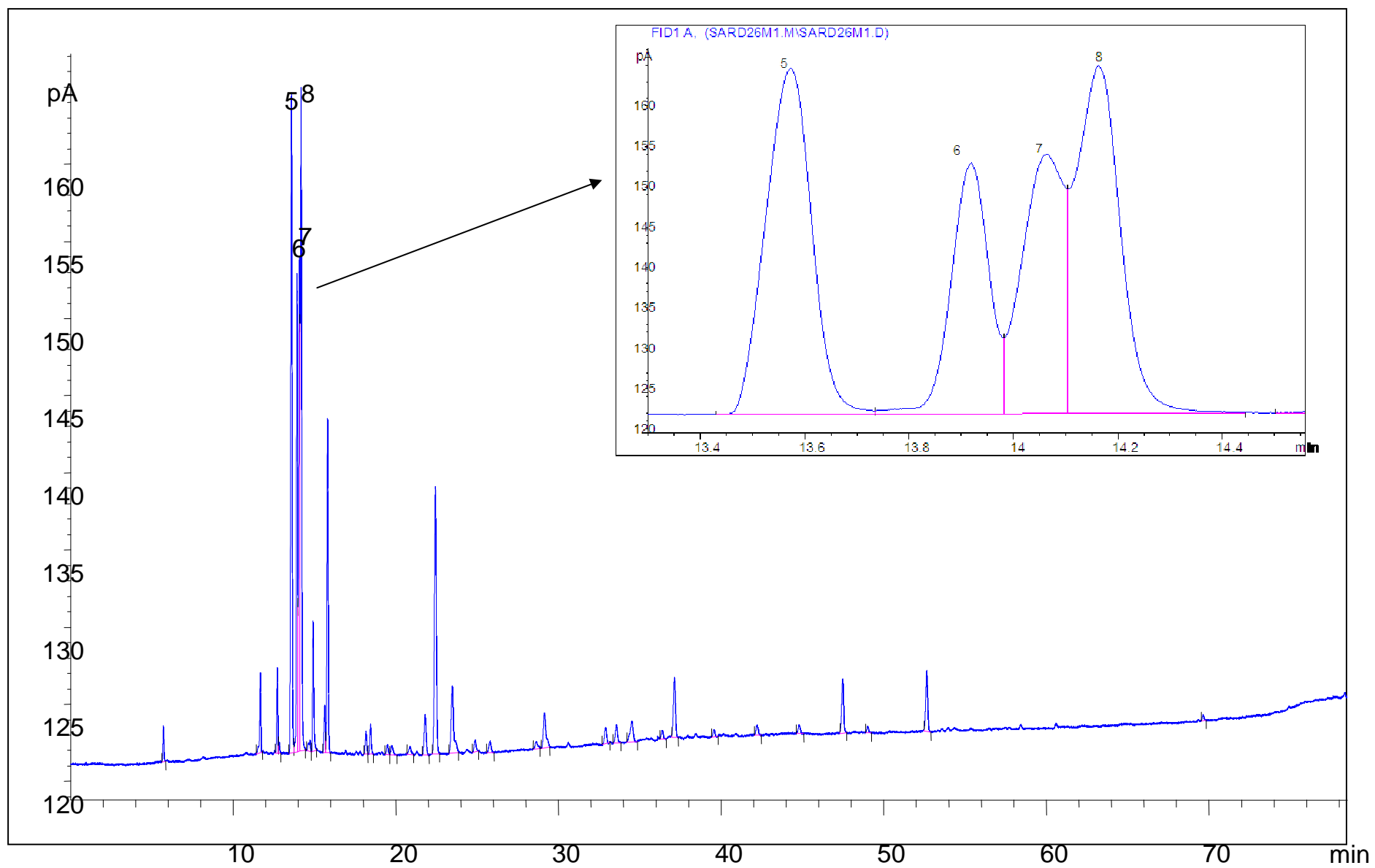


Figure 30. Chromatogramme de l'essai 14

### 1.3. L'INFLUENCE DU DEBIT DU GAZ VECTEUR

Il s'agit ici de comparer l'effet de deux débits du gaz vecteur sur la séparation des pics. Les essais précédents ont été réalisés avec un débit de gaz vecteur (hélium) de 0.5ml/min. Les essais 15 et 16 sont réalisés avec un débit de 1ml/min qui correspond à une vitesse de l'ordre de 19 cm/min qui favorise une meilleure séparation des pics [9].

**-Essai 15 :** Le but de cet essai est de tester un débit de gaz vecteur (hélium) de 1ml/min sur la colonne polaire avec la programmation de température suivante :

$$65^{\circ}\text{C} (3\text{min}) \xrightarrow{7.5^{\circ}\text{C}/\text{min}} 240^{\circ}\text{C} (15\text{min})$$

La comparaison des résultats présentés sur la figure 31 montre que la résolution des pics 12, 13, 14 est améliorée par rapport à l'essai réalisé avec un débit de 0.5ml/min. Signalons que l'ordre d'éluion entre les pics 13 et 12 s'est inversé. La résolution des pics 31 et 32 a considérablement augmenté.

L'amélioration de la séparation des pics s'expliquerait par le fait que le débit de 1ml/min soit plus proche du débit optimal qui permettrait d'obtenir une hauteur équivalente à un plateau théorique minimum (HEPT min) qui correspond à une plus grande efficacité, comme le montre la figure 31.

**-Essai 16 :** pour évaluer l'effet du débit sur la colonne apolaire, un débit de 1ml/min a été testé avec la programmation de température suivante qui a permis une meilleure séparation avec un temps relativement réduit :

$$60^{\circ}\text{C} (3\text{min}) \xrightarrow{7.5^{\circ}\text{C}/\text{min}} 240^{\circ}\text{C} (3\text{ min})$$

Les résultats présentés sur la figure 32 montrent que le pic 6 s'est totalement séparé du pic 7, il en est de même pour les pics 11 et 12 et les pics 3 et 4. La résolution entre le pic 7 et le pic 8 a augmenté. Une amélioration de la séparation des pics minoritaires situés entre le pic 12 et le pic 22 est remarquée. Le débit de 1 ml/min, qui présente une plus grande efficacité que le débit de 0.5 ml/min, serait proche du débit optimal qui correspond à une hauteur équivalente à un plateau théorique minimale (HEPT<sub>min</sub>).

### 1.4. L'INFLUENCE DE LA TEMPERATURE DU DETECTEUR

Il s'agit ici d'étudier l'influence de la température du détecteur sur la séparation des pics sur les colonnes, polaire et apolaire. A cet effet, les deux températures suivantes du détecteur sont comparées :

- une température de 250°C correspondant à la recommandation de la fiche technique,
- une température minimale de 300°C est recommandée par le fabricant [25]

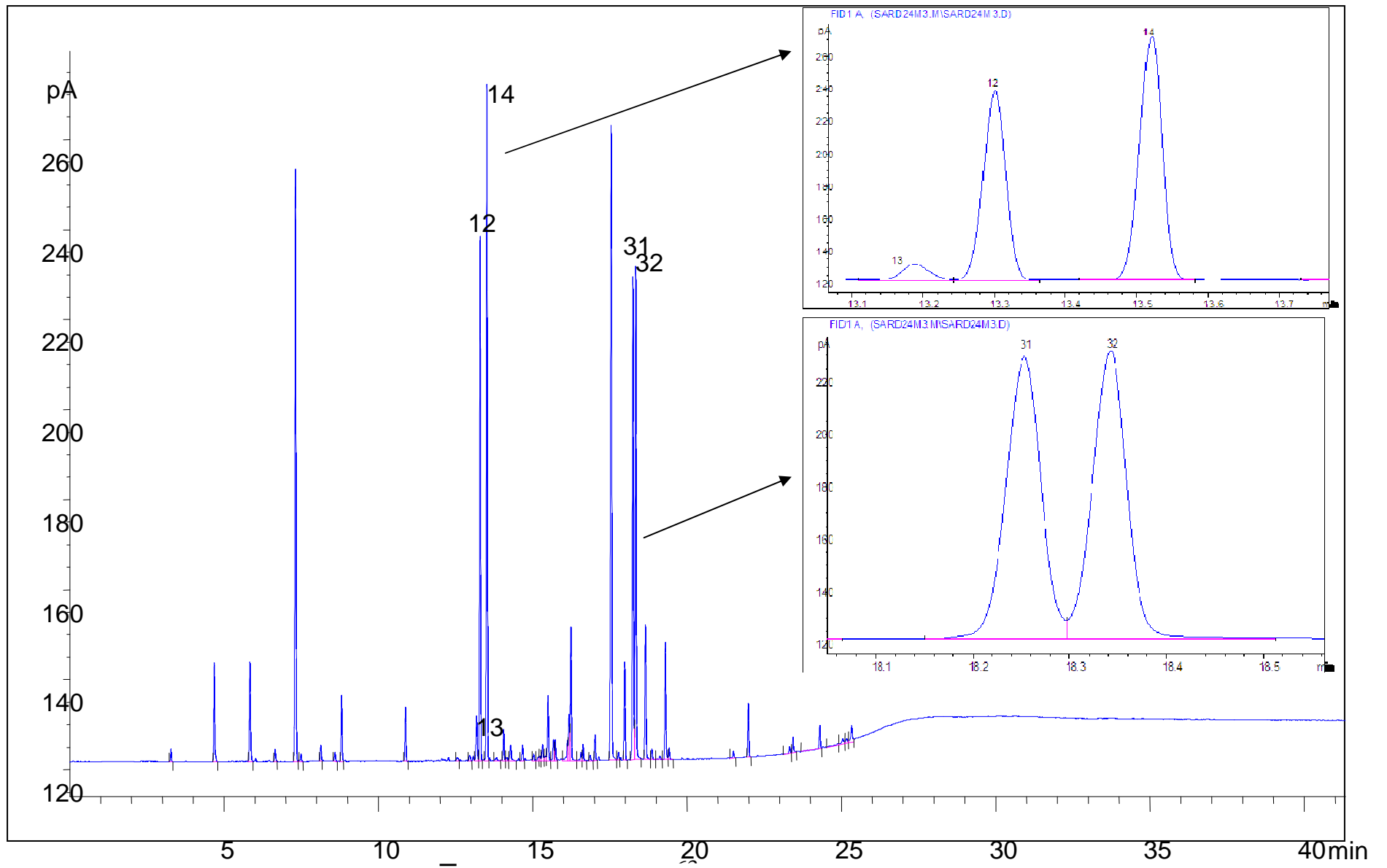


Figure 31. Chromatogramme de l'essai 15

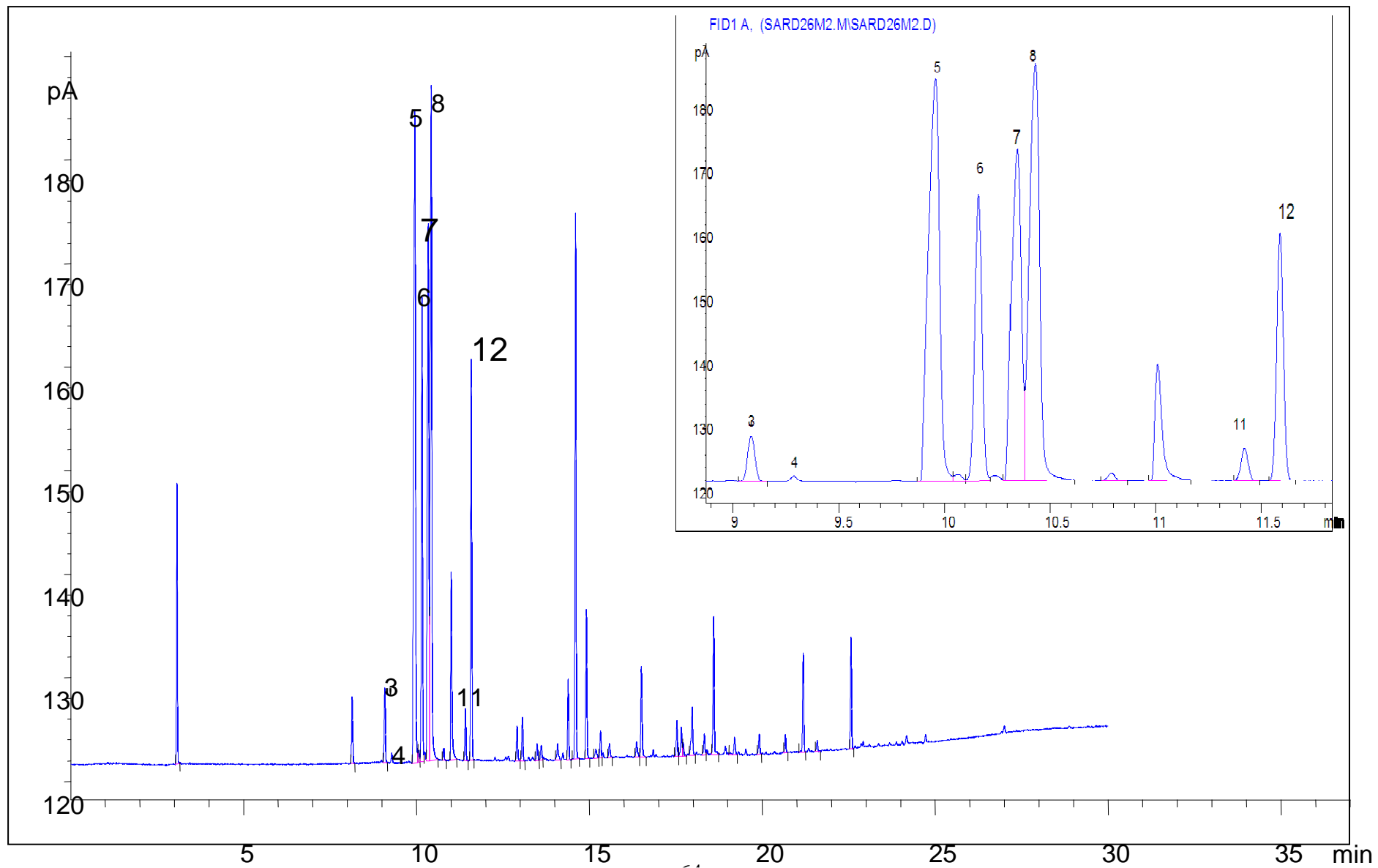


Figure 32. Chromatogramme de l'essai 16

**-Essai 17 :** Cet essai est réalisé avec la programmation de température suivante qui a permis d'obtenir, lors de l'étude des modalités de programmation de température, les meilleures résolutions sur la colonne polaire :

65°C (3min)  $\xrightarrow{7.5^\circ\text{C}/\text{min}}$  165°C  $\xrightarrow{2^\circ\text{C}/\text{min}}$  215°C  $\xrightarrow{7.5^\circ\text{C}/\text{min}}$  230°C (6min)

Le chromatogramme obtenu sur la figure 33 montre que la température du détecteur de 300°C affecte faiblement la qualité des résultats.

**-Essai 18 :** la programmation de température réalisée au cours de cet essai a permis d'obtenir de meilleures résolutions. Cette modalité de programmation de température est la suivante sur

la colonne apolaire : 60°C (3min)  $\xrightarrow{7.5^\circ\text{C}/\text{min}}$  240°C (3 min)

Les résultats présentés sur la figure 34 montrent que la température du détecteur de 300°C affecte sensiblement la qualité des résultats, en particulier la hauteur des pics.

## 2. IDENTIFICATION DES CONSTITUANTS DE LA BASE PARFUM

La procédure d'identification des différents constituants de la base parfum est basée sur la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. La comparaison des indices de rétention calculés sur deux colonnes de polarités différentes avec les résultats obtenus par le couplage GC/MS a permis d'identifier un certain nombre de constituants de la base parfum.

### 2.1 IDENTIFICATION PAR LE COUPLAGE GC/MS

L'identification par le couplage GC/MS est réalisée dans les conditions suivantes :

- Colonne capillaire HP-5 ms de 30 m de longueur et de 0,32mm de diamètre interne,
- Phase stationnaire non polaire : 5% Diphényl et 95% Dimethyl arylene siloxane, épaisseur du film 0,25µm
- Température du quadripôle : 150°C,
- Température de la source : 230°C,
- Température d'interface : 280°C,
- Mode d'ionisation : ionisation électronique,
- Energie d'ionisation : EI=70 eV
- Gaz vecteur : hélium
- Débit de gaz vecteur : 1 ml/mn
- Température de l'injecteur : 250°C
- Volume injecté : 5µl
- Mode d'injection : split 1/100
- La programmation de la température utilisée est celle qui a permis d'obtenir la meilleure séparation sur la colonne HP-5. La programmation est la suivante :

60°C à 240°C à raison de 7.5°C/min



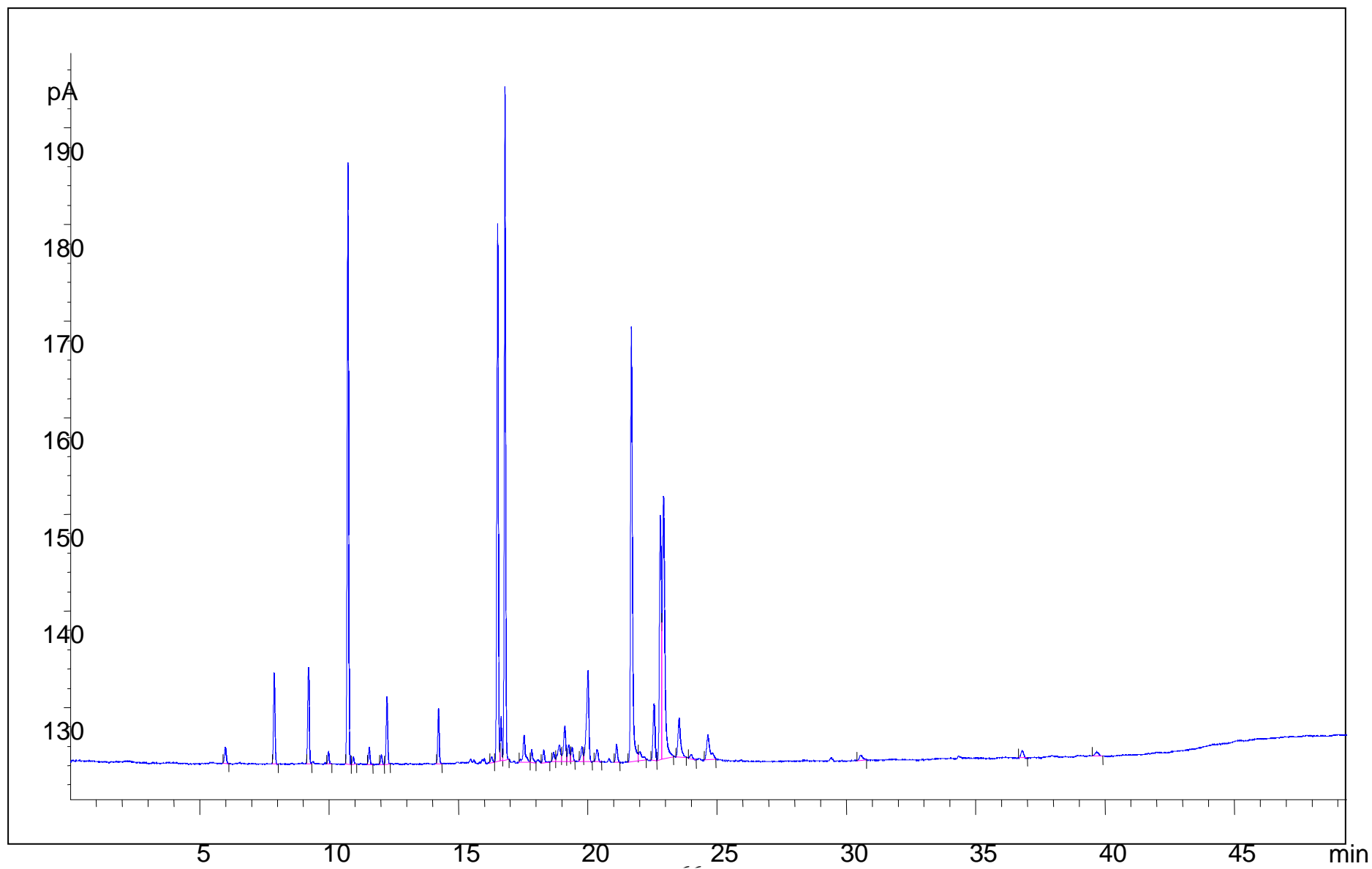


Figure 33. Chromatogramme de l'essai 17

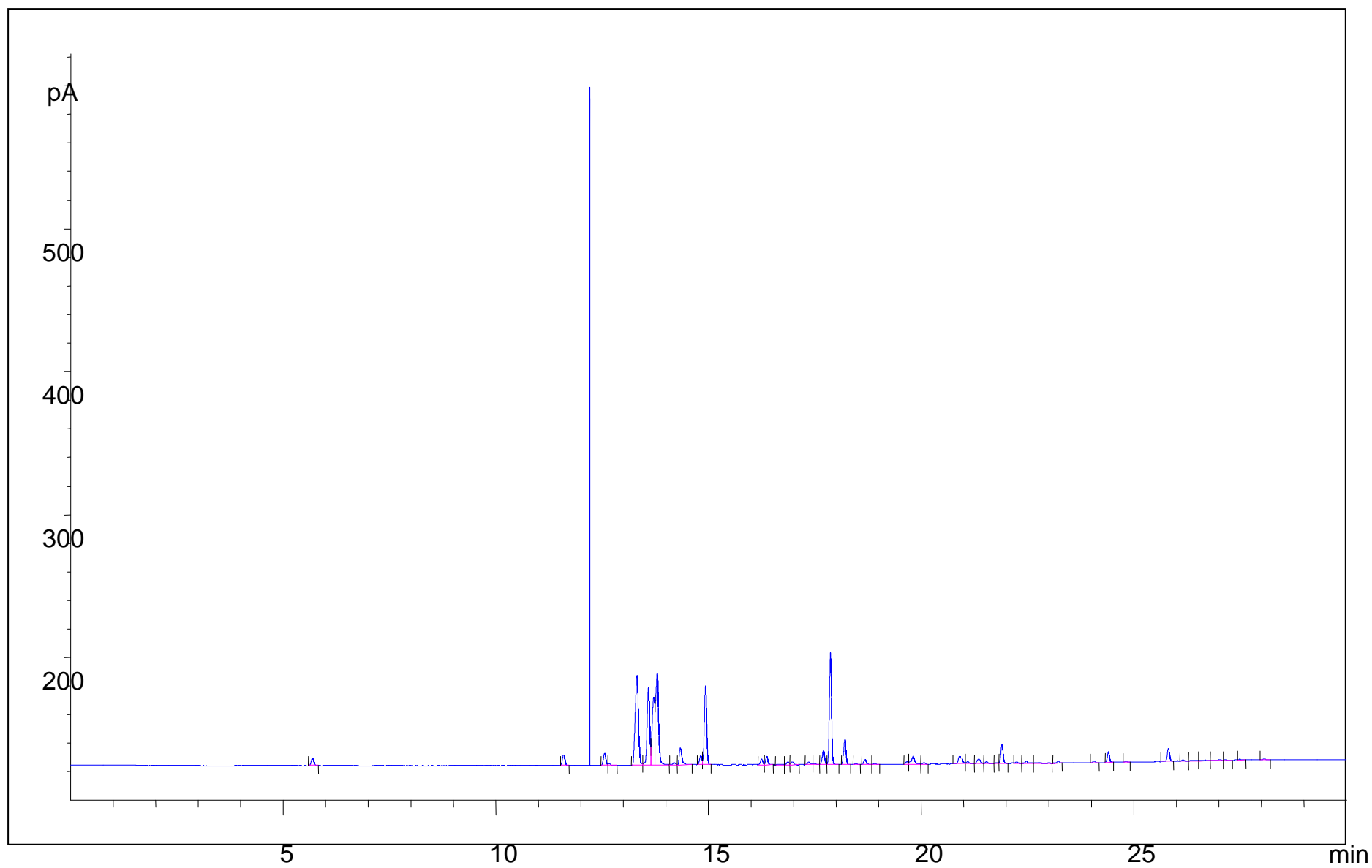


Figure 34. Chromatogramme de l'essai 18

Les spectres obtenus sont comparés automatiquement par le système d'analyse avec ceux de la base de données NIST Mass Spectral Search program Version 2.0. Le rapport généré propose trois constituants classés en fonction de leur taux de reconnaissance. Pour chaque pic, le constituant présentant le taux de reconnaissance le plus élevé est retenu (Tableau I). Cette analyse a permis de détecter la présence de 76 constituants dans la base parfum analysée. Les taux de reconnaissance obtenus sont variables, et généralement de valeurs insuffisantes pour s'assurer de l'existence du constituant.

Cette analyse a présenté une mauvaise séparation dans l'intervalle des temps de rétention compris entre 8.09 et 9.46 min comme le montre le chromatogramme de la figure 35. L'identification des constituants dans cet intervalle n'a pas été possible. Les constituants majoritaires, présentant les pourcentages surfaciques les plus importants sont les suivants : Le 1-Propanol, 2-(2-hydroxypropoxy)- (15,53%), le 2-Propanol, 1,1'-oxybis- (8,67%), le citral (8,16%), le D-Limonene (7,87%), le linalool (7,05%) et le 2-Propanol, 1,1'-oxybis- (4,38%)

Tableau I. Identification des constituants par le couplage GC/MS.

N° du Pic	Temps de rétention (min)	% aire	Constituants	Taux de reconnaissance
1	1.44	0.09	Ammonia	2
2	1.57	0.14	Acetone	90
3	5.92	1.30	1S-.alpha.-Pinene	96
4	6.87	1.32	beta.-Pinene	95
5	7.14	0.16	beta.-Myrcene	91
6	8.04	7.87	D-Limonene	91
7	8.09	0.72	Propanoic acid, 2-(methoxymethoxy)-	59
8	8.21	2.09	beta.-Methoxyethoxymethyl chloride	56
9	8.52	8.67	2-Propanol, 1,1'-oxybis-	86
10	8.59	1.63	2-Propanol, 1,1'-oxybis-	87
11	8.65	4.38	2-Propanol, 1,1'-oxybis-	80
12	8.76	2.09	2-Propanol, 1,1'-oxybis-	72
13	8.81	0.92	Dipropylene glycol	72

14	8.84	2.98	Dipropylene glycol	83
15	9.23	15.53	1-Propanol, 2-(2-hydroxypropoxy)-	83
16	9.31	4.71	1-Propanol, 2-(2-hydroxypropoxy)-	53
17	9.36	1.67	2-Propanol, 1-[1-methyl-2-(2-propenyloxy)ethoxy]-	83
18	9.46	0.14	1-Propanol, 2-(2-hydroxypropoxy)-	83
19	9.67	7.05	linalool	95
20	9.79	2.15	Dipropylene glycol	86
21	10.30	0.09	2,4-Heptadienal, 2,4-dimethyl-	64
22	10.58	0.19	Camphor	98
23	10.92	0.85	benzyl acetate	96
24	11.08	1.00	1-Hexene, 3,5,5-trimethyl-	38
25	11.23	0.08	1.Terpinen-4-ol	94
26	11.41	0.07	Silane, trimethylphenyl-	58
27	11.51	0.40	alpha.-Terpineol	91
28	11.60	0.41	esdragol	98
29	11.70	0.06	Decanal	90
30	12.08	0.12	3,7-Dimethyl-3-octyl methylphosphonofluoridate	22
31	12.23	0.35	Beta-citronellol	97
32	12.29	0.21	Cyclopentanol, 1,2-dimethyl-3-(1-methylethenyl)-, [1R (1.alpha.,2.beta.,3.alpha.)]-	98
33	12.46	1.43		
34	12.75	8.16	citral	53
36	13.04	2.42	Linalyl anthranilate	91
38	13.22	0.07	citral	91
37	13.37	0.93	Cyclohexanol, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, acetate	87
38	13.60	0.11	Isobornyl acetate	98
39	13.77	0.16	Indole	72
40	14.47	0.42	Cinnamic alcohol	95
41	14.49	0.14	(+)-4-carène-	90

42	14.66	2.19	1,3-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-	91
43	15.00	0.27	eugénol	97
44	15.45	0.05	Neryl acetate	91
			cyprene	98
45	15.60	0.99		
46	15.67	0.13	Alpha-gurjunene	99
47	15.80	1.08	1H-3a,7-Methanoazulene, 2,3,4,7,8,8a-hexahydro-3,6,8,8-tetramethyl-, [3R-(3.alpha.,3a.beta.,7.beta.,8a.alpha.)]-	96
48	15.99	0.38	Nopyl acetate	81
49	16.14	0.66	Thujopsene	99
50	16.26	0.10	coumarine	94
51	16.36	0.13	Beta-farnesene	96
52	16.49	0.14	alpha.-Caryophyllene	97
53	16.56	0.44	aromadendrene	99
54	16.66	0.09	Cyclododecane",111542	94
55	16.77	3.17	Azulene, 1,2,3,3a,4,5,6,7-octahydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-,[1R-(1.alpha.,3a.beta.,4.alpha.,7.beta.)]-	99
56	16.82	0.13	Alpha isomethyl ionone	98
57	17.09	0.30	Spiro[cyclopropane-1,2'(1'H)-phenanthrene]-1',4'(3'H)-dione, 3',7',9',10'-tetrakis(acetyloxy)-4'b,5',6',7',8',8'a,9',10'-octahydro-2, 4'b,8',8'-tetramethyl-, [2'S[ 2'.alpha.(R*),3'.alpha.,4'b.beta.7'.alpha.,8'a.alpha.,9'.beta.,10'.alpha.]]-	27
58	17.18	0.10	beta.-Methylionone	90
59	17.38	0.39	Cyclohexene, 1-methyl-4-(5-methyl-1-methylene-4-hexenyl)(S)-	99
60	17.47	0.09	1-Penten-3-one,1-(2,6,6-trimethyl-2-cyclohexen-1-yl)-, (E)-	94
61	17.71	0.13	isoEugenol acetate	93
62	18.12	0.43	1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl-, (Z)-	5

63	18.31	0.07	3,4-Methylenedioxybenzylacetone	78
64	18.50	0.06	beta.-Methylionone	74
65	18.83	0.43	Caryophyllene oxide	96
66	19.48	1.73	Cedrol	93
67	19.54	0.13	Benzenamine, 4-fluoro-3-nitro-	27
68	19.87	0.19	Guaiol	51
69	20.87	1.90	Methyl dihydrojasmonate	47
70	21.15	0.08	Octanal, 2-(phenylmethylene)-	99
71	22.16	0.06	Benzyl Benzoate	95
			Octanal, 2-(phenylmethylene)-	99
72	22.16	0.06		
73	22.44	0.15	1,2-Dihydroharmaline	47
74	23.02	0.18	Isolongifolene, 9,10-dehydro-	62
			3-[4-Hydroxyisopent-2(Z)-enyl]-5-[4-hydroxyisopent-2-(E)-enyl]-4	43
75	25.42	0.11	hydroxyacetophenone	
76	28.29	0.14	9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)-	99
			1-Phenanthrenecarboxylic acid, 7-rthenyl-1,2,3,4,4a,5,6,7,8,10,10a-dodecahydro-1,4a,7-trimethyl-,methyl ester, [1R- (1.alpha., 4a.beta., 4b.alpha.,7.alpha.,10a.alpha.)],dihydro deriv.	90

## 2.2. L'IDENTIFICATION PAR LES INDICES DE RETENTION

La mesure des indices de rétention a été effectuée pour confirmer l'identification réalisée par le couplage GC/MS. L'injection d'une série d'alcane ( $C_9$ - $C_{22}$ ) est réalisée dans un premier temps, elle est suivie de l'injection de la base parfum. Les colonnes utilisées sont une polaire (PEG) et l'autre apolaire (HP-5) sous des conditions identiques. Les résultats obtenus ont permis le calcul des indices de rétention, ou indice de Kovatz par la formule suivante [13] :

$$KI = 100y + 100(z-y)(Trx-Try)/(Trz-Try)$$

Avec :

Y : nombre de carbone de l'alcane inférieur

z : nombre de carbone de l'alcane supérieur

Trx : temps de rétention de l'inconnue x

Try : temps de rétention de l'alcane inférieure

Trz : temps de rétention de l'alcane supérieure

Les résultats obtenus sur l'une des colonnes permettent de confirmer ceux obtenus sur l'autre colonne.

### **2.2.1. Indices de rétention de la colonne polaire (PEG)**

La série d'alcane (C<sub>9</sub>-C<sub>22</sub>, manque le C<sub>13</sub>, C<sub>20</sub> et C<sub>21</sub>) et la base parfum ont été injectées séparément sous les conditions suivantes :

- Colonne capillaire : Stabilwax de 30 m de long et de 0,32mm diamètre interne,
- Phase stationnaire polaire : polyéthylène glycol (PEG), avec une épaisseur de 0,1 µm
- DéTECTEUR : FID
- Température du détecteur : 250°C,
- Gaz vecteur : azote,
- Débit de gaz vecteur : 1 ml/mn,
- Température de l'injecteur : 250°C
- Volume injecté : 1µl,
- Mode d'injection : split (1 :100),
- La programmation de la température est la suivante: 50(3min)...2°C/min...215(15 min)

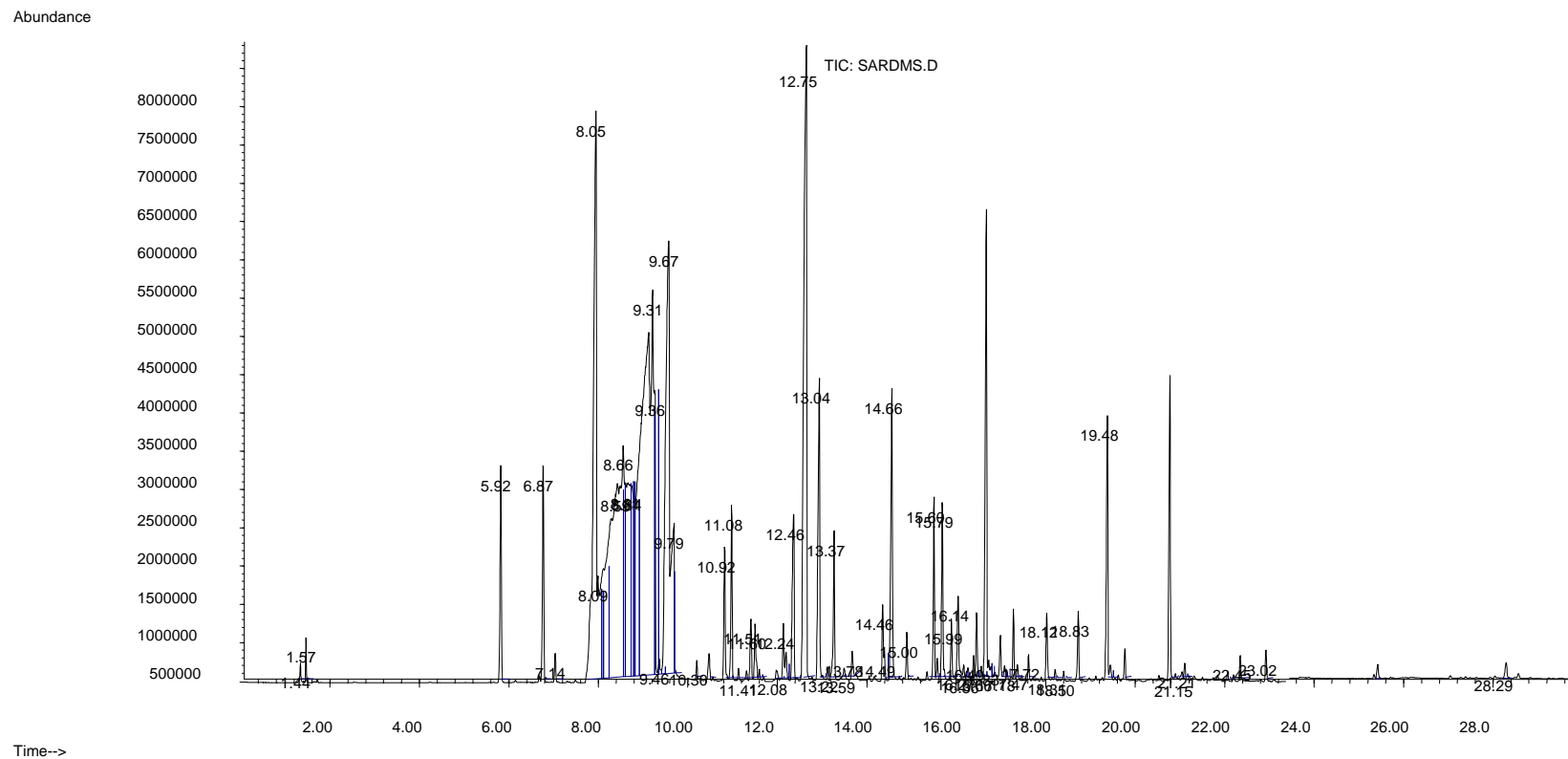


Figure 35. Chromatogramme du couplage GC/MS



L'analyse permet d'obtenir les temps de rétention de chaque paraffine. Ces temps sont regroupés dans le tableau II.

Tableau II. Temps de rétention de la série d'alcane obtenus sur la colonne polaire PEG

Alcane	Temps de rétention (min)
C9	6.78
C10	10.24
C11	15.22
C12	21.43
C14	35.13
C15	41.92
C16	48.56
C17	54.80
C18	60.84
C19	66.64
C22	82.53

L'analyse de la base parfum permet d'obtenir les temps de rétention relatifs à chaque constituant. Le tableau III présente les temps de sortie et le pourcentage massique de chaque constituant.

### 2.2.2. Indices de rétention de la colonne apolaire (HP-5)

L'injection de la série d'alcane et l'injection de la base parfum sont réalisées sous les conditions suivantes :

- Colonne capillaire HP-5 de 30 m de longueur et 0,32mm de diamètre interne,
- Phase stationnaire non polaire 5% Diphényl et 95% Dimethyl polysiloxane, d'une épaisseur 0,25 $\mu$ m,
- Détecteur : FID,
- Température du détecteur : 250°C,
- Gaz vecteur : hélium,
- Débit de gaz vecteur : 1 ml/mn,
- Température de l'injecteur : 250°C,

-Volume injecté : 0.5µl,

-Mode d'injection : split 1 :100

-la programmation de la température est la suivante: 60°C...7.5°C/min 240°C

Cette analyse a permis d'obtenir les temps de rétention des paraffines (tableau V) et les temps de rétention des constituants présents de la base parfum (tableau VI)

Tableau III. Résultats de calcul des indices de rétention des constituants de la base parfum avec la colonne polaire PEG.

N° du pic	Temps de rétention (min)	Indice de rétention	% surfacique
1	12.14	1,038	0.99
2	17.12	1,131	1.10
3	20.52	1,185	0.14
4	23.18	1,225	6.52
5	24.13	1,239	0.10
6	26.40	1,273	0.21
7	28.44	1,302	0.09
8	29.09	1,312	0.84
9	37.07	1,429	0.72
10	45.92	1,560	0.73
11	46.32	1,566	0.11
12	46.60	1,570	0.26
13	47.30	1,581	6.23
14	47.85	1,589	9.42
15	50.47	1,631	0.51
16	50.76	1,635	0.34
17	52.15	1,658	0.10
18	52.44	1,662	0.27
19	53.84	1,685	0.17
20	56.10	1,721	0.29

21	56.38	1,726	0.21
22	56.95	1,736	1.24
23	57.30	1,741	0.34
24	57.51	1,745	0.48
25	58.31	1,758	0.19
26	58.70	1,765	0.44
27	59.99	1,786	2.89
28	60.50	1,794	0.33
29	61.05	1,804	0.48
30	62.67	1,832	0.65
31	63.41	1,844	0.20
32	66.14	1,891	13.00
33	66.88	1,905	2.58
34	68.04	1,926	0.33
35	68.75	1,940	0.22
36	69.07	1,946	8.51
37	69.42	1,952	9.10
38	70.49	1,973	0.61
39	70.81	1,979	2.96
40	72.22	2,005	0.94
41	73.34	2,027	2.76
42	76.37	2,084	11.99
43	81.85	2,187	1.17
44	84.26	-	2.46
45	90.66	-	2.56
46	90.93	-	0.80
47	95.28	-	3.42

Tableau V. Temps de rétention des paraffines avec la colonne apolaire HP-5.

Alcane	Temps de rétention (min)
C9	6.78
C10	10.24
C11	15.22
C12	21.43
C14	35.13
C15	41.92
C16	48.56
C17	54.80
C18	60.84
C19	66.64
C22	82.53

Tableau VI. Résultats du calcul des indices de rétention des constituants de la base parfum avec la colonne apolaire HP-5

N° du pic	Temps de rétention	Indice de rétention	% surfacique
1	3.07	-	3.59
2	8.14	939	1.19
3	9.09	983	1.38
4	9.29	993	0.17
5	9.96	1024	17.63
6	10.07	1029	0.23
7	10.16	1034	7.96
8	10.24	1038	0.18
9	10.34	1042	12.28
10	10.43	1046	16.64
11	10.79	1063	0.22
12	11.01	1074	3.25

13	11.42	1093	0.90
14	11.59	1101	6.46
15	12.66	1155	0.10
16	12.91	1168	0.61
17	13.07	1176	0.70
18	13.49	1198	0.30
19	13.61	1204	0.27
20	14.08	1230	0.35
21	14.24	1239	0.10
22	14.39	1248	1.33
23	14.61	1260	8.40
24	14.92	1277	2.45
25	15.19	1292	0.22
26	15.33	1300	0.44
27	15.58	1314	0.27
28	16.37	1358	0.32
29	16.51	1366	1.64
30	16.85	1385	0.11
31	17.53	1426	0.58
32	17.66	1434	0.53
33	17.72	1437	0.21
34	17.98	1453	1.07
35	18.33	1475	0.37
36	18.60	1491	2.27
37	18.93	1513	0.16
38	19.20	1530	0.33
39	19.53	1551	0.10
40	19.91	1576	0.36
41	20.67	1627	0.30
42	21.19	1662	1.59
43	21.59	1690	0.18
44	22.57	1760	1.80
45	24.17	1879	0.15
46	24.73	1922	0.14
47	27.00	2105	0.15

### **2.3. IDENTIFICATION DES CONSTITUANTS PAR LA MISE EN ŒUVRE SIMULTANÉE DES DEUX MÉTHODES**

La mise en œuvre simultanée du couplage GC/MS et des indices de rétention permet d'identifier les constituants présents dans la base parfum. Le tableau VII présente les constituants de la base parfum avec leurs indices de rétention calculé et comparé avec les

indices de rétention de la littérature. Ces constituants ont été identifiés avec le couplage GC/MS et sont représentés avec leur taux de reconnaissance.

Le nombre de constituants identifiés est de 31 et correspond à près de 60.82% de la composition de la base parfum. Le premier pic est celui de l'acétone qui était présent à l'état de trace dans la seringue suite aux nettoyages de celle-ci avant et après chaque injection.

Les 31 pics identifiés sont présentés avec leur indice de rétention. L'écart maximal entre la valeur expérimentale et la donnée est toujours inférieure ou égale à 9, cet écart est donc inférieur à 1 %

Généralement, les résultats du couplage GC/MS et les indices de rétention obtenus par les deux colonnes sont convergents. Par exemple, le constituant  $\alpha$ - pinène présente un indice de rétention calculé pour la colonne apolaire HP-5 identique à celui de la base de données flavornet.org, et un indice de rétention calculé pour la colonne polaire PEG très proche de la donnée de la base.

Ces résultats montrent également que la colonne apolaire contribue d'avantage à la confirmation de l'identification des constituants, la colonne polaire présente de nombreux indices difficiles à situer par rapport aux données de la base.

L'analyse spectroscopique a montré la présence d'un mono (alpha terpène). D'après le chromatogramme de la figure 35, ce mono terpène s'élué avec un temps de rétention relativement grand (14,45 min). Rappelons que les mono terpènes sont des composé légers et ne peuvent s'élué avec les dernier constituants lourds. Ce résultat s'expliquerait par une identification partielle du spectre de masse d'un composé lourds, dont le spectre est identique à 90% à celui du mono terpène cyclique alpha terpène dans la partie  $m/z < 150$ . La deuxième partie  $m/z > 150$  n'a pas été prise en compte (figure 36).

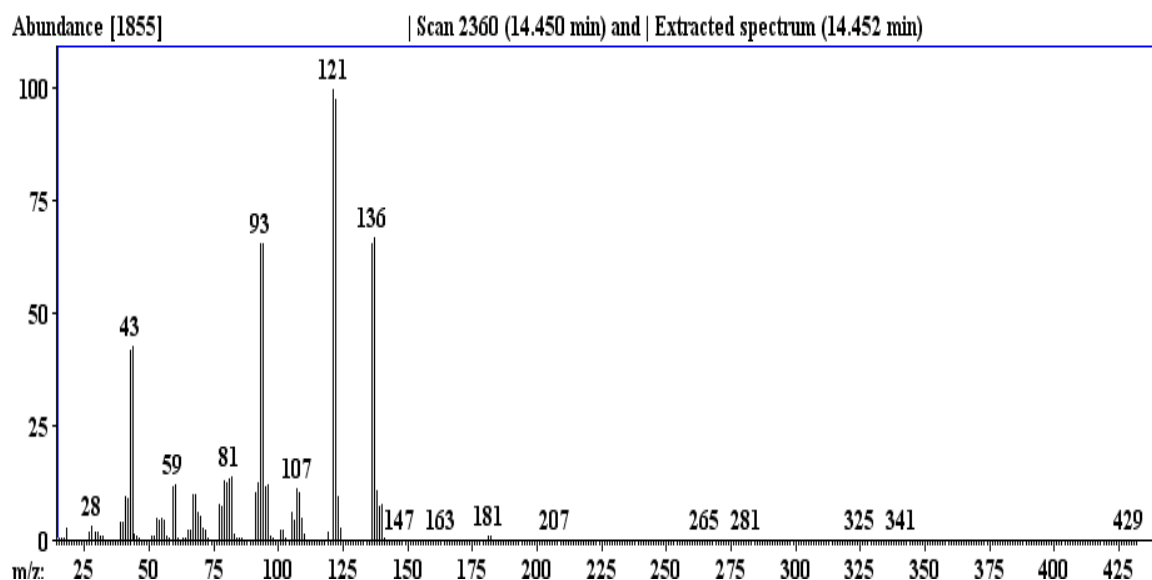


Figure 36. Le spectre de masse du composé élué à un temps de rétention de 14.45 min

En résumé, cette base parfum présente une composition complexe. Certains constituants identifiés peuvent être regroupés dans les classes suivantes :

-Terpènes acycliques : bêta-myrcène, beta farnesene-citronellol, linalool, citral, l'acétate de néryle.

-Terpènes cycliques : limonène, alpha-terpène, alpha-pinène, beta-pinène, camphor, caryophyllene, oxyde de caryophyllène, thujopsène, 2-carene, acétate de bornyle, guaiol

-Phénols et dérivées de phénols : eugénol

- Hétérocycles oxygénés : coumarine

- Composés aromatiques : benzoate de benzyle, alcool cinnamique

Les pics majoritaires identifiés dont le pourcentage surfacique dans la colonne HP-5 (qui présente la meilleure séparation) correspondent aux constituants suivants : Le  $\alpha$ - pinene, le  $\beta$ - pinene, le limonene, le linalool, l'alcool Cinnamique, le geranial, l'eugenol, le  $\alpha$ -Caryophyllene, le viridiflorene, et le benzoate de benzyle.

Rappelons que la base parfum étudiée est un mélange de produit naturels et de produits synthétiques ajoutés par le fabricant pour donner une odeur particulière à son produit.

Finalement, ces méthodes d'approche sont complémentaires. Il est préférable d'utiliser dans un premier temps l'identification des constituants par la spectrométrie de masse, et ensuite de valider cette identification par l'utilisation des indices de rétention.

Tableau VII. Identification des constituants par la mise en œuvre du couplage GC/MS et des indices de rétention.

N° du pic	constituants	Indice de rétention calculé pour la colonne apolaire HP-5		Indice de rétention calculé pour la colonne polaire PEG		Taux de reconnaissance de la spectroscopie de masse
		Valeurs expérimentales	Données de la base	Valeur expérimentale	Donnée de la base	
1	acétone	-	-	-	-	90
2	$\alpha$ - pinene	939	939 <sup>a</sup>	1038	1034 <sup>a</sup>	96
3	$\beta$ - pinene	983	981 <sup>a</sup>	-	-	95
4	$\beta$ -myrcene	993	992 <sup>b</sup>	-	-	91
5	NI	1024	-	-	-	-
6	NI	1029	-	-	-	-

7	Limonene	1034	1035 <sup>a</sup>	1185	1178 <sup>b</sup>	91
8	NI	1038	-	-	-	-
9	NI	1042	-	-	-	-
10	NI	1046	-	-	-	-
11	NI	1063	-	-	-	-
12	NI	1074	-	-	-	-
13	NI	1093	-	-	-	-
14	linalool	1101	1100 <sup>a</sup>	-	-	95
15	camphor	1155	1153*	-	-	98
16	acetate de benzyle	1168	1162 <sup>b</sup>	-	-	96
17	1.Terpinen-4-ol	1176	1177 <sup>a</sup>	1589	1591 <sup>b</sup>	94
18	$\alpha$ -Terpineol	1198	1198 <sup>a</sup>	1685	1688 <sup>b</sup>	91
19	Methylchavicol	1204	1200 <sup>b</sup>	1658	1655 <sup>b</sup>	98
20	(+)-citronellol	1230	1228 <sup>a</sup>	1765	1762 <sup>b</sup>	97
21	Neral(Z-citral)	1239	1240 <sup>a</sup>	-	1667 <sup>b</sup>	53
22	NI	1248	-	-	-	-
23	Alcool Cinnamique	1260	1259 <sup>a</sup>	-	-	95
24	Geranial( E-citral)	1277	1277 <sup>a</sup>	1721	1715	91
25	indole	1292	1292 <sup>b</sup>	-	-	-
26	Acétate de bornyle	1300	1302 <sup>a</sup>	1581	1580 <sup>a</sup>	98
27	NI	1314	-	-	-	-
28	NI	1358	-	-	-	-
29	Eugenol	1366	1364 <sup>b</sup>	-	-	97
30	(Z) acetate de néryle	1385	1376 <sup>a</sup>	-	-	91
31	Nopyl acetate	1426	1424	1631	1626 <sup>a</sup>	81
32	Cis-Thujopsene	1434	1429 <sup>a</sup>	-	-	99
33	Coumarine	1437	1439 <sup>a</sup>	-	-	94
34	$\alpha$ -Caryophyllene	1453	1454 <sup>a</sup>	1662	1663 <sup>a</sup>	97



35	aromadendrene	1475	1475 <sup>a</sup>	-	-	99
36	viridiflorene	1491	1493 <sup>b</sup>	-	-	95
37	$\beta$ -Bisabolene	1513	1509 <sup>a</sup>	1726	1726 <sup>a</sup>	99
38	Isoeugenyl acetate	1530	1524	-	-	93
39	NI	1551	-	-	-	
40	Oxide de Caryophyllene	1576	1573 <sup>a</sup>	-	-	96
41	Methyl jasmonate	1627	1626 <sup>b</sup>	1973	1974 <sup>b</sup>	47
42	NI	1662	-	-	-	-
43	NI	1690	-	-	-	-
44	Benzoate de benzyle	1760	1762 <sup>a</sup>	-	-	95
45	NI	1879	-	-	-	-
46	NI	1922	-	-	-	-
47	9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)-	2105	2098 <sup>a</sup>	-	-	99

.a : la base de donnée flavornet.org. b : la base de donnée pherobase.com/database.

.c : le taux de reconnaissance de la spectrométrie de masse.

.d : le pourcentage surfacique calculé après élimination du pic du l'acétone.

\* :R.Kowalski et J Wawrykowski Flavor and Fragrance journal, 2009.

## CONCLUSION

Ce travail a porté sur la mise au point d'un protocole d'analyse par chromatographie en phase gazeuse d'une base parfum. Il porte donc sur l'optimisation des conditions de l'analyse chromatographique, et sur l'identification de la composition chimique de la base parfum par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS) et par les indices de rétention. Les analyses réalisées ont principalement eu lieu au laboratoire de contrôle physico-chimique de l'unité SHYMECA /ENAD, l'identification par le couplage GC/MS a été effectué au centre de recherche et de développement de ALDAR.

Les facteurs de variations étudiés sont : le volume de l'échantillon injecté, la polarité de la colonne, les modalités de programmation de la température, le débit du gaz vecteur, et la température du détecteur.

Les principaux résultats obtenus montrent que :

- le volume de l'échantillon injecté manuellement conditionne l'erreur d'injection et affecte le nombre de pics, un volume de 0.5 µl conduit à une meilleure qualité de résultats,
- la polarité de la colonne affecte à la fois la résolution des pics et l'ordre d'élution des substances séparées.
- les modalités de la programmation de la température conditionnent la séparation des pics, la modalité qui a produit les meilleurs résultats, pour la colonne polaire, est la suivante :

65°C (3min)  $\xrightarrow{7.5^\circ\text{C}/\text{min}}$  165°C  $\xrightarrow{2^\circ\text{C}/\text{min}}$  215°C  $\xrightarrow{7.5^\circ\text{C}/\text{min}}$  230°C (6min)

Pour la colonne apolaire : 60°C (3min)  $\xrightarrow{7.5^\circ\text{C}/\text{min}}$  240°C (3 min)

- le débit du gaz vecteur influence la résolution des pics, le débit de 1ml/min conduit à une meilleure séparation des pics

L'identification de la nature des constituants de cette base parfum met en évidence 31 pics dont les principaux sont le  $\alpha$ - pinene, le  $\beta$ - pinene, le limonene, le linalool, l'alcool Cinnamique, le geranial, l'eugenol, le  $\alpha$ -Caryophyllene, le viridiflorene, et le benzoate de benzyle.

Pour les perspectives, un injecteur espace de tête permettant l'analyse des composés légers de la base parfum est fortement recommandé. Le recours aux étalons est nécessaire chaque fois qu'on bute à une difficulté pour l'identification des pics. Par ailleurs, l'acquisition d'un détecteur de masse par le laboratoire de Shymeca serait utile pour l'identification des constituants. Sinon, ce laboratoire pourrait toujours se baser sur le profil chromatographique pour contrôler les produits importés. Toute anomalie ou écart constaté devant faire l'objet d'une investigation plus poussée auprès de prestataires qui disposent des outils nécessaires. Une attention particulière doit être portée par l'entreprise sur les composés allergènes qui sont

présents en faibles quantités. Une analyse quantitative en passant par l'étalonnage doit être menée pour déterminer leur concentration.

## Références bibliographiques

- [1] MAHUZIER G, HAMON M, FERRIER D, PROGNON P., Chimie analytique. Méthodes de séparation. tome 2, *Edition Masson, 3<sup>e</sup> édition, Paris (1995)*
- [2] ROBERT L. G et EUGENE F. B., Modern practice of gas chromatography. *Willey-Interscience, John Wiley & sons, Inc. Publication, 4<sup>e</sup> edition, New Jersey, (2004)*
- [3] TRANCHANT J., Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse. *Edition Masson, 4<sup>e</sup> édition, Paris, (1995)*
- [4] BURGOT G et BURGOT J. L. 2006 : méthodes instrumentales d'analyse chimique et application., *2<sup>e</sup> édition, Lavoisier, Paris (2006)*
- [5] ROUESSAC F et ROUESSAC A., Analyses chimiques. Méthodes et techniques instrumentales modernes. *6<sup>ème</sup> Edition, Dunod Paris, (2004)*
- [6] SCOTT R.P.W., Principles and practice of chromatography, *Library for science, LLC, (2003)*
- [7] AUROUSSEAU F., Aspects théoriques de la chromatographie en phase gazeuse. *Edition CIBAC, Paris, (2000)*
- [8] MC NAIR H. M et MILLER M. J. Basic gas chromatography. Techniques in analytical chemistry. *John Willey & sons Inc, New York, (1998)*
- [9] ROUESSAC F et ROUESSAC A., Analyses chimiques. Méthodes et techniques instrumentales modernes. *Edition Dunod, 1<sup>e</sup> édition, Paris, (1992)*
- [10] ARPINO P., Couplage chromatographique avec la spectrométrie de masse. II *édition T.I, doc. PE 1485*
- [11] Kovats, E.,V., *Helv. Chim. Acta*, 41 (1958)
- [12] VAN DEN DOOL H et KRATZ P. D., A generalization of the retention index system including linear temperature gaz-liquid, *Journal of Chromatography, vol.11, (1963)*
- [13] MARQUES F.A, MCELFFRESH J.S et MILLAR G.J., Kováts Retention Indexes of Monounsaturated C12, C14, and C16 Alcohols, Acetates and Aldehydes Commonly Found in Lepidopteran Pheromone Blends. *J. Braz. Chem. Soc., Vol. 11, No. 6, pp.592-599 (2000)*
- [14] DASS C., Fundamentals of contemporary mass spectrometry, *John Wiley & sons, Inc. Publication, New Jersey, (2007)*
- [15] BOUCHONNET S, LIBONG D : le couplage chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse. *Ecole polytechnique, ( Editeur ? Année ?)*
- [16] AHUJA S et JESPERSEN N. Comprehensive analytical chemistry Modern instrumental analysis. *Elsevier B.V, vol.47, (2006)*

- [17] ROWE D, Chemistry and technology of flavors and fragrances, *Blackwell Publishing, United States of America, (2005)*
- [18] SERGENT N, 1998 : parfum et arôme. Industrie et synthèse. *Rapport de synthèse, Université du Littoral, Dunkerque, (1998)*
- [19] BAUR K, GARBE D, SURBURG H., Common fragrance and flavor materials, *Wiley-VCH, 4<sup>e</sup> Edition, Germany, (2001)*
- [20] SWIFT A. D. K., Advances in flavours and fragrances. From the sensation to the synthesis., *Royal Society of Chemistry, Great Britain, (2002)*
- [21] PERRIN R et SCHARFF J.P., Chimie industrielle *Edition Masson, Paris, (1995)*
- [22] SELL C, The chemistry of fragrances: from the perfumer to consumer, *Royal society of chemistry, 2<sup>e</sup> édition, Great Britain, (2006).*
- [23] PLITE L. Practical Gas Chromatography. Course number R1915A. Student manual. *Agilent technologies, Inc, USA, (2007)*
- [24] FOWLIS I. A., Gas chromatography., *Willey-Interscience, John Wiley & sons, Inc. Publication, 2<sup>e</sup> edition, New York, (1995)*
- [25] Agilent technologies. Troubleshooting FID Noise and High Background 6890/6850 Gas Chromatograph. Internet site [http:// www.chem.agilent.com](http://www.chem.agilent.com).

**ANNEXE 1**  
**LA FICE TECHNIQUE DE LA BASE PARFUM**



**IPRA FRAGRANCES**  
INDUSTRIE DE PARFUMERIE

Anciennement /  
Formerly  
**NOVILLE**  
FRANCE

---

**IFRA CERTIFICATE**

MARCH 3<sup>RD</sup>, 2008

**Customer : ENAD**

**Fragrance : SAR DEGMA MEN 07/703994.**

Per the information available today, IPRA-Fragrances certifies that the above fragrance complies with the Standards of the International Fragrance Association Code of Practice (IFRA, 42th<sup>l</sup> amendment, May 2007) if used in following classes and applications :

- class 3.A : EDT range at 7 %
- class 3.C: Men's facial creams and balms at 2%.
- class 9.A: Shaving creams of all types (stick, gels, foams, etc) at 1%

For other kinds of application or use at higher concentration levels, a new evaluation may be needed.

Best Regards,  
Ingrid ROUDIERE,  
QC Manager.

## GENERAL GC METHOD – AGILENT TECHNOLOGIES 6890

### 1-Stationary phase type microcolumns

- a) 10meter x 100µm ID , 0.10µm thickness (100% Dimethyl polysiloxane)
- b) 10meter x 100µm ID , 0.10µm thickness ( 100 % Polyethylene glycol)

### 2-Inlet :

Gas type :	Helium
Flow :	0.5 ml/min
Injection volume :	0.2 µl
Injection mode :	split (1:100)
Thermal Zone :	250°C
Column pressure :	20 psi (mode : constant flow)

### 3-Oven parameters :

Initial Oven temperature :	90 °C
Hold time 1:	3 minutes
Program Rate :	7.5° C/min
Final Oven Temperature :	240°C
Final Hold Time :	7 minutes

### 4-Detector type FID

Thermal zone : 250°C

\*\*\*\*\*



# IPRA FRAGRANCES

## INDUSTRIE DE PARFUMERIE

164  
Cms 09/08/20

**CERTIFICAT ALLERGENES**  
**(26<sup>ème</sup> adaptation de la directive cosmétique 76/768/CE) /**  
**ALLERGEN CERTIFICATE**  
**(related to the 26<sup>th</sup> European Cosmetic Directive 76/768/EC)**

IFRA

Fragrance Name: **IPRA SARDEGNA MEN 07/703994**

Date: 30/11/07.

Customer : ENAD - SHYMECA

<b>Ingredients</b>	<b>N° CAS</b>	<b>Concentration (%) / Content (%) (*)</b>
Alcool amyl cinnamique / Amylcinnamyl alcohol	101-85-9	0.001
Alcool anisique / Anisyl alcohol	105-13-5	<1ppm
Alcool benzylique / Benzyl alcohol	100-51-6	0.095
Alcool cinnamique / Cinnamic alcohol	104-54-1	0.175
Aldéhyde cinnamique / Cinnamic aldehyde	104-55-2	0.001
Benzoate de benzyle / Benzyl benzoate	120-51-4	0.03
Cinnamate de benzyle / Benzyl cinnamate	103-41-3	<1ppm
Citral / Citral	5392-40-5	3.80
Citronellol / Citronellol	106-22-9	0.250
Coumarine / Coumarin	91-64-5	0.650
Eugénol / Eugenol	97-53-0	1.50
Farsénol / farnesol	4602-84-0	<1ppm
Gamma-méthyl ionone / gamma-methyl ionone	127-51-5	1.85
Géraniole / Geraniol	106-24-1	0.150
Hydroxycitronellal / hydroxycitronellal	107-75-5	0.14
Aldéhyde amyl cinnamique / Amyl cinnamyl aldehyde	122-40-7	0.005
Aldéhyde hexyl cinnamique / Hexyl cinnamyl aldehyde	101-86-0	1.00
Isoeugénol / Isoeugenol	97-54-1	0.008
2-méthyl-3-(4-(1,1-diméthylethyl)phényl)propanal (Lilial)	80-54-6	<1ppm
Limonène	5989-27-5	5.75
Linalol	78-70-6	5.75
Hydroxyméthylpentylcyclohexène carboxaldehyde (Lyral)	31906-04-4	<1ppm
MHC	111-12-6	<1ppm
Salicylate de benzyle / Benzyl salicylate	118-58-1	<1ppm
Extrait Mousse d'arbre / Treemoss extracts	68648-41-9 90028-67-4	0.160
Extrait Mousse de chêne / Oakmoss extracts	9000-50-4 90028-68-5	<1ppm

(\*) : Ces valeurs sont indicatives et ont été établies au mieux de nos connaissances. Elles sont basées sur des informations recalculées à partir de données analytiques et/ou fournisseur et/ou communiquées par Prodarom.

(\*) : These contents are indicative and are given to the best of our knowledge based on calculated data obtained by analytical and/or supplier and/or Prodarom data.

Nicolas PIGNATARI  
Responsable CQ.





# IPRA FRAGRANCES

INDUSTRIE DE PARFUMERIE

<b>FICHE TECHNIQUE / DATA SHEET</b>	<b>Version 1</b>
	<b>Date : 30/11/07</b>

<b>Identification du Produit / Product Name :</b>	
Nom du produit / Product Name : <b>IPRA SARDEGNA MEN</b>	
Référence / Code Number : <b>07/703994</b>	
Usage / Use : <b>Pour compositions parfumantes. A usage industriel / For fragrances. Industrial use only.</b>	

<b>Description du Produit / Product description :</b>	
Aspect/ Appearance :	<b>Liquide/Liquid</b>
Couleur/Color :	<b>Jaune pale à jaune/Pale yellow to yellow</b>
Odeur / Odour :	<b>Conforme au standard / According to the standard.</b>

<b>Caractéristiques physico-chimiques / Physicals and chemicals Properties :</b>	
Densité / Specific gravity (D20/20) :	<b>0.971 – 0.981 ✓</b>
Indice de Réfraction / Refractive Index (20°C) :	<b>1.450 – 1.460 ✓</b>
Point Eclair (Coupelle fermée) / Flash Point (Cup closed) :	<b>71.2°C ✓</b>

<b>Composition / Composition :</b>	
<ul style="list-style-type: none"><li>• • Mélange d'extraits naturels et de produits de synthèse – Tous les ingrédients ont un n° CAS. / Blend of natural extracts and synthetical items – All the ingredients have a CAS number.</li><li>• • Solvants / Solvents : <b>DPG. ✓</b></li></ul>	

<b>Durée de Conservation / Shelf Life :</b>	<b>12 mois dans les conditions décrites ci-dessous. / 12 months under conditions described below.</b>
<b>Conditions de Conservation / Storage Condition :</b>	<b>Température ambiante (+12°C à +22°C) dans l'emballage d'origine hermétiquement fermé à l'abri de la lumière. / Store at room temperature away from light in the original packaging tightly closed.</b>

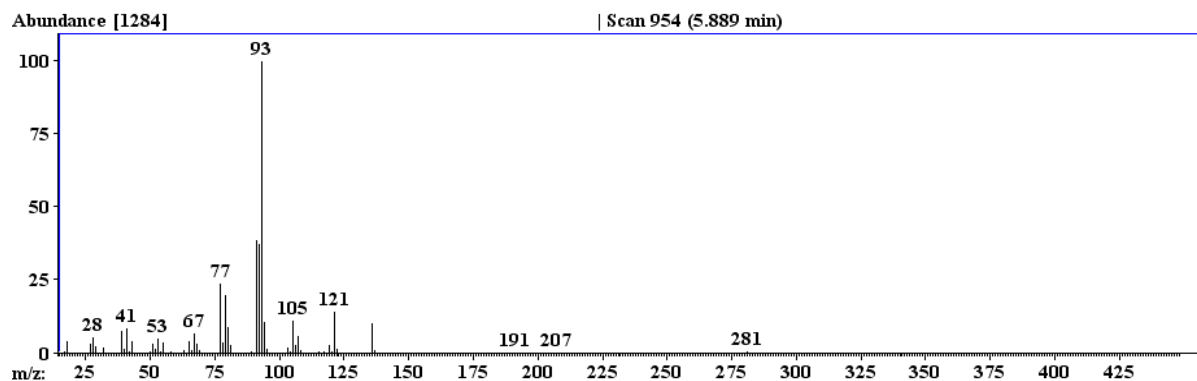
*Ces informations ont été établies aux mieux de nos connaissances, elles permettent au client d'utiliser le produit dans des conditions optimales et de se conformer à la réglementation en vigueur ; par conséquent, le fournisseur décline toute responsabilité en cas d'infraction découlant de l'utilisation du produit conformément aux informations de cette fiche. / These informations are given to the best of our knowledge. They allow the customer to handle our products in the best conditions of use upon the current regulations. The supplier declines all responsibilities if the manufacturer does not follow them.*

Nicolas PIGNATARI  
Responsable CQ

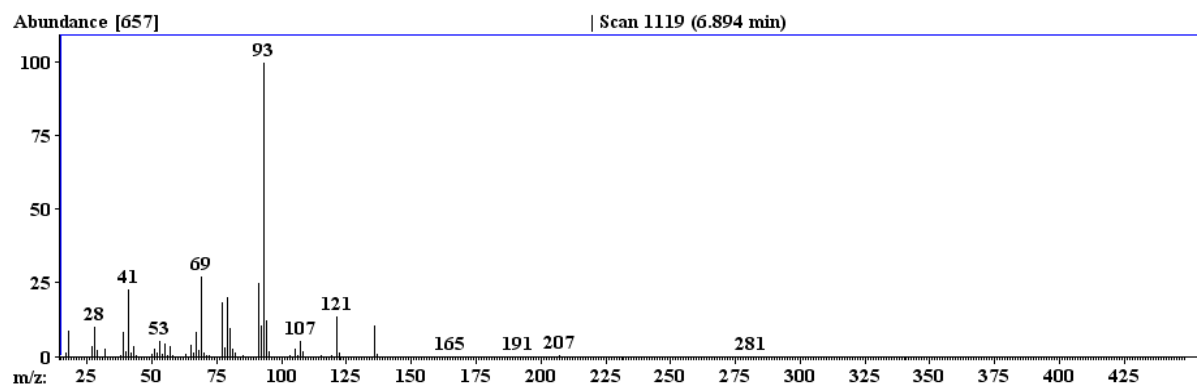
## ANNEXE2

### SPECTRES DE MASSE DE QUELQUES COMPOSES IDENTIFIES

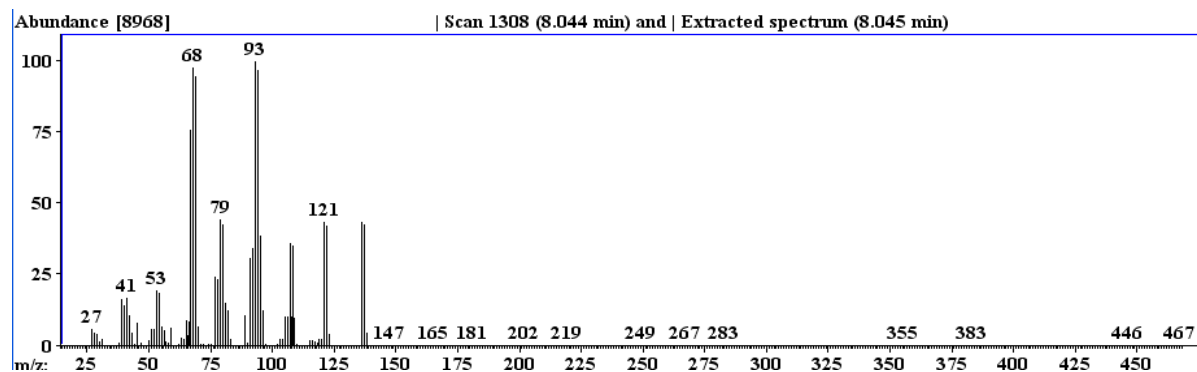
Spectre de masse de l'alpha pinène :



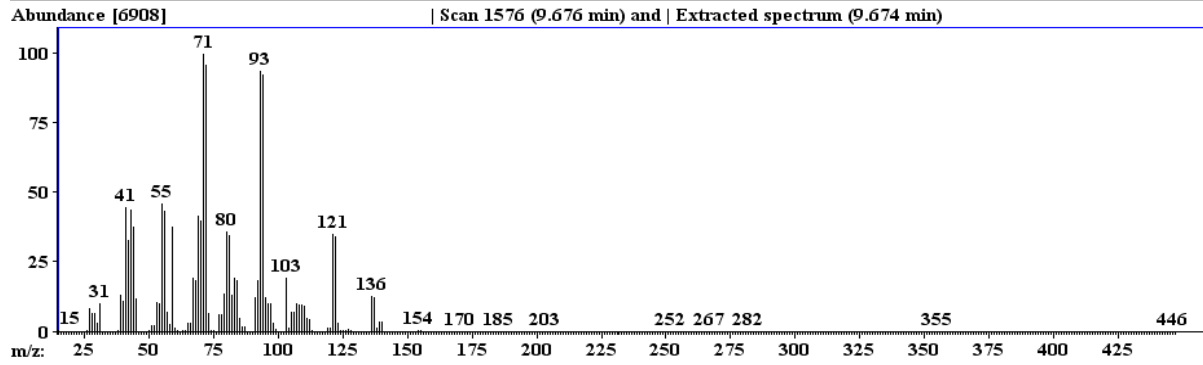
Spectre de masse du beta pinène :



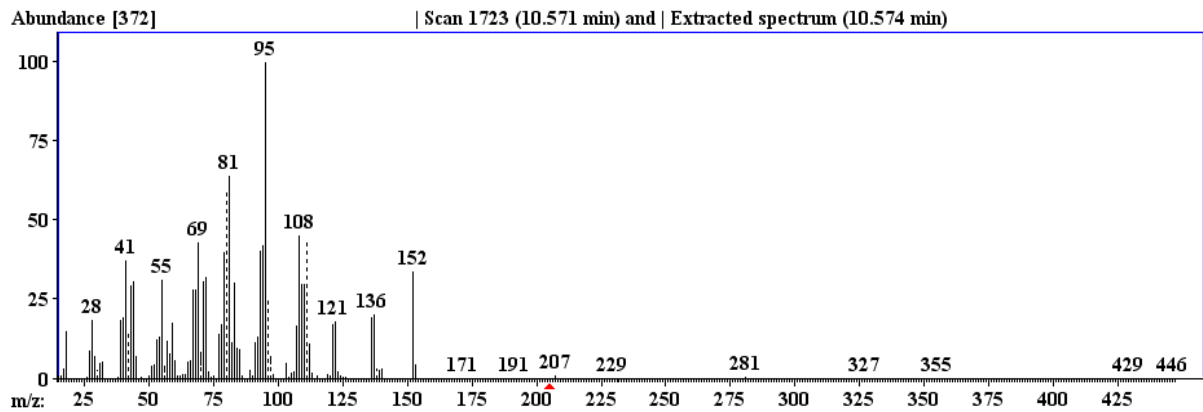
Spectre de masse du limonène :



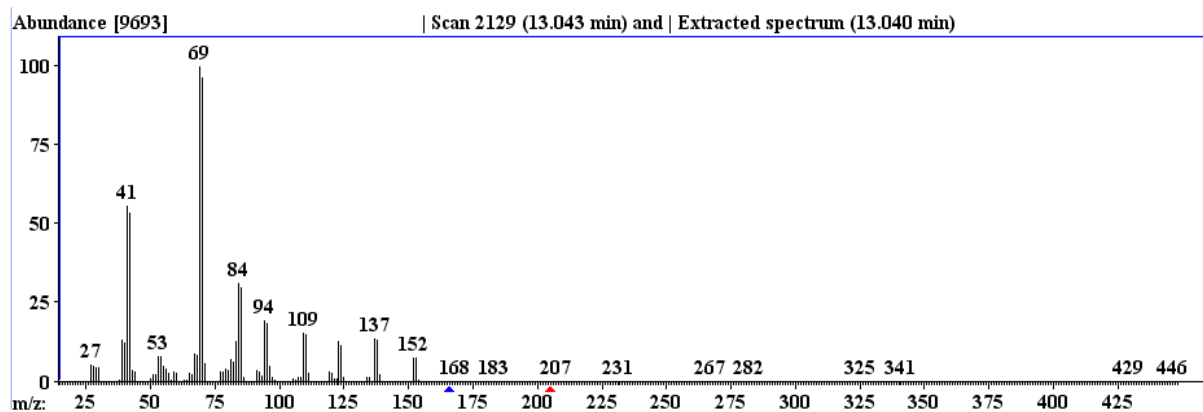
Spectre de masse du linalool :



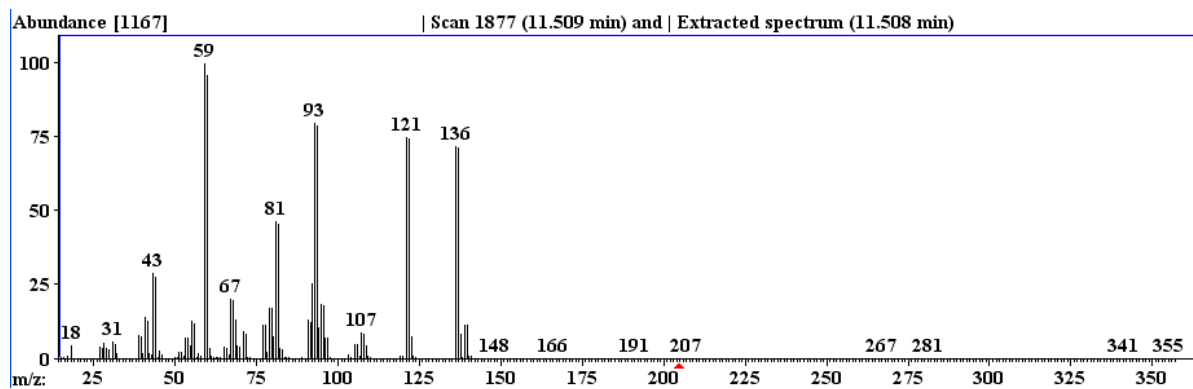
### Spectre du masse du Camphor :



### Spectre de masse du citral :



### Spectre de alpha terpineol :



**Le spectre de masse de 9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)- :**

